

Volume 6, Issue 1, 2023

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
FOOD SYSTEMS

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

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (On line)

<http://www.fsjour.com>

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 30.03.2023.
Дата выхода в свет 31.03.2023.
Тираж 300 экз. Заказ № 472.

16+

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

© ФНЦПС, 2023
© Авторы, 2023

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

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

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

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

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

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

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

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

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

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

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

Просеков 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

Arif Nur Muhammad Ansori — PhD, Доктор ветеринарных наук, научный сотрудник, Университет Айрланга, Сурабая, Индонезия

ВЫПУСКАЮЩИЙ РЕДАКТОР:

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

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

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

Баженова Баяна Анатольевна — Доктор технических наук, профессор, Профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов», Восточно-Сибирский университет технологии и управления, Улан-Удэ, Россия

Галстян Арам Генрихович — Доктор, технических наук, академик РАН, Директор, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности РАН, Москва, Россия

Донник Ирина Михайловна — Доктор биологических наук, профессор, Академик РАН, Вице-президент РАН, Москва, Россия

Евдокимов Иван Алексеевич — доктор технических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Технология молока и молочных продуктов» Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

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

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

Машенцева Наталья Геннадиевна — Доктор технических наук, доцент, профессор РАН, профессор, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биорганического 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 30.03.2023.

Released from press 31.03.2023.

Circulation — 300 copies. Order № 472.

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (Online)

DOI-prefix: 10.21323/2618-9771

© FNCPS, 2023

© Authors, 2023

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

Arif Nur Muhammad Ansori, Doctor, Doctor in Veterinary Sciences, Researcher, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

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

Посокина Н. Е., Захарова А. И. СОВРЕМЕННЫЕ НЕТЕРМИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ОБРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ЕГО ХРАНИМОСПОСОБНОСТИ	4
Мяленко Д. М. СОВРЕМЕННЫЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ С УСКОРЕННОЙ ДЕГРАДАЦИЕЙ ДЛЯ МОЛОЧНОЙ И ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ (ПРЕДМЕТНЫЙ ОБЗОР)	11
Витол И. С., Мелешкина Е. П., Панкратов Г. Н. ОТРУБИ ИЗ КОМПОЗИТНОЙ ЗЕРНОСМЕСИ КАК ОБЪЕКТ ГЛУБОКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ. ЧАСТЬ 2. УГЛЕВОДНО-АМИЛАЗНЫЙ И ЛИПИДНЫЙ КОМПЛЕКСЫ	22
Гурский И. А. ТЕКСТУРА ОБЕЗЖИРЕННОГО ЙОГУРТА С ИЗОЛЯТАМИ И КОНЦЕНТРАТАМИ БЕЛКОВ	29
Лепилкина О. В., Григорьева А. И. ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ПРОТЕОЛИЗ ПРИ ПРЕОБРАЗОВАНИИ МОЛОКА В СЫР	36
Метленкин Д. А., Платова Р. А., Платов Ю. Т., Федосеенко О. В., Садкова О. В. СОРТИРОВКА ПЛОДОВ АВОКАДО ПО ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНЫМ ИЗОБРАЖЕНИЯМ	46
Rawaa H. Tlay, Sinan J. Abdul-Abbas, Ahmed A. A. El-Maksoud, Ammar B. Altemimi, Tarek G. Abedelmaksoud FUNCTIONAL BISCUITS ENRICHED WITH POTATO PEEL POWDER: PHYSICAL, CHEMICAL, RHEOLOGICAL, AND ANTIOXIDANT PROPERTIES	53
Лисицын А. Б., Чернуха И. М., Никитина М. А. ФОРМИРОВАНИЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОГО РАЦИОНА ПИТАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА СТРУКТУРНОЙ ОПТИМИЗАЦИИ	64
Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухова И. Л., Остроухов Д. В. ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВЫРАБОТКИ ПОЛУТВЕРДЫХ СЫРОВ ИЗ ЗАМОРОЖЕННОГО КОЗЬЕГО МОЛОКА	72
Бурак Л. Ч., Сапач А. Н. БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА БУЗИНЫ: СВОЙСТВА, МЕТОДЫ ИЗВЛЕЧЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ	80
Самойлов А. В., Сураева Н. М., Зайцева М. В. ОЦЕНКА ПОСЛЕДСТВИЙ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПИЩЕВЫХ ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ	95
Dmitriy S. Myagkonosov, Igor T. Smykov, Dmitriy V. Abramov, Irina N. Delitskaya, Elena G. Ovchinnikova INFLUENCE OF DIFFERENT MILK-CLOTTING ENZYMES ON THE PROCESS OF PRODUCING SEMIHARD CHEESES	103
Зайцева Л. В., Мазукабзова Э. В., Богачук М. Н. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕКТИНОВ ПЛОДООВОЩНЫХ ПОРОШКОВ НА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОНДИТЕРСКОЙ ГЛАЗУРИ	117

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-4-10>

Поступила 28.11.2022

Поступила после рецензирования 19.12.2022

Принята в печать 26.12.2022

© Посокина Н. Е., Захарова А. И., 2023



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

Обзорная статья

Open access

СОВРЕМЕННЫЕ НЕТЕРМИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ОБРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ЕГО ХРАНИМОСПОСОБНОСТИ

Посокина Н. Е.*, Захарова А. И.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

растительное сырье,
высокое давление, импульсные
электрические поля,
радиоактивная обработка,
УФИ

АННОТАЦИЯ

Наряду с термическими способами обработки растительного сырья в последние десятилетия активно развиваются нетермические методы обработки, позволяющие максимально сохранить качественные характеристики исходного сырья и увеличить сроки хранения готового продукта. При использовании данных методов может происходить незначительный нагрев продукта, например, как при обработке ультрафиолетовым излучением (УФИ). В случае применения такого вида обработки, как фильтрация, нагрев полностью отсутствует, в условиях обработки продукта высоким давлением (*англ. High Pressure Processing, далее — HPP*) соблюдается режим пониженных температур. Данные методы отличаются минимизацией воздействия на органолептические показатели готового продукта (текстура, внешний вид, цвет, запах), а также сохранением микро- и макронутриентов. В статье рассмотрены основные нетермические методы обработки растительного сырья: высокое давление (ВД), обработка в импульсном электрическом поле (PEF), радиоактивное излучение, ультрафиолетовое излучение (УФИ), фильтрация. Отмечены преимущества и факторы, сдерживающие их широкое применение в промышленных масштабах. Отмечено, что высокое давление, УФИ и фильтрация в той или иной степени имеют достаточно широкое применение при производстве продуктов питания, в то время как обработка в импульсном электрическом поле и радиоактивное излучение используются крайне ограниченно в силу необходимости обеспечения безопасности обработки для обслуживающего персонала. Следует также отметить, что обработка только нетермическими способами приводит к ограниченному сроку годности готовых продуктов и зачастую требует пониженных температур хранения. При необходимости увеличения сроков годности имеет смысл комбинирование термических и нетермических способов обработки. Например, микрофильтрация (ультрафильтрация) сока, розлив в потребительскую упаковку, щадящая пастеризация. Несомненным преимуществом такого сочетания может служить снижение термической нагрузки на продукт, т. к. исходная микробиологическая обсемененность снижена фильтрацией. И, как следствие, мы получаем стабильно хранящийся продукт с минимальными потерями качества и сохраненным нативным потенциалом.

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

Received 28.11.2022

Accepted in revised 19.12.2022

Accepted for publication 26.12.2022

© Posokina N. E., Zakharova A. I., 2023

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

Review article

Open access

MODERN NON-THERMAL METHODS OF PROCESSING PLANT RAW MATERIALS USED TO INCREASE ITS STORABILITY

Natalia E. Posokina*, Anna I. Zakharova

Russian Research Institute of Canning Technology, Moscow Region, Russia

KEY WORDS:

vegetable raw materials,
high pressure, pulsed electric
fields, radioactive treatment,
UV radiation

ABSTRACT

Along with thermal methods of processing plant raw materials, non-thermal processing methods have been actively developed in recent decades, which make it possible to preserve the qualitative characteristics of the initial raw materials to the maximum and increase the shelf life of the finished product. When using these methods, slight heating of the product can occur, for example, as in the processing by ultraviolet radiation (UVR). In the case of using such a type of processing as filtration, heating is completely absent; under the conditions of high pressure processing of the product (hereinafter HPP), a low temperature regime is observed. These methods are distinguished by minimizing the impact on the organoleptic characteristics of the finished product (texture, appearance, color, odor), as well as the preservation of micro- and macronutrients. The article discusses the main non-thermal methods of processing plant materials: high pressure (HPP), processing in a pulsed electric field (PEF), radioactive radiation, ultraviolet radiation (UVR), filtration. The advantages and factors hindering their widespread use on an industrial scale are noted. It is noted that high pressure, ultraviolet radiation and filtration to one degree or another are widely used in food production, while processing in a pulsed electric field and

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Посокина, Н.Е., Захарова, А.И. (2023). Современные нетермические способы обработки растительного сырья, применяемые для увеличения его хранимостности. *Пищевые системы*, 6(1), 4-10. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-4-10>

FOR CITATION: Posokina, N. E., Zakharova, A. I. (2023). Modern non-thermal methods of processing plant raw materials used to increase its storage capacity. *Food Systems*, 6(1), 4-10. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-4-10>

radioactive radiation are of extremely limited use due to the need to ensure the safety of processing for service personnel. It should also be noted that processing only by non-thermal methods leads to a limited shelf life of finished products and often requires lower storage temperatures. If it is necessary to increase the shelf life, it makes sense to combine thermal and non-thermal processing methods, for example, microfiltration (ultrafiltration) of juice, bottling into consumer packaging, gentle pasteurization. The undoubted advantage of this combination can be a reduction in the thermal load on a product, since the initial microbiological contamination is reduced by filtration. And, as a result, we get a stably stored product with minimal quality loss and preserved native potential.

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

1. Введение

Обработанные продукты стали неотъемлемой частью современного мира. Переработка не только обеспечивает удобство использования продуктов для конечного потребителя, но и увеличивает их хранимоспособность [1,2]. Многие фрукты и овощи являются низкокислотными пищевыми продуктами с очень коротким сроком годности, при этом «жесткая» термическая обработка и последующее хранение могут привести к значительным потерям качества с точки зрения органолептических, пищевых и функциональных свойств.

В последние годы широко исследуются и внедряются инновационные технологии обработки пищевых продуктов, минимизирующие деградацию органолептических показателей с одновременным увеличением сроков годности. Введение и применение новых технологий нетермической обработки имеют решающее значение для промышленного внедрения [3].

Целью данного обзора являлось рассмотрение существующих нетермических способов обработки, подходящих для переработки фруктов и овощей, а также выявление преимуществ и недостатков каждого способа.

Задачи — проанализировать каждый вид обработки, сферу применения, перспективы развития и использования нетермических способов обработки в промышленных масштабах.

2. Способы обработки

2.1. Применение высокого давления (НРР)

В наше время одним из самых распространенных нетепловых методов обработки является использование высокого давления (НРР), которое проводят при давлении 100–1000 МПа и температуре 20–25 °C или ниже [4–6]. Это метод, при котором продукт подвергается равномерной обработке давлением со всех сторон [7]. Уникальной особенностью этого метода является минимальное изменение органолептических и питательных свойств продукта в связи с воздействием только на нековалентные связи [8–10]. При этом в обработанном продукте сохраняются витамины и аминокислоты, а также снижается потеря низкомолекулярных пищевых соединений [11–13].

При исследовании влияния различных видов нетермической обработки на цвет яблочного сока, полученного из яблок сорта Роуз, сразу после обработки НРР сохранялся естественный цвет яблочного сока по сравнению с другими видами обработки, такими как импульсное электрическое поле и термическая обработка [14].

При производстве плодовоовощной продукции использование НРР позволяет выпускать безопасную для здоровья продукцию высокого качества с увеличенным сроком хранения [13]. Например, в работе [15] исследовалась активность ферментов, влияющих на качество неподкисленного морковного сока из небланшированной моркови, которая ингибировалась на 95% после обработки под давлением 400 МПа при температуре 10 °C в течение 10 мин.

С помощью обработки под давлением 259 МПа и при температуре 35 °C в течение 15 мин удалось снизить микробную нагрузку неподкисленного томатного сока. При этом качество полученного продукта оказалось выше, чем при использовании традиционных технологий [16].

В луке-порее, цветной капусте и зеленой фасоли после обработки НРР авторами [17] отмечено увеличение биодоступности фолата, однако во время хранения при низких температурах количество образующихся моноглутаматных соединений уменьшилось. Исследование показало необходимость установления оптимальных условий хранения с целью минимизации этой проблемы.

При использовании НРР возникают определенные проблемы с производительностью и высокими эксплуатационными затратами, которые сдерживают промышленное внедрение этих технологий [18].

2.2. Использование импульсного электрического поля (PEF)

Обработка в импульсном электрическом поле (PEF) (англ. *Pulsed Electric Fields, далее — PEF*) — другой нетепловой метод обработки, который приводит к инактивации ферментов и патогенных микроорганизмов за счет электропорации клеточных мембран. Серия коротких высоковольтных импульсов разрушает клеточные мембраны вегетативных микроорганизмов, обеспечивая образование новых пор или расширение существующих в мембранах микробных клеток [19]. Количество пор, образующихся вокруг клеточных мембран под действием электрического поля, зависит от среды, напряженности электрического поля, интенсивности импульса, ширины импульса, числа импульсов и времени обработки, а также от типа и штамма микроорганизма, размера и геометрии клеток [20]. PEF предполагает обработку пищевых продуктов, помещенных между электродами, импульсами высокого напряжения порядка 20–80 кВ, которое приводит к летальному исходу различных видов бактерий, плесеней и дрожжей [19,21,22].

Так как обработка PEF вызывает незначительное увеличение температуры, отмечается отсутствие заметных потерь аромата, цвета и биологически активных комплексов в обработанном продукте [23–25]. В исследовании [26] сравнили содержание витамина С после обработки PEF, пастеризацией и обработкой НРР. Данные показали, что после обработки PEF содержание витамина С в соках было наибольшим относительно других образцов.

В другом исследовании при обработке фруктовых соков PEF средней интенсивности ($E = 2,7$ кВ/см и длительность импульса 15–1000 мкс) наблюдалась инактивация микроорганизмов. Для промышленной обработки это составляет большой потенциал для сохранения фруктовых соков и жидких пищевых продуктов с нейтральным pH [27–29].

Исследования смешанных морковных соков показали, что PEF оказывает на микроорганизмы (в том числе *L. plantarum* и *E. coli*) летальное нетермическое действие, при этом степень инактивации *E. coli* возрастает по мере уси-

ления напряженности электрического поля с 5 до 20 кВ/см и числа импульсов с 207 до 1449 [30].

Изучение состава томатного сока после обработки PEF 35 кВ/см в течение 1500 мс при биполярных импульсах (4 мкс, частота 100 Гц) и плотности энергии 8269 кДж/л показало увеличение содержания ликопина и витамина С, по сравнению с соком, прошедшим тепловую обработку при 90 °С в течение 30 с, а степень инактивации пектинметилэстеразы составила 82% [31].

Инактивация микроорганизмов PEF обработкой позволяет производить пастеризованные продукты в соответствии со стандартами, установленными регулирующими органами. Таким образом, можно считать, что технология готова для применения в промышленных масштабах. Однако следует отметить высокие затраты для организации данного вида обработки — перед машиностроителями стоит задача сделать оборудование коммерчески жизнеспособным [32].

2.3. Радиоактивное излучение

Радиация — это нетермический метод, используемый для сохранения продуктов питания, который уничтожает микроорганизмы или уменьшает их количество при температуре окружающей среды, избегая разрушительного воздействия тепла на аромат, цвет и питательную ценность продукта. Механизм облучения включает в себя образование реактивных частиц, которые далее запускают процесс, взаимодействуя с клеточными структурами и ДНК микроорганизмов. Увеличение срока годности продуктов питания происходит путем вмешательства в катаболизм микроорганизмов, присутствующих в свежих продуктах в процессе хранения [33].

В настоящее время облучение отдельно или в сочетании с другими традиционными методами консервации используется для увеличения срока годности свеженарезанных продуктов [34]. Однако этот способ обработки часто связывается с развитием характерного привкуса в процессе хранения продукта и с размягчением структуры некоторых свежих фруктов и овощей, так как облучение может влиять на главные компоненты продукта, то есть на углеводы, белки и жиры [33]. Во многих случаях изменения, происходящие в продукте, зависят от дозы облучения и от степени деполимеризации. Как указано Комиссией Codex Alimentarius, максимально допустимая доза для пищевых продуктов составляет 10 кГр. При облучении белки могут подвергаться коагуляции, разворачиванию, молекулярному раскручиванию и расщеплению. Например, сырые яйца стали жидкими и водянистыми после облучения дозой 6 кГр. В результате облучения пшеницы дозой 0,2–10 кГр, после разложения крахмала, наблюдалось значительное повышение уровня водорастворимых сахаров. Также при увеличении дозы облучения происходит усиление прогорклого запаха за счет самоокисления жиров [35].

В большинстве случаев облучение не вызывает изменений органолептических свойств овощей и фруктов. Например, изменение структуры яблок зависело от используемой дозы: при дозах 0,15–0,30 кГр изменения в структуре не наблюдалось, в то время как при дозах 0,30–0,90 кГр значительно уменьшилась твердость. Снижение твердости также наблюдалось для малины, груш, папайи и цитрусовых. Облучение в 0,75 кГр приводило к изменению аромата папайи и апельсинов [36–38]. Другие изменения, которые были отмечены после облучения некоторых фруктов и овощей: уменьшение содержания аскорбиновой кислоты в луке, картофеле, яблоках и грейпфрутах; увеличение содержания сахарозы, изменение аминокислотного состава и снижение содержания каротиноидов в картофеле; уменьшение содер-

жания λ -токоферола в нарезанных ломтиками помидорах; увеличение содержания флавоноидов и снижение кислотности в грейпфрутах [39].

Широкому внедрению данного способа обработки в промышленности препятствуют проблемы не только с доступностью безопасных установок, но и с запретом использования данного вида обработки при производстве некоторых видов продуктов. Например, в соответствии с ТР ТС 023/2011 в России и странах Таможенного союза запрещено использование ионизирующего излучения при производстве соковой продукции.

2.4. Применение ультрафиолетового излучения (УФИ)

Ультрафиолетовое излучение (УФИ) является одной из технологий, направленных на обеспечение безопасности пищевых продуктов, сохранение внешнего вида и питательных веществ, а также продление срока хранения [40,41]. Эффект от УФИ происходит за счет поглощения микроорганизмами коротковолнового (100–400 нм) УФ-света, предотвращая процесс деления клетки. Эффективность УФИ находится в прямой зависимости от количества дозы, поглощенной микроорганизмом [42, 43]. При этом происходит серьезное повреждение клеточной стенки микроорганизмов, нарушается система репарации ДНК и затрагиваются ферментативные функции, которые приводят к разрушению клеточной структуры из-за повышенной проницаемости клеточной мембраны и ее деполаризации [44]. УФИ эффективно для жидких пищевых продуктов по отношению к патогенным микроорганизмам, при этом в результате данного вида обработки не повышается температура продукта и не происходит нежелательных изменений органолептических показателей.

По сравнению с тепловой обработкой, при обработке УФИ происходит эффективное разрушение спор, которые не восприимчивы к температуре [45,46]. УФИ мощностью около 140 Дж/м² достаточно для инактивации спор *B. anthracis* [47]. Однако во многих исследованиях сообщается об устойчивости к УФИ спор рода *Bacillus* [48,49].

Достоинства использования УФИ заключаются в том, что УФ-системы требуют минимального обслуживания, являются экологически безопасными и могут быть установлены в любой точке производственной линии.

Недостатками данного метода является малая глубина проникновения (так называемая поверхностная обработка), возможное повторное обсеменение продукта, деструкция витаминов (потери некоторых из них могут достигать 50% [50]), белков, антиоксидантов, а также окисление липидов. Все это требует дальнейшего изучения и поиска решения для минимизации разрушительного воздействия УФИ на различные группы пищевых продуктов [51,52].

2.5. Фильтрация

Фильтрация через фильтры с пористой перегородкой — метод обработки, главным образом используемый для жидких продуктов. При этом размер пор фильтра подбирают таким образом, чтобы он обеспечивал барьер для определенных видов микроорганизмов, контаминирующих исходный продукт. В пищевой промышленности применяют микрофильтрацию и ультрафильтрацию.

2.5.1. Микрофильтрация

Мембранный фильтр в установке микрофильтрации имеет средний размер пор 0,1 мкм. Диапазон размеров, в зависимости от вида фильтра и целей фильтрации, может варьироваться от 0,05 мкм до 5 мкм. Микрофильтрация эффективна для удаления из жидкости простейших живых организмов, бактерий и вирусов.

2.5.2. Ультрафильтрация

Средний размер пор мембраны ультрафильтрации в 10 раз меньше, чем у микрофильтрации. Он составляет 0,01 мкм и может варьироваться от 0,001 мкм до 0,05 мкм. Ультрафильтрация эффективна против простейших живых организмов, бактерий и большинства вирусов.

Преимущества, связанные с этой обработкой, включают увеличение срока годности готового продукта и энергосбережение. Однако данный вид обработки пригоден только для жидких продуктов, он имеет высокие эксплуатационные затраты на обслуживание и замену мембранных фильтров.

3. Выводы

Ряд нетермических способов обработки, такие как НРР, УФИ и фильтрация широко используются в производстве продуктов питания, в то время как обработка в импульс-

ном электрическом поле и радиоактивное излучение имеют крайне ограниченное применение. Данные способы обработки требуют дополнительных мер для обеспечения безопасности обслуживающего персонала и жесткого контроля применяемых доз. Следует отметить, что обработка только нетермическими способами приводит к ограниченному сроку годности готовых продуктов и зачастую требует специальных условий хранения. В связи с этим имеет смысл комбинирование термических и нетермических способов обработки. Примером такого сочетания может служить применение ультрафильтрации сока и пастеризации. Несомненным преимуществом такого сочетания может служить снижение термической нагрузки на продукт, т. к. микробиологическая обсемененность предварительно снижена фильтрацией. И, как следствие, мы получаем стабильно хранящийся продукт с минимальными потерями качества и сохраненным нативным потенциалом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Jackson, L. S., Al-Taher, F. (2022). Processing issues: acrylamide, furan, and trans fatty acids. Chapter in a book: Ensuring Global Food Safety: Exploring Global Harmonization. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816011-4.00021-5>
- Chiozzi, V., Agriopoulou, S., Varzakas, T. (2022). Advances, applications, and comparison of thermal (pasteurization, sterilization, and aseptic packaging) against non-thermal (ultrasounds, UV radiation, ozonation, high hydrostatic pressure) technologies in food processing. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(4), Article 2202. <https://doi.org/10.3390/app12042202>
- Chacha, J.S., Zhang, L., Ofoedu, C.E., Suleiman, R.A., Dotto, J.M., Roobab, U. et al. (2021). Revisiting non-thermal food processing and preservation methods — action mechanisms, pros and cons: A technological update (2016–2021). *Foods*, 10(6), Article 1430 <https://doi.org/10.3390/foods10061430>
- Pingen, S., Sudhaus, N., Becker, A., Krischek, C., Klein, G. (2016). High pressure as an alternative processing step for ham production. *Meat Science*, 118, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.014>
- Tsevdou, M., Eleftheriou, E., Taoukis, P. (2013). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.11.004>
- Marangoni Junior, L., Cristianini, M., Padula, M., Anjos, C.A.R. (2019). Effect of high-pressure processing on characteristics of flexible packaging for foods and beverages. *Food Research International*, 119, 920–930. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.078>
- Liu, H., Xu, Y., Zu, S., Wu, X., Shi, A., Zhang, J. et al. (2021). Effects of high hydrostatic pressure on the conformational structure and gel properties of myofibrillar protein and meat quality: A review. *Foods*, 10(8), Article 1872. <https://doi.org/10.3390/foods10081872>
- Mahadevan, S., Karwe M. V. (2016). Effect of high-pressure processing on bioactive compounds. *Food Engineering Series*, 479–507. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_22
- Marciniak, A., Suwal, S., Naderi, N., Pouliot, Y., Doyen, A. (2018). Enhancing enzymatic hydrolysis of food proteins and production of bioactive peptides using high hydrostatic pressure technology. *Trends in Food Science and Technology*, 80, 187–198. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.013>
- Wang, B., Liu, F., Luo, S., Li, P., Mu, D., Zhao, Y. et al. (2019). Effects of high hydrostatic pressure on the properties of heat-induced wheat gluten gels. *Food and Bioprocess Technology*, 12(2), 220–227. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2205-3>
- O'Reilly, C., Kelly, L.A., Murphy, M.P., Beresford, P.T. (2001). High pressure treatment: Applications in cheese manufacture and ripening. *Trends in Food Science and Technology*, 12(2), 51–59. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00060-7)
- Oliveira, F.A.D., Neto, O.C., Santos, L.M.R.D., Ferreira, E.H.R., Rosenthal, A. (2017). Effect of high pressure on fish meat quality — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 66, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.014>
- Butz, P., Fernandez Garcia, F., Lindauer, R., Dieterich, S., Bogner, A., Tauscher, B. (2003). Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. *Journal of Food Engineering*, 56(2–3), 233–236. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00258-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00258-3)
- Lee, P. Y., Kebede, B. T., Lusk, K., Miroso, M., Oey, I. (2017). Investigating consumers' perception of apple juice as affected by novel and conventional processing technologies. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 2564–2571. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13542>
- Kim, Y.-S., Park, S.-J., Cho, Y.-H., Park, J. (2001). Effects of combined treatment of high hydrostatic pressure and mild heat on the quality of carrot juice. *Journal of Food Science*, 66(9), 1355–1360. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15214.x>
- Dede, S., Alpas, H., Bayındır, A. (2007). High hydrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: Antioxidant activity and microbial safety. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(5), 773–782. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2758>
- Melse-Boonstra, A., Verhoef, P., Konings, E.J.M., Van Dusseldorp, M., Matser, A., Hollman, P.C.H. et al. (2002). Influence of processing on total, monoglutamate and polyglutamate folate contents of leeks, cauliflower, and green beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3473–3478. <https://doi.org/10.1021/jf0112318>
- Huang, H.-W., Wu, S.-J., Lu, J.-K., Shyu, Y.-T., Wang, C.-Y. (2017). Current status and future trends of high-pressure processing in food industry. *Food Control*, 72, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.019>
- Jin, T.Z., Zhang, H.Q. (2020). Pulsed electric fields for pasteurization: Food safety and shelf life. *Food Engineering Series*, 553–577. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_21
- Guerrero-Beltran, J.A., Welti-Chanes, J. (2016). Pulsed electric fields. Chapter in a book: Encyclopedia of Food and Health, Academic Press, 2016. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00579-1>
- Jadhav, H.B., Annapure, U.S., Deshmukh, R.R. (2021). Non-thermal technologies for food processing. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 657090. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.657090>
- Mendes-Oliveira, G., Jin, T.Z., Campanella, O.H. (2020). Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O₁₅₇: H₇ and *Salmonella* Typhimurium in juices by pulsed electric fields: The role of the energy density. *Journal of Food Engineering*, 282, Article 110001. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110001>
- Shamsi, K., Sherkat, F. (2009). Application of pulsed electric field in non-thermal processing of milk. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(03), 216–244.
- Bhattacharjee, C., Saxena, V. K., Dutta, S. (2019). Novel thermal and non-thermal processing of watermelon juice. *Trends in Food Science and Technology*, 93, 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.015>
- Koubaa, M., Barba, F.J., Bursac Kovačević, D., Putnik, P., Santos, M.D., Queirós R. P. et al. (2018). Pulsed electric field processing of fruit juices. Chapter in a book: Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis. Academic Press, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00022-9>
- Wibowo, S., Essel, E. A., De Man, S., Bernaert, N., Van Droogenbroeck, B., Grauwet, T., et al. (2019). Comparing the impact of high pressure, pulsed electric field and thermal pasteurization on quality attributes of cloudy apple juice using targeted and untargeted analyses. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 54, 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.03.004>
- Timmermans, R.A.H., Mastwijk, H.C., Berendsen, L.B.J.M., Nederhoff, A.L., Matser, A.M., Van Boekel, M.A.J.S. et al. (2019). Moderate intensity Pulsed Electric Fields (PEF) as alternative mild preservation technology for fruit juice. *International Journal of Food Microbiology*, 298, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.015>
- Roobab, U., Abida, A., Chacha, J.S., Athar, A., Madni, G.M., Ranjha, M.M.A.N. et al. (2022). Applications of innovative non-thermal pulsed electric field technology in developing safer and healthier fruit juices. *Molecules*, 27(13), Article 4031. <https://doi.org/10.3390/molecules27134031>
- Salehi, F. (2020). Physico-chemical properties of fruit and vegetable juices as affected by pulsed electric field: a review. *International Journal of*

- Food Properties*, 23(1), 1036–1050. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1775250>
30. Rodrigo, D., Martinez, A., Harte, F., Barbosa-Canovas, G., Rodrigo, M. (2001). Study of inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange-carrot juice by means of pulsed electric fields: Comparison of inactivation kinetics models. *Journal of Food Protection*, 64(2), 259–263. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.2.259>
 31. Aguilo-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2008). Comparative study on color, viscosity and related enzymes of tomato juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *European Food Research and Technology*, 227(2), 599–606. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0761-2>
 32. Ortega-Rivas, E. (2011). Critical issues pertaining to application of pulsed electric fields in microbial control and quality of processed fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 4(4), 631–645. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0231-x>
 33. Sharma, P., Sharma, S. R., Mittal, T. C. (2020). Effects and application of ionizing radiation on fruits and vegetables: A review. *Journal of Agricultural Engineering*, 57(2), 97–126.
 34. Barbosa-Canovas, G.V., Bermúdez-Aguirre, D. (2010). Novel food processing technologies and regulatory hurdles. Chapter in a book: Ensuring Global Food Safety, Academic Press, 2010. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374845-4.00016-3>
 35. Mendonça A. F., Daraba, A. (2014). Non-thermal processing: Irradiation. Chapter in a book: Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition, Academic Press, 2014. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00399-2>
 36. Boylston, T.D., Reitmeier, C. A., Moy, J. H., Mosher, G. A., Taladriz, L. (2002). Sensory quality and nutrient composition of three hawaiian fruits treated by X-irradiation. *Journal of Food Quality*, 25(5), 419–433. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2002.tb01037.x>
 37. Alonso, M., Palou, L., Ángel del Río, M. A., Jacas, J.-A. (2007). Effect of X-ray irradiation on fruit quality of clementine mandarin cv. 'Clemenules'. *Radiation Physics and Chemistry*, 76(10), 1631–1635. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2006.11.015>
 38. Fan, X., Niemera, B. A., Mattheis, J. E., Zhuang, H., Olson, D. W. (2006). Quality of fresh-cut apple slices as affected by low-dose ionizing radiation and calcium ascorbate treatment. *Journal of Food Science*, 70(2), S143–S148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07119.x>
 39. McDonald, H., Arpaia, M., Caporaso, F., Obenland, D., Were, L., Rakovski, C. et al. (2013). Effect of gamma irradiation treatment at phytosanitary dose levels on the quality of 'Lane Late' navel oranges. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.018>
 40. Chawla, A., Lobacz, A., Tarapata, J., Zulewska, J. (2021). UV light application as a mean for disinfection applied in the dairy industry. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(16), Article 7285. <https://doi.org/10.3390/app11167285>
 41. Priyadarshini, A., Rajauria, G., O'Donnell, C., Tiwari, B. (2019). Emerging food processing technologies and factors impacting their industrial adoption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(19), 3082–3101. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1483890>
 42. López-Malo, A., Palou, E. (2004). Ultraviolet light and food preservation. Chapter in a book: Novel Food Processing Technologies. CRC Press, 2004.
 43. Шишкина, Н.С., Карастоянова, О.В., Коровкина, Н.В., Федянина, Н.И. (2007). Комплексная технология хранения растительной продукции с применением УФ-излучения. *Все о мясе*, 5S, 407–411. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2020-5S-407-411>
 44. Elmnasser, N., Guillou, S., Leroi, F., Orange, N., Bakhrouf, A., Federighi, M. (2020). Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: A review. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(7), 813–821. <https://doi.org/10.1139/W07-042>
 45. Schmalwieser, A.W., Weihs, P., Schauburger, G. (2018). UV effects on living organisms. Chapter in a book: Encyclopedia of Sustainability Science and Technology. Springer, New York, 2018. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2493-6_454-3
 46. Soni, A., Oey, I., Silcock, P., Bremer, P. (2016). Bacillus spores in the food industry: A review on resistance and response to novel inactivation technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1139–1148. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12231>
 47. Nicholson, W. L., Galeano, B. (2003). UV resistance of *Bacillus anthracis* spores revisited: Validation of *Bacillus subtilis* spores as UV surrogates for spores of *B. anthracis* Sterne. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(2), 1327–1330. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.2.1327-1330.2003>
 48. Myasnik, M., Manasherob, R., Ben-Dov, E., Zaritsky, A., Margalith, Y., Barak, Z. (2001). Comparative sensitivity to UV-B radiation of two *Bacillus thuringiensis* subspecies and other *Bacillus* sp. *Current Microbiology*, 43(2), 140–143. <https://doi.org/10.1007/s002840010276>
 49. Setlow, P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: Their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal Applied Microbiology*, 101(3), 514–525. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x>
 50. Csapo, J., Prokisch, J., Albert, C., Sipos, P. (2019). Effect of UV light on food quality and safety. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 12(1), 21–41. <https://doi.org/10.2478/ausal-2019-0002>
 51. Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2(2), 138–155. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0178-3>
 52. Afendi, N. A., Shah, N.N.A.K. (2022). Impact of UV-C assisted drying treatment on the quality of Malaysian stingless bee honey. *Advances in Agricultural and Food Research Journal*, 3(2), Article a0000306. <https://doi.org/10.36877/aafrj.a0000306>

REFERENCES

1. Jackson, L. S., Al-Taher, F. (2022). Processing issues: acrylamide, furan, and trans fatty acids. Chapter in a book: Ensuring Global Food Safety: Exploring Global Harmonization. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816011-4.00021-5>
2. Chiozzi, V., Agriopoulou, S., Varzakas, T. (2022). Advances, applications, and comparison of thermal (pasteurization, sterilization, and aseptic packaging) against non-thermal (ultrasounds, UV radiation, ozonation, high hydrostatic pressure) technologies in food processing. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(4), Article 2202. <https://doi.org/10.3390/app12042202>
3. Chacha, J.S., Zhang, L., Ofoedu, C.E., Suleiman, R.A., Dotto, J.M., Roobab, U. et al. (2021). Revisiting non-thermal food processing and preservation methods — action mechanisms, pros and cons: A technological update (2016–2021). *Foods*, 10(6), Article 1430 <https://doi.org/10.3390/foods10061430>
4. Pinggen, S., Sudhaus, N., Becker, A., Kirschek, C., Klein, G. (2016). High pressure as an alternative processing step for ham production. *Meat Science*, 118, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.014>
5. Tsevdou, M., Eleftheriou, E., Taoukis, P. (2013) Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.11.004>
6. Marangoni Junior, L., Cristianini, M., Padula, M., Anjos, C.A.R. (2019). Effect of high-pressure processing on characteristics of flexible packaging for foods and beverages. *Food Research International*, 119, 920–930. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.078>
7. Liu, H., Xu, Y., Zu, S., Wu, X., Shi, A., Zhang, J. et al. (2021). Effects of high hydrostatic pressure on the conformational structure and gel properties of myofibrillar protein and meat quality: A review. *Foods*, 10(8), Article 1872. <https://doi.org/10.3390/foods10081872>
8. Mahadevan, S., Karwe M. V. (2016). Effect of high-pressure processing on bioactive compounds. *Food Engineering Series*, 479–507. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_22
9. Marciniak, A., Suwal, S., Naderi, N., Pouliot, Y., Doyen, A. (2018). Enhancing enzymatic hydrolysis of food proteins and production of bioactive peptides using high hydrostatic pressure technology. *Trends in Food Science and Technology*, 80, 187–198. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.013>
10. Wang, B., Liu, F., Luo, S., Li, P., Mu, D., Zhao, Y. et al. (2019). Effects of high hydrostatic pressure on the properties of heat-induced wheat gluten gels. *Food and Bioprocess Technology*, 12(2), 220–227. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2205-3>
11. O'Reilly, C., Kelly, L.A., Murphy, M.P., Beresford, P.T. (2001). High pressure treatment: Applications in cheese manufacture and ripening. *Trends in Food Science and Technology*, 12(2), 51–59. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00060-7)
12. Oliveira, F.A.D., Neto, O.C., Santos, L.M.R.D., Ferreira, E.H.R., Rosenthal, A. (2017). Effect of high pressure on fish meat quality — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 66, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.014>
13. Butz, P., Fernandez Garcia, F., Lindauer, R., Dieterich, S., Bognar, A., Tauscher, B. (2003). Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. *Journal of Food Engineering*, 56(2–3), 233–236. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00258-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00258-3)
14. Lee, P. Y., Kebede, B. T., Lusk, K., Miroso, M., Oey, I. (2017). Investigating consumers' perception of apple juice as affected by novel and conventional processing technologies. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 2564–2571. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13542>
15. Kim, Y.-S., Park, S.-J., Cho, Y.-H., Park, J. (2001). Effects of combined treatment of high hydrostatic pressure and mild heat on the quality of carrot juice. *Journal of Food Science*, 66(9), 1355–1360. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15214.x>
16. Dede, S., Alpas, H., Bayındırlı, A. (2007). High hydrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: Antioxidant activity and microbial safety. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(5), 773–782. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2758>
17. Melse-Boonstra, A., Verhoef, P., Konings, E.J.M., Van Dusseldorp, M., Matser, A., Hollman, P.C.H. et al. (2002). Influence of processing on total, monoglutamate and polyglutamate folate contents of leeks, cauliflower, and green beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3473–3478. <https://doi.org/10.1021/jf01121318>

18. Huang, H.-W., Wu, S.-J., Lu, J.-K., Shyu, Y.-T., Wang, C.-Y. (2017). Current status and future trends of high-pressure processing in food industry. *Food Control*, 72, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.019>
19. Jin, T.Z., Zhang, H.Q. (2020). Pulsed electric fields for pasteurization: Food safety and shelf life. *Food Engineering Series*, 553–577. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_21
20. Guerrero-Beltran, J.A., Weltri-Chanes, J. (2016). Pulsed electric fields. Chapter in a book: *Encyclopedia of Food and Health*, Academic Press, 2016. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00579-1>
21. Jadhav, H.B., Annapure, U.S., Deshmukh, R.R. (2021). Non-thermal technologies for food processing. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 657090. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.657090>
22. Mendes-Oliveira, G., Jin, T.Z., Campanella, O.H. (2020). Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O₁₅₇: H₇ and *Salmonella* Typhimurium in juices by pulsed electric fields: The role of the energy density. *Journal of Food Engineering*, 282, Article 110001. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110001>
23. Shamsi, K., Sherkat, F. (2009). Application of pulsed electric field in non-thermal processing of milk. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(03), 216–244.
24. Bhattacharjee, C., Saxena, V. K., Dutta, S. (2019). Novel thermal and non-thermal processing of watermelon juice. *Trends in Food Science and Technology*, 93, 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.015>
25. Koubaa, M., Barba, F.J., Bursac Kovačević, D., Putnik, P., Santos, M.D., Queirós R. P., et al. (2018). Pulsed electric field processing of fruit juices. Chapter in a book: *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*. Academic Press, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00022-9>
26. Wibowo, S., Essel, E. A., De Man, S., Bernaert, N., Van Droogenbroeck, B., Grauwet, T., et al. (2019). Comparing the impact of high pressure, pulsed electric field and thermal pasteurization on quality attributes of cloudy apple juice using targeted and untargeted analyses. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 54, 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.05.004>
27. Timmermans, R.A.H., Mastwijk, H.C., Berendsen, L.B.J.M., Nederhoff, A.L., Matser, A.M., Van Boekel, M.A.J.S. et al. (2019). Moderate intensity Pulsed Electric Fields (PEF) as alternative mild preservation technology for fruit juice. *International Journal of Food Microbiology*, 298, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.015>
28. Roobab, U., Abida, A., Chacha, J.S., Athar, A., Madni, G.M., Ranjha, M.M.A.N. et al. (2022) Applications of innovative non-thermal pulsed electric field technology in developing safer and healthier fruit juices. *Molecules*, 27(13), Article 4031. <https://doi.org/10.3390/molecules27134031>
29. Salehi, F. (2020). Physico-chemical properties of fruit and vegetable juices as affected by pulsed electric field: a review. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1036–1050. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1775250>
30. Rodrigo, D., Martinez, A., Harte, F., Barbosa-Canovas, G., Rodrigo, M. (2001). Study of inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange-carrot juice by means of pulsed electric fields: Comparison of inactivation kinetics models. *Journal of Food Protection*, 64(2), 259–263. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.2.259>
31. Aguilo-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2008). Comparative study on color, viscosity and related enzymes of tomato juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *European Food Research and Technology*, 227(2), 599–606. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0761-2>
32. Ortega-Rivas, E. (2011). Critical issues pertaining to application of pulsed electric fields in microbial control and quality of processed fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 4(4), 631–645. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0231-x>
33. Sharma, P., Sharma, S. R., Mittal, T. C. (2020). Effects and application of ionizing radiation on fruits and vegetables: A review. *Journal of Agricultural Engineering*, 57(2), 97–126.
34. Barbosa-Canovas, G.V., Bermúdez-Aguirre, D. (2010). Novel food processing technologies and regulatory hurdles. Chapter in a book: *Ensuring Global Food Safety*, Academic Press, 2010. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374845-4.00016-3>
35. Mendonca A. F., Daraba, A. (2014). Non-thermal processing: Irradiation. Chapter in a book: *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, Academic Press, 2014. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00399-2>
36. Boylston, T.D., Reitmeier, C. A., Moy, J. H., Mosher, G. A., Taladriz, L. (2002). Sensory quality and nutrient composition of three hawaiian fruits treated by X-irradiation. *Journal of Food Quality*, 25(5), 419–433. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2002.tb01037.x>
37. Alonso, M., Palou, L., Ángel del Río, M. A., Jacas, J.-A. (2007). Effect of X-ray irradiation on fruit quality of clementine mandarin cv. 'Clemenules'. *Radiation Physics and Chemistry*, 76(10), 1631–1635. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2006.11.015>
38. Fan, X., Niemera, B. A., Mattheis, J. E., Zhuang, H., Olson, D. W. (2006). Quality of fresh-cut apple slices as affected by low-dose ionizing radiation and calcium ascorbate treatment. *Journal of Food Science*, 70(2), S143–S148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07119.x>
39. McDonald, H., Arpaia, M., Caporaso, F., Obenland, D., Were, L., Rakovski, C. et al. (2013). Effect of gamma irradiation treatment at phytosanitary dose levels on the quality of 'Lane Late' navel oranges. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.018>
40. Chawla, A., Lobacz, A., Tarapata, J., Zulewska, J. (2021). UV light application as a mean for disinfection applied in the dairy industry. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(16), Article 7285. <https://doi.org/10.3390/app11167285>
41. Priyadarshini, A., Rajauria, G., O'Donnell, C., Tiwari, B. (2019). Emerging food processing technologies and factors impacting their industrial adoption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(19), 3082–3101. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1483890>
42. Lo'pez-Malo, A., Palou, E. (2004). Ultraviolet light and food preservation. Chapter in a book: *Novel Food Processing Technologies*. CRC Press, 2004.
43. Shishkina, N.S., Karastoyanova, O.V., Korovkina, N.V., Fedyanina, N.I. (2020). Complex technology for storing plant products using UV radiation. *Vsyo o Myase*, 5S, 407–411. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2020-5S-407-411>
44. Elmnasser, N., Guillou, S., Leroi, F., Orange, N., Bakhrouf, A., Federighi, M. (2007). Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: A review. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(7), 813–821. <https://doi.org/10.1139/W07-042>
45. Schmalwieser, A.W., Weihs, P., Schaubberger, G. (2018). UV effects on living organisms. Chapter in a book: *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*. Springer, New York, 2018. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2495-6_454-3
46. Soni, A., Oey, I., Silcock, P., Bremer, P. (2016). *Bacillus* spores in the food industry: A review on resistance and response to novel inactivation technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1139–1148. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12231>
47. Nicholson, W. L., Galeano, B. (2003). UV resistance of *Bacillus anthracis* spores revisited: Validation of *Bacillus subtilis* spores as UV surrogates for spores of *B. anthracis* Sterne. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(2), 1327–1330. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.2.1327-1330.2003>
48. Myasnik, M., Manasherob, R., Ben-Dov, E., Zaritsky, A., Margalith, Y., Barak, Z. (2001). Comparative sensitivity to UV-B radiation of two *Bacillus thuringiensis* subspecies and other *Bacillus* sp. *Current Microbiology*, 43(2), 140–143. <https://doi.org/10.1007/s002840010276>
49. Setlow, P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: Their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal Applied Microbiology*, 101(3), 514–525. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x>
50. Csapo, J., Prokischv, J., Albert, C., Sipos, P. (2019). Effect of UV light on food quality and safety. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 12(1), 21–41. <https://doi.org/10.2478/ausal-2019-0002>
51. Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2(2), 138–155. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0178-3>
52. Afendi, N. A., Shah, N.N.A.K. (2022). Impact of UV-C assisted drying treatment on the quality of Malaysian stingless bee honey. *Advances in Agricultural and Food Research Journal*, 3(2), Article a0000306. <https://doi.org/10.36877/aafjr.a0000306>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Посокина Наталья Евгеньевна — кандидат технических наук, заведующая лабораторией технологии консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл., Видное, Школьная ул., 78 Тел.: +7-926-367-75-07 E-mail: technol@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7857-6785 * автор для контактов	Natalia E. Posokina, Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of Food Canning Technology, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkolnaya str., Vidnoe, 142703, Moscow region, Russia Tel.: +7-926-367-75-07 E-mail: technol@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7857-6785 * corresponding author
Захарова Анна Ивановна — научный сотрудник, лаборатория технологии консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл., Видное, Школьная ул., 78 Тел.: +7-903-187-14-08 E-mail: zakharova@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2336-1816	Anna I. Zakharova, Researcher, Laboratory of Food Canning Technology, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkolnaya str., Vidnoe, 142703, Moscow region, Russia Tel.: +7-903-187-14-08 E-mail: zakharova@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2336-1816
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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-11-21>

Поступила 23.11.2022

Поступила после рецензирования 26.12.2023

Принята в печать 10.01.2023

© Мяленко Д. М., 2023

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

Обзорная статья

Open access

СОВРЕМЕННЫЕ БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ С УСКОРЕННОЙ ДЕГРАДАЦИЕЙ ДЛЯ МОЛОЧНОЙ И ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ (ПРЕДМЕТНЫЙ ОБЗОР)

Мяленко Д. М.

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

биоразлагаемая упаковка, оксодоразложение, полилактид, полибутиленадипат-терефталат, биоразлагаемые добавки

АННОТАЦИЯ

Продукты полимерной промышленности, львиную долю которых составляет упаковка пищевой продукции, создают существенную угрозу для окружающей среды, что требует поиска наиболее действенных и функциональных решений. С каждым годом объемы производства полимерной упаковки растут в среднем на 10–12%, а в прошлом году из-за распространения по всему миру SARS-CoV-2 (COVID-19) и его штаммов прирост составил более 20%. Решение экологической проблемы возможно с использованием основных базовых подходов: утилизация и вторичная переработка отходов, которая даст возможность «второй жизни» уже использованным полимерам; разработка и создание новых биоразлагаемых материалов, способных деградировать полностью под влиянием внешних факторов на относительно более безопасные вещества. Однако следует отметить, что первый способ имеет ряд существенных недостатков, связанных с затруднением контроля количества осуществленных процессов рециклинга, что потенциально может привести к увеличению миграционных процессов из полимерных материалов. Вторым способом решения экологической проблемы утилизации и переработки упаковки является направление, связанное с созданием полимерных материалов, с заменой части традиционных коммерческих синтетических основ органическими и неорганическими наполнителями в различных концентрациях. Однако, можно предположить, что наиболее перспективным способом обращения с упаковочными отходами, является разработка технологий, направленных на создание полностью биоразлагаемых материалов с регулируемым сроком службы, которые после своего жизненного цикла утилизируются в короткие сроки без нанесения вреда окружающей среде. Настоящий обзор посвящен анализу рынка современных биоразлагаемых материалов и способов получения деградируемых композиций, способных стать существенной альтернативой традиционным пластикам.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию НИР № FNSS-2022-0005 Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности.

Received 23.11.2022

Accepted in revised 26.12.2023

Accepted for publication 10.01.2023

© Myalenko D. M., 2023

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

Review article

Open access

MODERN BIODEGRADABLE MATERIALS WITH ACCELERATED DEGRADATION FOR DAIRY AND FOOD PRODUCTS (SUBJECT REVIEW)

Dmitry M. Myalenko

All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia

KEY WORDS:

biodegradable packaging, oxo-degradation, polylactide, polybutylene adipate terephthalate, biodegradable additives

ABSTRACT

Products of the polymer industry, the lion's share of which is food packaging, create a significant threat to the environment, which requires a search for the most effective and functional solutions to this problem. Every year, the production of polymer packaging is growing by an average of 10–12%, and last year, due to the worldwide spread of SARS-CoV-2 (COVID-19) and its strains, the increase was more than 20%. A solution to the environmental problem is possible using the main basic approaches: disposal and recycling of waste, which will give the possibility of the “second life” to already used polymers; development and creation of new biodegradable materials capable of degrading completely under the influence of external factors into relatively safer substances. However, it should be noted that the first method has a number of significant drawbacks associated with the difficulty in controlling the amount of recycling processes carried out, which can potentially lead to an increase in migration processes from polymeric materials. The second way to solve the environmental problem of packaging disposal and recycling is the direction associated with the creation of polymeric materials with the replacement of part of the traditional commercial synthetic bases with organic and inorganic fillers in various concentrations. However, the most promising way to handle packaging waste, in our opinion, is the development of technologies aimed at creating fully biodegradable materials with a regulated service life, which, after their life cycle, are disposed of in a short time without harming the environment. This review is devoted to the analysis of the market of modern

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мяленко Д. М. (2023). Современные биоразлагаемые материалы с ускоренной деградацией для молочной и пищевой продукции (Предметный обзор). *Пищевые системы*, 6(1), 11–21. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-11-21>

FOR CITATION: Myalenko, D. M. (2023). Modern biodegradable materials with accelerated degradation for dairy and food products (Subject review). *Food Systems*, 6(1), 11–21. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-11-21>

biodegradable materials and methods for obtaining degradable compositions that can become a significant alternative to traditional plastics.

FUNDING: The article was prepared within the framework of research on the state task of Research and Development No. FNSS-2022-0005 of the All-Russian Research Institute of Dairy Industry.

1. Введение

Экологические проблемы, вызванные антропогенным фактором, изучаются с прошлого века. Отдельное внимание уделяют вопросам загрязнения природы отходами жизнедеятельности человека [1,2]. Длительное время проблему обращения с отходами игнорировали во всем мире, что привело к накоплению использованных материалов в природе [3]. Результатом служит распространение пластика в каждой биосистеме планеты: в почве и отложениях, в океане, морях и реках, даже в биомассе животного мира и человека [3–6]. При этом развивается экологическая грамотность населения и повышается роль государственных регуляторов в данном направлении. На сегодняшний день мусор сортируют и перерабатывают с целью получения вторичного сырья или энергоресурсов, также отходы подлежат захоронению и сжиганию на полигонах и профилированных заводах соответственно [3,4]. Рециклинг полимерных материалов снижает степень загрязнения окружающей среды, однако процент переработанных отходов все еще значительно ниже по сравнению с количеством захороненных отходов производства. По данным отечественных исследователей, в России такой способ утилизации используется лишь для 3–4% мусора [7], в то время как образуется около 60 млн тонн твердых коммунальных отходов в год, 5% из которых составляет пластик [8]. Полимерное сырье привлекает производителей низкой стоимостью в сочетании с прекрасными механическими характеристиками, а также небольшим весом и длительным сроком использования. За последние 50 лет мировой объем производства пластмасс вырос с 30 до 367 млн тонн [9]. В то же время, по данным Европейской ассоциации производителей пластика, за последние 3 года в Европе снижается выпуск полимерного сырья и материалов. Такую динамику можно объяснить осуществлением разумной экологической политики [10]. В странах ЕС оказывают законодательную поддержку мер по защите окружающей среды, уделяют большое внимание постоянной переработке материалов и обращению с отходами. Помимо этого, европейские производители стараются предоставлять безвредное сырье. Такая тенденция объясняет снижение поступления привычных полимерных материалов на рынок. Однако в целом прогресс стран Европы не влияет на мировые мощности производства полимеров. Пластик до сих пор является одним из самых

востребованных сырьевых материалов (Рисунок 1 и Рисунок 2) [10,11].

Исключением стал 2020 год, так как пандемия COVID-19 препятствовала привычной производственной работе. Помимо трудностей с поставками из-за усложнившейся процедуры таможенных проверок, на полимерную промышленность влияли такие факторы, как резкий ажиотажный спрос на медицинские изделия и индивидуальную упаковочную продукцию, в то время как к остальным сегментам рынка заинтересованность населения была практически потеряна. Переносы ремонтных работ, изменения инвестиционных планов и сроков выполнения проектов — все это привело к сбою в налаженной системе производства, что повлекло уменьшение объема производства некоторых групп технических полимеров [11].

Ввиду резко возросшего спроса на средства индивидуальной защиты проблема влияния пластикового мусора на экологию не уменьшилась. Большинство одноразовых медицинских масок, халатов содержат в составе полиэтилен, полипропилен и полиэтилентерефталат [12]. В России за год пандемии накопилось не меньше 30 тыс. тонн использованных средств индивидуальной защиты. Обращение с использованными СИЗ происходит так же, как и с любыми отходами [13], а значит, массивная часть используемых средств защиты захоронена и будет разлагаться в природе в течение десятков лет.

Сегодня биополимеры составляют примерно 1% от 335 млн тонн полимеров ежегодно, но по мере роста спроса и появления более совершенных биополимеров рынок постоянно растет [14].

Согласно последним данным от Европейского института биопластиков (European Bioplastics), научно-исследовательского института nova-Institute (Хюрт, Германия) и научно-исследовательского института новой школы (Хюрт, Германия), производственные мощности по изготовлению пластика будут увеличены на 20% до 2023 года [14].

Европейский институт биопластиков в 2018 году опубликовал доклад, в котором все производственные мощности производства биопластиков в мире рассортированы по названиям материалов (Рисунок 3).

На сегодняшний день практически для каждого коммерческого синтетического полимера можно подобрать альтернативный биоразлагаемый материал, который в боль-

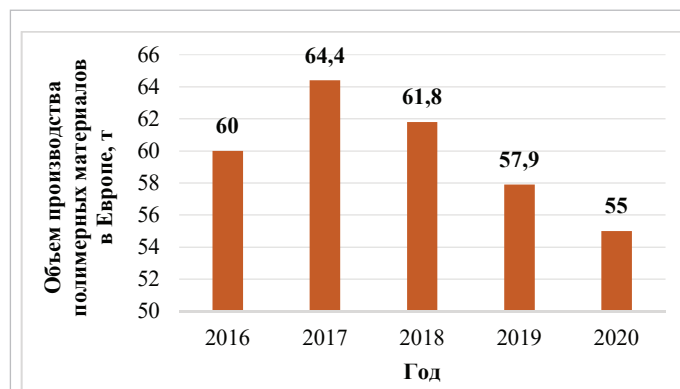


Рисунок 1. Объем производства пластика в Европе, т
Figure 1. Production volume of plastics in Europe, tonnes

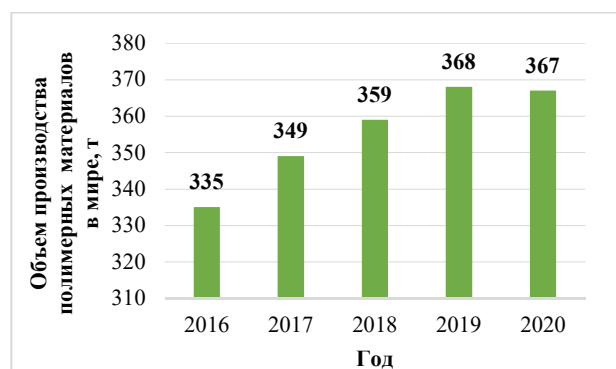


Рисунок 2. Мировой объем производства, т
Figure 2. Global production volume, tonnes

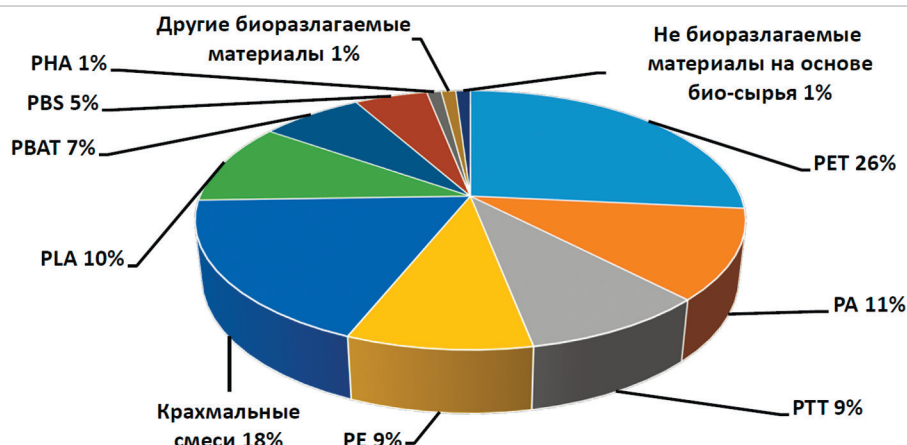


Рисунок 3. Видовое распределение биопластика в мире (2018–2019 гг.) в процентном соотношении из расчета глобальных производственных мощностей тыс. тонн за период 2018–2019 г. [14]
Figure 3. Distribution of bioplastics in the world (2018–2019) as a percentage based on the global production capacity of thousand tons for the period 2018–2019 [14]

шинстве случаев имеет те же свойства, что и традиционные пластики, и обеспечивает некоторые преимущества, например, возможность управления отходами, использование промышленного компостирования и потенциальное уменьшение углеродного следа.

Объем производства биоразлагаемых полимеров по состоянию на 2018 год составляет 1,2 млн тонн [5], большую часть от этого числа (около 65%) составляет упаковка для пищевых и непищевых продуктов. Область применения деградируемой упаковки расширяется с каждым годом — от изготовления игрушек, производства бытовой электроники и автомобилей до сельскохозяйственной, пищевой, в частности молочной промышленности.

В настоящее время в производстве пластмасс очевидна тенденция к инновациям и экологичности продукции [15,16]. Медицина [17,18] и упаковочная промышленность [19] являются одними из многочисленных отраслей, в которых востребованы различные пластмассы. При этом с каждым годом обостряется проблема загрязнения окружающей среды, в том числе при потреблении этих материалов [20], поэтому активно развивается направление биоразлагаемых полимеров — полимеров, способных к быстрой биодеградации под воздействием факторов окружающей среды и микроорганизмов. Биоразлагаемые полимеры имеют свойства, аналогичные традиционным [21]. Комбинация используемых исходных материалов позволяет получить полимер с высокой гибкостью, отличной ударной вязкостью и относительным удлинением при разрыве (более 500%). Также полученный полимер будет обладать хорошей плавкостью (температура плавления 115–125 °C) и хорошей биоразлагаемостью [22,23].

При исследованиях биоразлагаемых материалов [20,22,24–27] ученые уделяли большое внимание их свойствам и структуре, в то время как особенности применения таких материалов в качестве пищевой упаковки недостаточно хорошо изучены. Следует отметить, что многие полиэфиры из-за особенности своих свойств не могут использоваться в качестве полноценной упаковки для молочной и пищевой продукции. Они применяются в виде покрытий на биоразлагаемых полимерных материалах, тем самым придавая дополнительную стойкость к воздействию жиров и влаги, позволяя использовать их в качестве упаковки для любых продуктов, в том числе для продуктов с влажностью более 15,0% [28–30].

Кроме основных задач полимерной упаковки, которые заключаются в обеспечении сохранности молочной и пищевой продукции на протяжении всего жизненного цикла,

необходимо учитывать фактор ее экологичности [31–34]. Следует также отметить, что введение различных функциональных компонентов в полимерную основу может служить дополнительными факторами риска при обеспечении качества и безопасности упакованной продукции [31,33,35,36]. Это особенно актуально для продукции функциональной направленности и детского питания [35–37].

2. Материалы и методы

Объектами изучения являлись научные публикации и патентные исследования российских и зарубежных авторов в области создания и разработки современных биоразлагаемых материалов на основе синтетических и природных компонентов. В базах PubMed, Scopus, Mendeley и в открытых интернет-источниках был проведен поиск исследований, опубликованных в период с 1995 по 2022 годы, с использованием нескольких комбинаций ключевых слов, включая следующие: биоразлагаемая упаковка, оксоразложение, полилактид, полибутиленадипаттерефталат, полибутиленсубцинат, биоразлагаемые добавки. Результаты анализа литературы для подготовки обзора в виде схемы PRIZMA представлены на Рисунке 4.

Статьи, написанные не на английском и русском языках, а также без полнотекстовой информации, были исключены. Из подобранных материалов также были исключены статьи, не относящиеся к теме настоящего обзора.

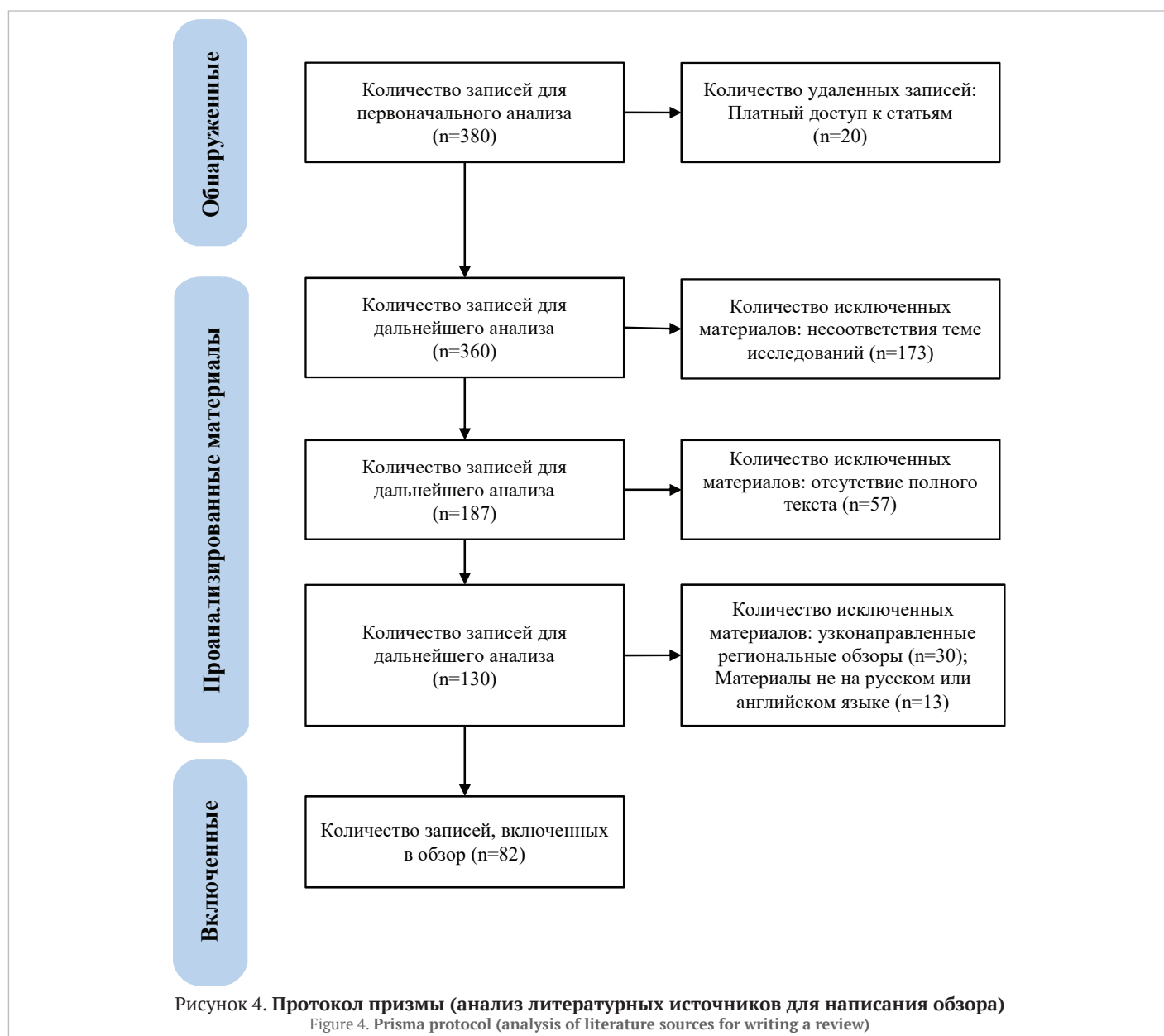
3. Результаты и обсуждение

Полимеры на биооснове, или упаковочные материалы на основе биополимеров, можно разделить на три основные группы в зависимости от их происхождения и способа производства: природные, синтетические и полусинтетические.

3.1. Природные полимеры

Хитин и Хитозан присутствуют в панцирях насекомых, крабов и креветок. В основном используются в медицине. Растворимость хитина очень низкая, поэтому его смешивают для получения упаковочных решений в виде барьерных покрытий продуктов [38].

Хитин и хитозан применяются в производстве различных биоразлагаемых пленок для упаковки, чаще используются в качестве съедобного покрытия для продления срока хранения свежих фруктов и овощей [39–41]. Они обладают хорошими антимикробными свойствами по отношению к различным грибкам, дрожжам и бактериям, встречающимся в пищевых продуктах.



Лидер производства хитина и хитозана — Япония. В России выпускают около 100 тонн этих природных полимеров в год из различных видов крабов [42].

Пластифицированный крахмал (TPS) — природный полимер, состоящий из амилопектина (поли- α -1,4-D-глюкопиранозид и α -1,6-D-глюкопиранозид) и амилозы (поли- α -1,4-D-глюкопиранозид). Сырьевые источники TPS — пшеница, рис, картофель и кукуруза. При изменении источника меняется содержание амилозы и амилопектина. Удлинение и прочность материалов на основе TPS увеличиваются по мере повышения содержания амилозы [43,44]. TPS очень чувствителен к влажности, термические свойства материала изменяются в зависимости от содержания воды [45–47]. Биоразложение происходит путем гидролиза ацетальной связи. Амилазы разрушают α -1,4-связь, а глюкозидазы расщепляют α -1,6-связь.

Примеры некоторых коммерчески доступных крахмалов и их смесей включают Ecofram™ от National starch, Solanyl™ от Rodenburg bio-polymers, Biocool™ от Novamont, Bioplast™ от Biotec и Plantic™ от Plantic Technologies. В России: ООО «Парус», ООО «Фуд Пак» «Эко Флекс», ООО «Тарра».

Целлюлоза — это линейный полимер, образованный из повторяющихся единиц целлобиозы. Она кристаллическая

и не растворима в органических растворителях. Из-за своей нерастворимости и низкой текучести она трансформируется в различные формы.

Ацетаты целлюлозы (CA) являются производными целлюлозы с прочностью на разрыв, как у полипропилена. Высокая температура стеклования (T_g) ограничивает применение CA в термической обработке. Коммерчески доступные пленки CA включают Bioceta™, разработанную компанией Mazzucchelli, и EnviroPlastic Z™, созданную компанией Planet Polymer. Биоразложение CA осуществляется бактериями и грибами с помощью ферментного окисления, в частности, пероксидазами, выделяемыми грибами [48]. Коммерчески доступные полимеры марок Tenite™ от Eastman, Fasal™ от IFA и Natureflex™ от UCB содержат в своем составе ацетаты целлюлозы.

На диацетатные пленки (DCA) хорошо наносится печатный рисунок, что позволяет применять их в качестве износостойкого наружного слоя в многослойной упаковке. Пленки на основе DCA довольно чувствительны к изменению влажности, при этом обладают хорошими прочностными характеристиками, блеском и прозрачностью. Основная область применения таких материалов — упаковка для сухих сыпучих материалов.

Коллаген и желатин — это белки соединительной ткани, состоящие из различных полипептидов, в состав которых входят гидроксипролин, пролин, глицин и лизин. Содержание глицина отвечает за гибкость коллагена [49].

Более высокомолекулярный полипептид, образующийся в результате химической деградации коллагена — желатин. Он обладает отличной пленкообразующей способностью и состоит из 19 аминокислот. Распределение молекулярной массы, состав аминокислот и тип используемого пластификатора значительно влияют на барьерные и механические свойства пленки [50]. Термическая стабильность при обработке является важным фактором, ограничивающим ее применение. Для улучшения или изменения механических и барьерных свойств пленки при производстве материала применяют/вносят различные добавки, чтобы получить функциональные пленки для упаковки пищевых продуктов. Например, 4% желатиновая пленка с 2,5% кукурузного масла и 5% оливкового масла используется для упаковки колбас.

3.2. Полимеры, полученные классическим химическим синтезом из био-мономеров

Полилактид (PLA) — это тип алифатического полиэфира, получаемого путем полимеризации лактидного мономера с раскрытием кольца. Мономеры молочной кислоты обычно получают в результате ферментации возобновляемых материалов, таких как кукуруза, сахар, другое сырье. Он пригоден для вторичной переработки, компостирования, разлагается в течение короткого периода, имеет высокую молекулярную массу и обладает высокой прозрачностью [51]. При изменении соотношения мономеров свойства PLA могут быть изменены от кристаллических до аморфных. Температура стеклования коммерчески доступного PLA составляет 63,0–63,8 °C [52]. Начальная кристалличность и содержание мономера изменяют скорость деградации всего полимера, где наименьшая деградация наблюдается при наибольшем содержании мономера из-за высокой кристаллической природы [53].

Мировая практика по предоставлению налоговых льгот на выпуск продукции, не наносящей вред окружающей среде, стимулирует производителей PLA на наращивание своих производственных мощностей [54].

Лидер в производстве L-PLA — компания Nature Works — выпускает в среднем 140 000 тонн/год гранул. Классический PLA поставляется на рынок рядом компаний по всему миру: Toyota (Япония), Hitachi (Япония), Dupont (США), Galactec (Бельгия), Hisun Biomaterials (Китай) [54].

Обычно PLA используется для получения контейнеров, питьевых стаканчиков, стаканчиков для мороженого и салатов, оберточной пленки и блистерной упаковки, а также является хорошо биосовместимой пластмассой, которая может применяться в сфере медицины. Также часто встречается использование PLA в композитных пленках.

Поликапролактон (PCL) — полиэфир, обладает как желательными реологическими свойствами, так и низкой температурой плавления (минус 60 °C стеклования, Tg. 60 °C плавления, Tm) [55–57].

PCL стабилен в диапазоне температур обработки расплава в течение нескольких дней и демонстрирует значительную и быструю термическую деструкцию при температурах выше 170 °C. Синтезируется из ϵ -капролактона при нагреве и использовании катализаторов.

Поликапролактон может быть синтезирован из циклического эфира ϵ -капролактона (CL) путем кольцевой полимеризации, катализируемой металлоалкоксидами, карбоксилатами металлов или ионными инициаторами при

повышенной температуре (> 120 °C) [58–62]. В качестве альтернативы можно использовать поликонденсацию 6-гидроксигексановой кислоты, хотя при таком синтезе обычно получается продукт более низкого качества [63]. Сложность метода поликонденсации заключается в достижении высоких степеней полимеризации и молекулярных масс, превышающих 10 кДа, поэтому метод полимеризации с открытием кольца является более предпочтительным [63].

Добавление в PCL хитозана увеличивает общую гидрофобность смеси. В смеси наблюдаются низкие значения скорости пропускания водяных паров по сравнению с чистыми пленками. Благодаря этому свойству продукты, хранящиеся в таких пленках, имеют более длительный срок хранения [64]. Изделия из данного материала выпускаются под торговыми названиями Tone® от Union Carbide, Celgreen® от Daicel, CAPA® от Solvay. Производят поликапролактон также компании BASF SE, Sigma-Aldrich Corporation, Polysciences Inc. и некоторые другие.

Полибутилен сукцинат (PBS) — полимер, принадлежащий к семейству полиалкендикарбоксилатов, получаемый путем поликонденсации гликолей (1,4-бутандиол и этиленгликоль) с алифатическими дикарбоновыми кислотами (адипиновая и янтарная). PBS обладает примерно такими же механическими свойствами, как полиэтилен (PE) и полипропилен (PP) [65]. Благодаря высокой кристалличности и хорошим термическим свойствам гомополимеров, сополимер PBS и полибутилакрилата (PBA) может быть использован в качестве упаковочного [66]. Физические свойства и кристаллическая структура сополимера PBSA сильно зависят от состава полимерных соединений [67].

В 1993 году японская компания Showa High Polymer реализовала проект по строительству крупного предприятия по производству PBS мощностью 3000 т/г. Данный материал синтезируется путем конденсации в расплаве с применением диизоцианата. Полимер выпускается под торговой маркой Bionolle.

В 2003 году был реализован проект GS Pla (Green and Sustainable Plastic) с объемом производства 3000 т/г. На данный момент на рынке существует несколько крупных производителей PBS, среди которых: Hexing Chemical (Аньхой, Китай), Xinfu Pharmaceutical (Ханчжоу, Китай), IRe Chemical (Южная Корея).

Компании Hexing Chemical и Xinfu Pharmaceutical с 2010 года являются крупнейшими производителями PBS (более 30 000 т/г), в том числе с применением технологии непрерывного производства.

PBS можно переработать в пленки, пакеты или коробки как для пищевой, так и для косметической упаковки, а также в одноразовые изделия, такие как посуда или медицинские изделия. В сельском хозяйстве PBS применяется производителями материалов с отсроченным высвобождением для пестицидов и удобрений, а также материал используется в лесном хозяйстве, гражданском строительстве или других областях, в которых сбор и переработка материалов после использования проблематичны. В области медицины PBS можно использовать в качестве систем инкапсуляции биоразлагаемых лекарств, а также при производстве имплантатов [68].

Алифатический сополимер полилактида (CPLA) образуется из смеси лактида, который является возобновляемым ресурсом, и дикарбоновой кислоты, которая представляет собой алифатический полиэфир. Он обладает свойствами PP и PS, которые зависят от процента полиэфира, присутствующего в смеси. CPLA стабилен до температуры 200 °C. При сгорании выделяется очень малое количество CO₂ по сравнению с PE и PP. При сжигании CPLA не образуются токсичных

веществ. В естественной среде фрагментарное разложение занимает 5–6 месяцев, а полное разложение — 12 месяцев [69]. Пленка производится в Японии компанией Dainippon Ink Chemicals под торговым названием CPLA™.

Полигликолид, или полигликолевая кислота, полученная поликонденсацией гликолевой кислоты, — это один из простейших алифатических полиэфиров с температурой стеклования (T_g) 35–40 °C и температурой плавления (T_m) приблизительно 220–250 °C. Он нерастворим в воде из-за высокой фторированности 40–55%, но растворим в большинстве фторированных растворителей, что позволяет использовать его для формирования высокомолекулярных полимерных пленок. Полимер полностью реабсорбируется организмом в течение 5–6 месяцев [70]. Полигликолид характеризуется гидролитической нестабильностью из-за наличия сложноэфирной связи в его основе. Процесс деградации является эрозионным и происходит в два этапа, во время которых полимер превращается обратно в мономер гликолевой кислоты: сначала вода диффундирует в аморфные (некристаллические) области полимерной матрицы, расщепляя эфирные связи; второй этап начинается после разрушения аморфных областей, оставляя кристаллическую часть полимера восприимчивой к гидролитической атаке. При разрушении кристаллических областей полимерная цепь растворяется [70].

Компания Kureha Chemical Industries коммерциализировала высокомолекулярный полигликолид для применения в пищевой упаковке под торговым названием Kuredux. Производство ведется в Белль, Западная Вирджиния, с предполагаемой мощностью 4000 тонн. Его свойства как барьерного материала обусловлены высокой степенью кристаллизации. Предполагается, что данный полимер будет использоваться в качестве прослойки между слоями PET для обеспечения улучшенной барьерной защиты скоропортящихся продуктов, включая газированные напитки и продукты, которые теряют свои потребительские свойства при длительном воздействии воздуха. Более тонкие пластиковые бутылки, сохраняющие желаемые барьерные свойства, также могут быть созданы с помощью технологии полигликолидной прослойки.

Полибутиленадипаттерефталат (PBAT) — это линейный ароматический сополиэфир, полученный в результате конденсации 1,4-бутандиола со смесью терефталевой и адипиновой кислот. При концентрации терефталевой кислоты более 35% он демонстрирует отличные свойства: гибкость и жесткость. При увеличении содержания выше 55% скорость биоразложения PBAT снижается. Этот материал гибкий и мягкий, как PCL, поэтому он используется в производстве пленок, нитей, бутылок и формованных изделий. PBAT можно смешивать с целлюлозой с целью улучшения гидрофобности, механических и термических свойств, а также с крахмалом и другими биоразлагаемыми полимерами. Добавление данного биополимера в PHBV снижает степень кристалличности полученной композиции [71].

Полибутиленадипаттерефталат в чистом виде производится компанией BASF под торговой маркой Ecoflex и в смеси с PLA под названием Ecovio. Компании Novamont, Zhuhai Wango Chemical Co Ltd, JinHui Zhaolong и Eastman Chemical выпускают биоразлагаемый компаунд под названием Origo-Bi®, Wango® и Ecoworld®, а также композиции с крахмалом под названием Mater-Bi®, Ecowill® и Eastar Bio®. Кроме того, производством PBAT занимаются поставщики в Китае и других странах: к таким компаниям относятся Zhejiang Biodegradable Advanced Material Co. Ltd., Dongguan Xinhai Environmental Protection Material Co., Ltd. (Китай), а также Green Chemical Co., Ltd. и WILLEAP (Южная Корея).

PBAT продается на коммерческом рынке как полностью биоразлагаемый пластик, при этом Ecoflex компании BASF показал 90% разложение после 80 дней испытаний [72]. Благодаря своей высокой гибкости и биоразлагаемости, PBAT также продается в качестве добавки к более жестким биоразлагаемым пластикам для придания гибкости при сохранении полной биоразлагаемости конечной смеси.

Полипропилен карбонат (PPC) — биополимер, являющийся наиболее распространенным алифатическим поликарбонатом, который производится из CO₂ и пропиленкарбоната путем сополимеризации. Пленки из PPC имеют ряд преимуществ — лучшая растяжимость и барьерные свойства (пары O₂ и H₂O) по сравнению с PBAT, PE и смесью PE/TPS. Сопротивление разрыву пленок PPC ниже, чем у PBAT, но выше, чем у LDPE и смеси PE/TPS. Однако аморфный PPC имеет ряд недостатков, включая плохую термическую стабильность, высокую усадку, недостаточные механические свойства, низкую температуру стеклования (25–45 °C) и изменчивость характеристик полимера в зависимости от типа катализатора, используемого для приготовления PPC [73].

Композиты полипропиленкарбоната с крахмалом (PPC/TPS) применяются в качестве биоразлагаемых пластиков. Одним из крупнейших производителей полипропиленкарбоната является компания Empower Materials (Нью-Касл, США).

3.3. Полимеры, полученные из природных или генетически модифицированных организмов

Полигидроксиканоаты (PHA) представляют собой природный полиэфир, получаемый путем бактериальной ферментации сахара, глюкозы или растительного масла. Это один из самых новых и широко используемых биоразлагаемых полимеров для упаковки пищевых продуктов [74]. Его T_m колеблется в пределах 40–180 °C в зависимости от мономеров, используемых для синтеза. В зависимости от источника углерода и природы происхождения, PHA может иметь различные прочностные характеристики: от хрупкого до резиноподобного [75,76].

PHA полностью биоразлагаема. Биоразложение происходит под действием эстеразы, разрывающей связи мономера с концами цепи. Наиболее распространенным PHA является полигидроксиканоат PHL, образующийся при полимеризации 3-гидроксиканоата. PHL известен своей превосходной устойчивостью к ультрафиолетовому воздействию и высокими оптическими свойствами с T_m 180 °C и T_g 55 °C. Кристалличность полигидроксиканоата составляет более 50%. Хорошо известно, что PHL нестабилен после температуры плавления 180 °C, а при хранении даже на 10 °C ниже температуры плавления может произойти снижение молекулярной массы, что ограничивает его технологичность [77].

Для повышения технологичности используются всевозможные стратегии, такие как сополимеризация с другими алканатами, добавление биоразлагаемого полимера или смешивание со вторым полимером. PHL подвергается деградации различными бактериями, грибами и водорослями в разных условиях окружающей среды.

Сополимер полигидроксиканоатвалерат (PHBV) синтезируется путем добавления пропионовой кислоты к исходному сырью. Он разлагается в течение 5–6 недель в микробиологически активной среде с образованием CO₂ и H₂O в аэробных условиях. В анаэробных условиях разложение происходит быстрее, с выделением метана [78]. PHL и PHBV продаются под разными торговыми названиями: Biopol™ от Monsanto, Nodax™ от Procter & Gamble и корпорации Kaneka, Eamat™ от Tianan и Biomer-P™ от Biomer.

3.4. Биоразлагающие добавки

Сейчас на рынке присутствует большое разнообразие биоразлагаемых упаковочных решений с разной стоимостью и трудоемкостью производства, качеством и свойствами. По мнению экспертов [49], наиболее распространенным решением является использование оксо-биоразлагаемой добавки. Упаковка из подобных экологических материалов позиционируется на рынке как биоразлагаемая, и популярность данного производства обуславливается его относительной дешевизной, способствуя продвижению продукции на рынке.

В качестве прооксидантов (инициаторов фотоокисления синтетических полимерных материалов) применяются соли кальция в виде карбонатов и карбоксилаты металлов [79].

Наименьшее влияние на окружающую среду наносит биодegradируемая композиция на основе полипропилена и карбоксилата железа [80].

Наибольшей популярностью на мировом рынке оксо-биоразлагаемых полимеров является прооксидант d2w, который в определенных условиях температуры и влажности является катализатором деструктивных процессов полимера. Крупнейшим поставщиком добавки является компания Symphony environmental technologies plc.

Компоненты, ускоряющие разрушение пластиков в виде продеградантов и прооксидантов различного состава, производят десятки компаний по всему миру (ЕС, США, Канада, Великобритания, Норвегия).

В Европейском союзе с 2020 года ввели запрет на производство ряда пластиковых изделий, а также планируется отказаться от синтетического пластика в тех отраслях промышленности, где возможно провести замену на аналогичные или близкие по своим свойствам биоразлагаемые

материалы. Кроме того, на ряд пластиков уже установлены целевые показатели в отношении переработки пластиковых бутылок, которые необходимо достигнуть к 2025 и 2030 годам [81,82].

Минприроды РФ предлагает сокращать потребление пластика в России на 10–20% ежегодно. Окончательно запретить производство одноразовых товаров и упаковки из пластика в России планируется в 2024 году [83].

4. Выводы

Решение проблемы защиты окружающей среды путем уменьшения производства полимерной упаковки за счет ее замены на биоразлагаемые материалы выглядит одним из наиболее перспективных. Однако следует отметить, что при разработке новых экологических материалов необходимо учитывать не только их способность к ускоренной деградации, но и безопасность таких материалов по отношению к пищевой продукции. Это особенно важно для оксоразлагаемой упаковки, где существуют риски миграции тяжелых металлов и их оксидов в продукт и в различные модельные среды. В Европе действует Директива 2019/904, запрещающая все изделия из оксоразлагаемого пластика. Директива частично реализована государствами-членами ЕС в июле 2021 года. Соответственно, производители и компании, производящие, продающие или планирующие продавать эти суперконцентраты в ЕС, должны будут адаптироваться к новым требованиям. Окончательные сроки вступления в силу Директивы — декабрь 2021 г. Очевидно, что задача обеспечения биоразложения упаковки с минимизацией химических рисков является/может являться предметом дальнейших исследований.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Бойко, А. Г. (2014). RosUpack — 2014. Тенденции российского рынка гибких упаковочных материалов. Электронный ресурс <https://plastinfo.ru/information/articles/473>. Дата доступа 01.08.2022.
- RUSTARA.RU (2015). История пластиковой тары. Электронный ресурс <https://www.rustara.ru/articles/Istoriya-plastikovo-j-tary/>. Дата доступа 01.08.2022.
- Белобородова, Т. Г. (09 февраля 2017). *Актуальные направления переработки вторичных полимерных материалов в изделия*. Проблемы и перспективы развития науки и образования в XXI веке. Материалы Международной (заочной) научно-практической конференции. София, Болгария, 2017.
- Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» (с изменениями на 18 октября 2016 года) (утвержден решением комиссии Таможенного союза от 16 августа 2011 года № 769). Москва — 2011
- Bioplastics Europe. (2018). Global production capacities of bioplastics 2018–2023 Retrieved from <http://www.european-bioplastics.org/news/publications> Accessed: August 1, 2022.
- Lebreton, L., Andrady, A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 1(5), Article 6. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7>
- Пляскина, Н. И., Харникова, В. Н. (2016). Управление в сфере обращения с твердыми коммунальными отходами: современное состояние. *ЭКО*, 12, 7–21.
- РЭО (2021). РЭО подвел итоги года. Электронный ресурс <https://reo.ru/tpost/o5xr9cae1-reo-podvel-itogi-goda>. Дата доступа 01.08.2022.
- Market data Archives Plastics Europe. (2022). Quarterly Report Q1/2022 European plastics manufacturers (EU27) Retrieved from <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/quarterly-report-q1-2022>. Accessed: August 01, 2022.
- Дубровин, Н. Н., Кондратьев, Д. А., Нефедова, Т. О. (27 декабря 2021). *Международный опыт стимулирования раздельного сбора бытовых отходов*. Теории, школы и концепции устойчивого развития науки в современных условиях. Сборник статей Международной научно-практической конференции. Уфа: OMEGA SCIENCE, 2021
- Ray, S. S., Lee, H. K., Huyen, D. T. T., Chen, S.-S., Kwon, Y.-N. (2022). Microplastics waste in environment: A perspective on recycling issues from PPE kits and face masks during the COVID-19 pandemic. *Environmental Technology and Innovation*, 26, Article 102290. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102290>
- Prata, J. C., Silva, A. L. P., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T. (2021). Disposable over reusable face masks: Public safety or environmental disaster? *Environments-MDPI*, 8(4), Article 31. <https://doi.org/10.3390/environments8040031>
- Квашнин, А. Б. (2021). Особенности утилизации средств индивидуальной защиты в условиях распространения COVID-19. *Инновационная наука*, 10–2, 22–25.
- Панфилов, Б. В. (2019). Мировой рынок биополимеров. *Полимерные материалы. Изделия, оборудование, технологии*, 7, 53.
- Hobbs, C. E. (2019). Recent advances in bio-based flame retardant additives for synthetic polymeric materials. *Polymers*, 11(2), Article 224. <https://doi.org/10.3390/polym11020224>
- Maraveas, C. (2020). Production of sustainable and biodegradable polymers from agricultural waste. *Polymers*, 12(5), Article 1127. <https://doi.org/10.3390/polym12051127>
- Qu, H., Fu, H., Han, Z., Sun, Y. (2019). Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: A review. *RSC Advances*, 9(45), 26252–26262. <https://doi.org/10.1039/c9ra05214c>
- Mochane, M. J., Motsoeneng, T. S., Sadiku, E. R., Mokheba, T. C., Se-fadi, J. S. (2019). Morphology and properties of electrospun PCL and its composites for medical applications: A mini review. *Applied Sciences (Switzerland)*, 9(11), Article 2205. <https://doi.org/10.3390/app9112205>
- Zabihzadeh Khajavi, M., Ebrahimi, A., Yousefi, M., Ahmadi, S., Farhoodi, M., Mirza Alizadeh, A. et al. (2020). Strategies for producing improved oxygen barrier materials appropriate for the food packaging sector. *Food Engineering Reviews*, 12(3), 346–363 <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09235-y>
- Quecholac-Piña, X., Hernández-Berriel, M. C., Mañón-Salas, M. C., Espinosa-Valdemar, R.M., Vázquez-Morillas, A. (2020). Degradation of plastics under anaerobic conditions: A short review. *Polymers*, 12(1), Article 109. <https://doi.org/10.3390/polym12010109>
- Reichert, C. L., Bugnicourt, E., Coltelli, M.-B., Cinelli, P., Lazzeri, A., Cane-si, I. et al. (2020). Bio-based packaging: Materials, modifications, industrial applications and sustainability. *Polymers*, 12(7), Article 1558. <https://doi.org/10.3390/polym12071558>
- Jian, J., Xiangbin, Z., Xianbo, H. (2020). An overview on synthesis, properties and applications of poly (butylene-adipate-co-terephthalate)–PBAT. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3(1), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2020.01.001>
- Гарифуллина, Л. И., Ли, Н. И., Гарипов, Р. М., Миннахметова, А. К. (2019). Биоразложение полимерных пленочных материалов (обзор). *Вестник технологического университета*, 22(1), 47–53.

24. Van den Oever, M., Molenveld, K. (2017). Replacing fossil based plastic performance products by bio-based plastic products — Technical feasibility. *New Biotechnology*, 37, 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.07.007>
25. Iles, A., Martin, A. N. (2013). Expanding bioplastics production: sustainable business innovation in the chemical industry. *Journal of Cleaner Production*, 45, 38–49. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.05.008>
26. Van Der Zee, M. (2020). Methods for evaluating the biodegradability of environmentally degradable polymers. Chapter in a book: Handbook of biodegradable polymers. Smither Rapra, Shawbury, 2020. <https://doi.org/10.1515/9781501511967-001>
27. United Nations Sustainable Development. (2020). Take Action for the Sustainable Development Goals — United Nations Sustainable Development. Retrieved from <https://www.un.org/sustainabledevelopment/sustainable-development-goals>. Accessed: May 11, 2022.
28. Лоонг-Так, Л. (2011). Биоразлагаемая упаковка для пищевых продуктов. *Переработка молока*, 6(140), 61–67.
29. Kirsh, I., Frolova, Y., Bannikova, O., Beznaeva, O., Tveritnikova, I., Myalenko, D. et al. (2020). Research of the influence of the ultrasonic treatment on the melts of the polymeric compositions for the creation of packaging materials with antimicrobial properties and biodegradability. *Polymers*, 12(2), Article 275. <https://doi.org/10.3390/polym12020275>
30. Прудникова, С. В., Волова, Т. Г. (2012). Экологическая роль полигидроксикапаоатов-аналога синтетических пластмасс: закономерности биоразрушения в природной среде и взаимодействия с микроорганизмами. Красноярск: Красноярский писатель, 2012.
31. Радаева, И. А., Илларионова, Е. Е., Туровская, С. Н., Рябова, А. Е., Галстян, А. Г. (2019). Принципы обеспечения качества отечественного сухого молока. *Пищевая промышленность*, 9, 54–57. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10145>
32. Илларионова, Е. Е., Туровская, С. Н., Радаева, И. А. (2020). К вопросу увеличения срока годности молочных консервов. *Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством*, 1(1), 225–230. <https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-225-230>
33. Хуршудян, С. А., Пряничникова, Н. С., Рябова, А. Е. (2022). Качество и безопасность пищевых продуктов. Трансформация понятий. *Пищевая промышленность*, 3, 8–10. <https://doi.org/10.52653/PP1.2022.3.3.001>
34. Федотова, О. Б. (2008). Упаковка для молока и молочных продуктов. Качество и безопасность. Москва: Россельхозакадемия.
35. Юрова, Е. А. (2020). Контроль качества и безопасности продуктов функциональной направленности на молочной основе. *Молочная промышленность*, 6, 12–15. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-06-12-15>
36. Юрова, Е. А., Фильчакова, С. А. (2019). Оценка качества и хранимостепособности молочных продуктов функциональной направленности. *Переработка молока*, 10(240), 6–11. <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2019-10-6-10>
37. Кобзева, Т. В., Юрова, Е. А. (2016). Оценка показателей качества и идентификационных характеристик сухого молока. *Молочная промышленность*, 3, 32–35.
38. Мухатова, М. Д., Сколков, С. А., Моисеенко, М. С., Киричко, Н. А. (2018). Пищевая биоразлагаемая пленка с использованием хитозана. *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: рыбное хозяйство*, 3, 124–131. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2018-3-124-131>
39. Пряничникова, Н. С. (2020). Защитные покрытия для пищевых продуктов, В сборнике: Современные достижения биотехнологии. Техника, технологии и упаковка для реализации инновационных проектов на предприятиях пищевой и биотехнологической промышленности. материалы VII Международной научно-практической конференции. Пятигорск, 2020.
40. Федотова, О. Б., Пряничникова, Н. С. (2021). Исследование изменения структуры полиэтиленового слоя упаковки, контактирующего с пищевым продуктом, при воздействии ультрафиолетового излучения. *Пищевые системы*, 4(1), 56–61. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-56-61>
41. Пряничникова, Н. С., Федотова, О. Б. (21 октября, 2020). Использование приемов квалитетического проектирования при создании функциональных покрытий на продуктах питания. Сборник тезисов Всероссийской с международным участием онлайн-конференции: «Современная биотехнология: актуальные вопросы, инновации и достижения». Кемерово, 2020.
42. Кубенко, Е. Г. (2014). Разработка технологии получения хитозана из гаммаруса азовского и его использование при производстве растительно-рыбных пищевых продуктов. Автореф. дис. канд. техн. наук. Краснодар: Кубанский государственный технический университет, 2014.
43. Angellier, H., Molina-Boisseau, S., Dole, P., Dufresne, A. (2006). Thermoplastic starch — waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. *Biomacromolecules*, 7(2), 531–539. <https://doi.org/10.1021/bm050797s>
44. Ratnayake, W. S., Hoover, R., Shahidi, F., Perera, C., Jane, J. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 74(2), 189–202. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00124-8)
45. Федотова, О. Б. (2020). О биоразлагаемой упаковке и перспективе ее использования. *Молочная промышленность*, 1, 10–12. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-01-10-12>
46. Pryanichnikova, N., Fedotova, O. (November 18–20, 2021). Some aspects of creating functional coatings on dairy products. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk, Russia. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032031>
47. Пряничникова, Н. С. (2020) Съедобная упаковка: транспорт для функциональных и биоактивных соединений. *Молочная река*, 4(80), 32–34.
48. Klemm, D., Schmauder, H. P., Heinze, T. (2001). Cellulose. Chapter in a book: Biopolymers, 6. Wiley-VCH, Weinheim, 2001.
49. Gelse, K., Pöschl, E., Aigner, T. (2003). Collagens — Structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12), 1531–1546. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>
50. Yoshioka, N. K., Young, G. M., Khajuria, D. K., Karuppagounder, V., Pinamont, W., Fanburg-Smith, J. C. et al. (2022). Structural changes in the collagen network of joint tissues in late stages of murine OA. *Scientific Reports*, 12(1), Article 9159. <https://doi.org/10.1016/10.1038/s41598-022-13062-y>
51. Singla, R., Mehta, R. (2012). Preparation and characterization of polylactic acid-based biodegradable blends processed under microwave radiation. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 51(10), 1014–1017. <https://doi.org/10.1080/03602559.2012.680562>
52. Briassoulis, D. (2004). An overview on the mechanical behaviour of biodegradable agricultural films. *Journal of Polymers and the Environment*, 12(2), 65–81. <https://doi.org/10.1023/B: JOOE.0000010052.86786.ef>
53. Kale, G., Auras, R., Singh, S. P. (2006). Degradation of commercial biodegradable packages under real composting and ambient exposure conditions. *Journal of Polymers and the Environment*, 14(3), 317–334. <https://doi.org/10.1007/s10924-006-0015-6>
54. Wikipedia (2021) Полилактид. Электронный ресурс: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Полилактид>. Дата доступа: 01.08.2022.
55. Tsuji, H., Ishizaka, T. (2001). Blends of aliphatic polyesters. VI. Lipase-catalyzed hydrolysis and visualized phase structure of biodegradable blends from poly (ϵ -caprolactone) and poly (l-lactide). *International Journal of Biological Macromolecules*, 29(2), 83–89. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(01\)00158-1](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(01)00158-1)
56. Woodruff, M. A., Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer — Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 35(10), 1217–1256. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002>
57. Sailema-Palate, G. P., Vidaurre, A., Campillo, A. F., Castilla-Cortázar, I. (2016). A comparative study on Poly (ϵ -caprolactone) film degradation at extreme pH values. *Polymer Degradation and Stability*, 130, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.polydegradstab.2016.06.005>
58. Malinová, L., Brožek, J. (2014). Ethyl magnesium bromide as an efficient anionic initiator for controlled polymerization of ϵ -caprolactone. *Polymer Bulletin*, 71(1), 111–123. <https://doi.org/10.1007/s00289-013-1048-3>
59. Limwanich, W., Meepowpan, P., Nalampang, K., Kungwan, N., Molloy, R., Punyodom, W. (2015). Kinetics and thermodynamics analysis for ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone initiated by tributyltin n-butoxide using differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 119(1), 567–579. <https://doi.org/10.1007/S10973-014-4111-x>
60. Kricheldorf, H. R., Berl, M., Scharnag, N. (1988). Poly (lactones). 9. Polymerization mechanism of metal alkoxide initiated polymerizations of lactide and various lactones. *Macromolecules*, 21(2), 286–293. <https://doi.org/10.1021/ma00180a002>
61. Storey, R. F., Sherman, J. W. (2002). Kinetics and mechanism of the stannous octoate-catalyzed bulk polymerization of ϵ -caprolactone. *Macromolecules*, 35(5), 1504–1512. <https://doi.org/10.1021/ma010986c>
62. Agarwal, S. (2010). Chemistry, chances and limitations of the radical ring-opening polymerization of cyclic ketene acetals for the synthesis of degradable polyesters. *Polymer Chemistry*, 1(7), 953–964. <https://doi.org/10.1039/c0py00040j>
63. Labet, M., Thielemans, W. (2009). Synthesis of polycaprolactone: A review. *Chemical Society Reviews*, 38(12), 3484–3504. <https://doi.org/10.1039/b820162p>
64. Sarasam, A. R., Krishnaswamy, R. K., Madhally, S. V. (2006). Blending chitosan with polycaprolactone: Effects on physicochemical and antibacterial properties. *Biomacromolecules*, 7(4), 1131–1138. <https://doi.org/10.1021/bm050935d>
65. Wang, X., Zhou, J., Li, L. (2007). Multiple melting behavior of poly (butylene succinate). *European Polymer Journal*, 43(8), 3163–3170. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.05.013>
66. Tserki, V., Matzinos, P., Pavlidou, E., Vachliotis, D., Panayiotou, C. (2006). Biodegradable aliphatic polyesters. Part I. Properties and biodegradation of poly (butylene succinate-co-butylene adipate). *Polymer Degradation and Stability*, 91(2), 367–376. <https://doi.org/10.1016/j.polydegradstab.2005.04.035>
67. Nikolic, M. S., Djonlagic, J. (2001). Synthesis and characterization of biodegradable poly (butylene succinate-co-butylene adipate) s. *Polymer Degradation and Stability*, 74(2), 263–270. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(01\)00156-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(01)00156-2)
68. Wikipedia (2020). Polybutylene succinate. Retrieved from https://wiki5.ru/wiki/Polybutylene_succinate. Accessed: August 01, 2022.
69. Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Rosa, M. D. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 19(12), 634–643. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.07.003>

70. Pedersen, D.D., Kim, S., Wagner, W.R. (2022). Biodegradable polyurethane scaffolds in regenerative medicine: Clinical translation review. *Journal of Biomedical Materials Research — Part A*, 110(8), 1460–1487. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37394>
71. Javadi, A., Kramschuster, A.J., Pilla, S., Lee, J., Gong, S., Turng, L.-S. (2010). Processing and characterization of microcellular PHBV/PBAT blends. *Polymer Engineering and Science*, 50(7), Article 1440. <https://doi.org/10.1002/pen.21661>
72. Zumstein, M. T., Schintlmeister, A., Nelson, T. F., Baumgartner, R., Woebken, D., Wagner, M. et al. (2018). Biodegradation of synthetic polymers in soils: Tracking carbon into CO₂ and microbial biomass. *Science Advances*, 4(7), Article eaas9024. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aas9024>
73. Muthuraj, R., Misra, M., Mohanty, A. K. (2018). Biodegradable compatibilized polymer blends for packaging applications: A literature review. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(24), Article 45726. <https://doi.org/10.1002/app.45726>
74. Merchan, N., Aslim, B., Yüsekdağ, Z. N., Beyatli, Y. (2002). Production of poly-b-hydroxybutyrate (PHB) by some Rhizobium bacteria. *Turkish Journal of Biology*, 26(4), 215–219.
75. Min Song, H., Chan Joo, J., Hyun Lim, S., Jin Lim, H., Lee, S., Jae Park, S. (2022) Production of polyhydroxyalkanoates containing monomers conferring amorphous and elastomeric properties from renewable resources: Current status and future perspectives. *Bioresource Technology*, 366, Article 128114. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128114>
76. Fabra, M. J., Lopez-Rubio, A., Lagaron, J. M. (2014). Nanostructured interlayers of zein to improve the barrier properties of high barrier polyhydroxyalkanoates and other polyesters. *Journal of Food Engineering*, 127, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.022>
77. Savenkova, L., Gercberga, Z., Nikolaeva, V., Dzene, A., Bibers, I., Kalnin, M. (2000). Mechanical properties and biodegradation characteristics of PHB-based films. *Process Biochemistry*, 35(6), 573–579. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00107-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00107-7)
78. Kim, M.-N., Lee, A.-R., Yoon, J.-S., Chin, I.-J. (2000). Biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate), Sky-Green and Mater-Bi by fungi isolated from soils. *European Polymer Journal*, 36(8), 1677–1685. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(99\)00219-0](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(99)00219-0)
79. Выдрин, Т. С., Артёмов, А. В., Шкуро, А. Е., Кривоногов, П. С., Савиновских, А. В. (2020). Свойства древесно-полимерных композитов на основе аграрных отходов и активатора разложения. *Вестник Технологического университета*, 23(10), 25–29.
80. Vijayakumar, C. T., Chitra, R., Surender, R., Pitchaimari, G., Rajakumar, K. (2013). Development of photodegradable environment friendly polypropylene films. *Plastic and Polymer Technology*, 2(1), 22–37.
81. Directive (EU) 2019/904 (2019) of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 on the reduction of the impact of certain plastic products on the environment (Text with EEA relevance) // PE/11/2019/REV/1, OJ L 155, 12.6.2019, 1–19.
82. Анисков Е. (2021). Европа запретила одноразовый пластик: чего ждать в России. Электронный ресурс: <https://trends.rbc.ru/trends/green/60e829f79a794766ad12a657>. Дата доступа: 01.08.2022.
83. Ромашков, А. (2021). Россия без пластика: названы сроки полного запрета одноразовых изделий. Электронный ресурс: <https://www.bfm.ru/news/480489> Дата доступа: 01.08.2022. (In Russian)

REFERENCE

1. Boyko, A. G. (2014). RosUpack — 2014. Trends in the Russian market of flexible packaging materials. Retrieved from <https://plastinfo.ru/information/articles/473>. Accessed: August 1, 2022. (In Russian)
2. RUSTARA.RU (2015). History of plastic containers Retrieved from: <https://www.rustara.ru/articles/Istoriya-plastikovo-j-tary>. Accessed: August 1, 2022. (In Russian)
3. Beloborodova T. G. (February 09, 2017). *Actual directions of processing secondary polymeric materials into products*. Problems and prospects for the development of science and education. XXI century Proceedings of the International (correspondence) scientific and practical conference. Sofia, Bulgaria, 2017. (In Russian)
4. Decision of the Council of the Eurasian economic Commission of August 16, 2011 № 769 “On amendments to the technical regulations of the Customs Union “On the safety of packaging” (TR CU005/2011)” (as amended on October 18, 2016). Moscow, 2011. (In Russian)
5. Bioplastics Europe. (2018). Global production capacities of bioplastics 2018–2023 Retrieved from <http://www.european-bioplastics.org/news/publications> Accessed: August 1, 2022.
6. Lebreton, L., Andrady, A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 1(5), Article 6. <https://doi.org/10.1057/s41599-018-0212-7>
7. Plyaskina, N. I., Kharitonova, V. N. (2016). Management in the field of solid municipal waste management: current state. *EKO*, 12, 7–21. (In Russian)
8. REO (2021). REO summed up the results of the year. Retrieved from <https://reo.ru/tpost/o5xr9caev1-reo-podvel-itogi-goda> Accessed: August 01, 2022. (In Russian)
9. Market data Archives Plastics Europe (2022). Quarterly Report Q1/2022 European plastics manufacturers (EU27) Retrieved from <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/quarterly-report-q1-2022>. Accessed: August 01, 2022.
10. Dubrovin, N. N., Kondrat'yev, D. A., Nefedova, T. O. (December 27, 2021) *International experience in stimulating the separate collection of household waste*. Theories, schools and concepts of sustainable development of science in modern conditions. International Scientific and Practical Conference. Ufa: OMEGA SCIENCE, 2021. (In Russian)
11. Ray, S. S., Lee, H. K., Huyen, D. T. T., Chen, S.-S., Kwon, Y.-N. (2022). Microplastics waste in environment: A perspective on recycling issues from PPE kits and face masks during the COVID-19 pandemic. *Environmental Technology and Innovation*, 26, Article 102290. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102290>
12. Prata, J. C., Silva, A. L. P., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T. (2021). Disposable over reusable face masks: Public safety or environmental disaster? *Environments-MDPI*, 8(4), Article 31. <https://doi.org/10.3390/environments8040031>
13. Kvasninin, A. B. (2021). Features of the disposal of personal protective equipment in the conditions of the spread of COVID-19. *Innovative Science*, 10–2, 22–25. (In Russian)
14. Panfilov, B. V. (2019). World market of biopolymers. *Polymeric Materials. Products, Equipment, Technologies*, 7, 53. (In Russian)
15. Hobbs, C. E. (2019). Recent advances in bio-based flame retardant additives for synthetic polymeric materials. *Polymers*, 11(2), Article 224. <https://doi.org/10.3390/polym11020224>
16. Maraveas, C. (2020). Production of sustainable and biodegradable polymers from agricultural waste. *Polymers*, 12(5), Article 1127. <https://doi.org/10.3390/polym12051127>
17. Qu, H., Fu, H., Han, Z., Sun, Y. (2019). Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: A review. *RSC Advances*, 9(45), 26252–26262. <https://doi.org/10.1039/c9ra05214c>
18. Mochane, M. J., Motsoeneng, T. S., Sadiku, E. R., Mokheba, T. C., Sefadi, J. S. (2019). Morphology and properties of electrospun PCL and its composites for medical applications: A mini review. *Applied Sciences (Switzerland)*, 9(11), Article 2205. <https://doi.org/10.3390/app9112205>
19. Zabihzadeh Khajavi, M., Ebrahimi, A., Yousefi, M., Ahmadi, S., Farhoodi, M., Mirza Alizadeh, A. et al. (2020). Strategies for producing improved oxygen barrier materials appropriate for the food packaging sector. *Food Engineering Reviews*, 12(3), 346–363 <https://doi.org/10.1007/s12593-020-09235-y>
20. Quecholac-Piña, X., Hernández-Berriel, M. C., Mañón-Salas, M. C., Espinosa-Valdemar, R. M., Vázquez-Morillas, A. (2020). Degradation of plastics under anaerobic conditions: A short review. *Polymers*, 12(1), Article 109. <https://doi.org/10.3390/polym12010109>
21. Reichert, C. L., Bugnicourt, E., Coltell, M.-B., Cinelli, P., Lazzeri, A., Camesi, I. et al. (2020). Bio-based packaging: Materials, modifications, industrial applications and sustainability. *Polymers*, 12(7), Article 1558. <https://doi.org/10.3390/polym12071558>
22. Jian, J., Xiangbin, Z., Xianbo, H. (2020). An overview on synthesis, properties and applications of poly (butylene-adipate-co-terephthalate)-PBAT. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3(1), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2020.01.001>
23. Garifullina, L. I., Li, N. I., Garipov, R. M., Minnakmetova, A. K. (2019). Biodegradation of polymer film materials (Review). *Herald of Technological University*, 22(1), 47–53. (In Russian)
24. Van den Oever, M., Molenveld, K. (2017). Replacing fossil based plastic performance products by bio-based plastic products — Technical feasibility. *New Biotechnology*, 37, 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.07.007>
25. Iles, A., Martin, A. N. (2013). Expanding bioplastics production: sustainable business innovation in the chemical industry. *Journal of Cleaner Production*, 45, 38–49. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.05.008>
26. Van Der Zee, M. (2020). Methods for evaluating the biodegradability of environmentally degradable polymers. Chapter in a book: Handbook of biodegradable polymers. Smither Rapra, Shawbury, 2020. <https://doi.org/10.1515/9781501511967-001>
27. United Nations Sustainable Development. (2020). Take Action for the Sustainable Development Goals — United Nations Sustainable Development. Retrieved from <https://www.un.org/sustainabledevelopment/sustainable-development-goals>. Accessed: May 11, 2022.
28. Loong-So, L. (2011). Biodegradable food packaging *Milk processing*. 6(140), 61–67. (In Russian)
29. Kirsh, I., Frolova, Y., Bannikova, O., Beznaeva, O., Tveritnikova, I., Myalenko, D. et al. (2020). Research of the influence of the ultrasonic treatment on the melts of the polymeric compositions for the creation of packaging materials with antimicrobial properties and biodegradability. *Polymers*, 12(2), Article 275. <https://doi.org/10.3390/polym12020275>
30. Prudnikova, S. V., Volova, T. G. (2012). Ecological role of polyhydroxyalkanoates — analogue of synthetic plastics: patterns of biodegradation in the natural environment and interaction with microorganisms. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk writer, 2012.
31. Radaeva, I. A., Ilarionova, E. E., Turovskaya, S. N., Ryabova, A. E., Galstyan, A. G. (2019). Principles of domestic dry milk quality assurance. *Food Industry*, 9, 54–57. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10145>. (In Russian)

32. Illarionova, E. E., Turovskaya, S. N., Radaeva, I. A. (2020). To the question of increasing of canned milk storage life. *Relevant Issues of the Dairy Industry, Intersectoral Technologies, and Quality Management Systems*, 1(1), 225–230. <https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-225-230> (In Russian)
33. Harshudyan, S. A., Pryanichnikova, N. S., Ryabova, A. E. (2022). Food quality and safety. Transformation of concepts. *Food Industry*, 3, 8–10. <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.3.3.001> (In Russian)
34. Fedotova, O. B. (2008). Packaging for milk and dairy products. Quality and safety. Moscow: Russian Agricultural Academy, 2008. (In Russian)
35. Yurova, E. A. (2020). Quality control and safety of milk-based functional products. *Dairy Industry*, 6, 12–15. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-06-12-15> (In Russian)
36. Yurova, E. A., Filchakov, S. A. (2019). Evaluation of the quality and storage capacity of functional dairy products. *Milk Processing*, 10(240), 6–11. <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2019-10-6-10>. (In Russian)
37. Kobzeva, T. V., Yurova, E. A. (2016). Evaluation of quality indicators and identification characteristics of milk powder. *Dairy Industry*, 3, 32–35. (In Russian)
38. Mukatova, M. D., Skolkov, S. A., Moiseenko, M. S., Kirichko, N. A. (2018). Food biodegradable film containing chitosan. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*, 3, 124–131. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2018-3-124-131> (In Russian)
39. Pryanichnikova, N. S. (2020). *Protective coatings for food products*. In the collection: Modern achievements of biotechnology. Equipment, technologies and packaging for the implementation of innovative projects at the enterprises of the food and biotechnological industry. materials of the VII International Scientific and Practical Conference. Pyatigorsk, 2020. (In Russian)
40. Fedotova, O. B., Pryanichnikova, N. S. (2021). Research of the polyethylene packaging layer structure change in contact with a food product at exposure to ultraviolet radiation. *Food Systems*, 4(1), 56–61. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-56-61> (In Russian)
41. Pryanichnikova, N. S., Fedotova, O. B. (October 21, 2020). *Using qualimetric design techniques to create functional coatings on food product*. Collection of abstracts of the All-Russian online conference with international participation: Modern biotechnology: topical issues, innovations and achievements, Keverovo, 2020. (In Russian)
42. Kubenko, E. G. (2014). Development of technology for obtaining chitosan from Gammarus of Azov and its use in the production of vegetable and fish food products. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Technical Sciences. Krasnodar: Kuban State Technical University, 2014. (In Russian)
43. Angellier, H., Molina-Boisseau, S., Dole, P., Dufresne, A. (2006). Thermoplastic starch – waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. *Biomacromolecules*, 7(2), 531–539. <https://doi.org/10.1021/bm050797s>
44. Ratnayake, W. S., Hoover, R., Shahidi, F., Perera, C., Jane, J. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 74(2), 189–202. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00124-8)
45. Fedotova, O. B. (2020). About biodegradable package and possibilities of its application. *Dairy Industry*, 1, 10–12. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-01-10-12> (In Russian)
46. Pryanichnikova, N., Fedotova, O. (November 18–20, 2020). *Some aspects of creating functional coatings on dairy products*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk, Russia. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032031>
47. Pryanichnikova, N. S. (2020). Edible packaging: transport for functional and bioactive compounds. *Milk River*, 4(80), 32–34. (In Russian)
48. Klemm, D., Schmauder, H. P., Heinze, T. (2001). Cellulose. Chapter in a book: Biopolymers, 6. Wiley-VCH, Weinheim, 2001.
49. Gelse, K., Pöschl, E., Aigner, T. (2003). Collagens – Structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12), 1531–1546. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>
50. Yoshioka, N. K., Young, G. M., Khajuria, D. K., Karuppagounder, V., Pina-mont, W., Fanburg-Smith, J. C. et al. (2022). Structural changes in the collagen network of joint tissues in late stages of murine OA. *Scientific Reports*, 12(1), Article 9159. <https://doi.org/10.1016/10.1038/s41598-022-13062-y>
51. Singla, R., Mehta, R. (2012). Preparation and characterization of polylactic acid-based biodegradable blends processed under microwave radiation. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 51(10), 1014–1017. <https://doi.org/10.1080/03602559.2012.680562>
52. Briassoulis, D. (2004). An overview on the mechanical behaviour of biodegradable agricultural films. *Journal of Polymers and the Environment*, 12(2), 65–81. <https://doi.org/10.1023/B:JOEE.0000010052.86786.ef>
53. Kale, G., Auras, R., Singh, S. P. (2006). Degradation of commercial biodegradable packages under real composting and ambient exposure conditions. *Journal of Polymers and the Environment*, 14(3), 317–334. <https://doi.org/10.1007/s10924-006-0015-6>
54. Wikipedia (2021). Polylactide. Retrieved from <https://ru.wikipedia.org/wiki/Полилактид>. Accessed: August 01, 2022. (In Russian)
55. Tsuji, H., Ishizaka, T. (2001). Blends of aliphatic polyesters. VI. Lipase-catalyzed hydrolysis and visualized phase structure of biodegradable blends from poly(ϵ -caprolactone) and poly(L-lactide). *International Journal of Biological Macromolecules*, 29(2), 83–89. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(01\)00158-1](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(01)00158-1)
56. Woodruff, M. A., Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer – Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 35(10), 1217–1256. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002>
57. Sailema-Palate, G. P., Vidaurre, A., Campillo, A. F., Castilla-Cortázar, I. (2016). A comparative study on Poly(ϵ -caprolactone) film degradation at extreme pH values. *Polymer Degradation and Stability*, 130, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.06.005>
58. Malinová, L., Brožek, J. (2014). Ethyl magnesium bromide as an efficient anionic initiator for controlled polymerization of ϵ -caprolactone. *Polymer Bulletin*, 71(1), 111–123. <https://doi.org/10.1007/s00289-013-1048-3>
59. Limwanich, W., Meepowpan, P., Nalampang, K., Kungwan, N., Molloy, R., Punyodom, W. (2015). Kinetics and thermodynamics analysis for ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone initiated by tributyltin n-butoxide using differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 119(1), 567–579. <https://doi.org/10.1007/S10973-014-4111-x>
60. Kricheldorf, H. R., Berl, M., Scharnagl, N. (1988). Poly (lactones). 9. Polymerization mechanism of metal alkoxide initiated polymerizations of lactide and various lactones. *Macromolecules*, 21(2), 286–293. <https://doi.org/10.1021/ma00180a002>
61. Storey, R. F., Sherman, J. W. (2002). Kinetics and mechanism of the stannous octoate-catalyzed bulk polymerization of ϵ -caprolactone. *Macromolecules*, 35(5), 1504–1512. <https://doi.org/10.1021/ma010986c>
62. Agarwal, S. (2010). Chemistry, chances and limitations of the radical ring-opening polymerization of cyclic ketene acetals for the synthesis of degradable polyesters. *Polymer Chemistry*, 1(7), 953–964. <https://doi.org/10.1039/c0py00040j>
63. Labet, M., Thielemans, W. (2009). Synthesis of polycaprolactone: A review. *Chemical Society Reviews*, 38(12), 3484–3504. <https://doi.org/10.1039/b820162p>
64. Sarasam, A. R., Krishnaswamy, R. K., Madihally, S. V. (2006). Blending chitosan with polycaprolactone: Effects on physicochemical and antibacterial properties. *Biomacromolecules*, 7(4), 1131–1138. <https://doi.org/10.1021/bm050935d>
65. Wang, X., Zhou, J., Li, L. (2007). Multiple melting behavior of poly (butylene succinate). *European Polymer Journal*, 43(8), 3163–3170. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.05.013>
66. Tserki, V., Matzinos, P., Pavlidou, E., Vachliotis, D., Panayiotou, C. (2006). Biodegradable aliphatic polyesters. Part I. Properties and biodegradation of poly (butylene succinate-co-butylene adipate). *Polymer Degradation and Stability*, 91(2), 367–376. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.04.035>
67. Nikolic, M. S., Djonlagic, J. (2001). Synthesis and characterization of biodegradable poly (butylene succinate-co-butylene adipate) s. *Polymer Degradation and Stability*, 74(2), 263–270. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(01\)00156-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(01)00156-2)
68. Wikipedia (2020) Polybutylene succinate. Retrieved from https://wiki5.ru/wiki/Polybutylene_succinate. Accessed: August 01, 2022.
69. Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Rosa, M. D. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 19(12), 634–643. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.07.003>
70. Pedersen, D. D., Kim, S., Wagner, W. R. (2022). Biodegradable polyurethane scaffolds in regenerative medicine: Clinical translation review. *Journal of Biomedical Materials Research – Part A*, 110(8), 1460–1487. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37394>
71. Javadi, A., Kramschuster, A. J., Pilla, S., Lee, J., Gong, S., Turng, L.-S. (2010). Processing and characterization of microcellular PHBV/PBAT blends. *Polymer Engineering and Science*, 50(7), Article 1440. <https://doi.org/10.1002/pen.21661>
72. Zumstein, M. T., Schintmeister, A., Nelson, T. F., Baumgartner, R., Woebken, D., Wagner, M. et al. (2018). Biodegradation of synthetic polymers in soils: Tracking carbon into CO₂ and microbial biomass. *Science Advances*, 4(7), Article eaas9024. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aas9024>
73. Muthuraj, R., Misra, M., Mohanty, A. K. (2018). Biodegradable compatibilized polymer blends for packaging applications: A literature review. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(24), Article 45726. <https://doi.org/10.1002/app.45726>
74. Merchan, N., Aslim, B., Yükekdağ, Z. N., Beyatli, Y. (2002). Production of poly-b-hydroxybutyrate (PHB) by some Rhizobium bacteria. *Turkish Journal of Biology*, 26(4), 215–219.
75. Min Song, H., Chan Joo, J., Hyun Lim, S., Jin Lim, H., Lee, S., Jae Park, S. (2022) Production of polyhydroxyalkanoates containing monomers conferring amorphous and elastomeric properties from renewable resources: Current status and future perspectives. *Bioresource Technology*, 366, Article 128114. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128114>
76. Fabra, M. J., Lopez-Rubio, A., Lagaron, J. M. (2014). Nanostructured interlayers of zein to improve the barrier properties of high barrier polyhydroxyalkanoates and other polyesters. *Journal of Food Engineering*, 127, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.022>
77. Savenkova, L., Gercberga, Z., Nikolaeva, V., Dzene, A., Bibers, I., Kalnin, M. (2000). Mechanical properties and biodegradation characteristics of PHB-based films. *Process Biochemistry*, 35(6), 573–579. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00107-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00107-7)
78. Kim, M.-N., Lee, A.-R., Yoon, J.-S., Chin, I.-J. (2000). Biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate), Sky-Green and Mater-Bi by fungi isolated from soils. *European Polymer Journal*, 36(8), 1677–1685. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(99\)00219-0](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(99)00219-0)

79. Vydrina, T. S., Shkuro, A. Ye., Artemov, A. V., Krivonogov P. S., Savinovskikh, A. V. Properties of wood-polymer composites based on agricultural waste and decomposition activator. *Herald of the Technological University*, 23(10), 25–29. (In Russian)
80. Vijayakumar, C. T., Chitra, R., Surender, R., Pitchaimari, G., Rajakumar, K. (2013). Development of photodegradable environment friendly polypropylene films. *Plastic and Polymer Technology*, 2(1), 22–37.
81. Directive (EU) 2019/904 (2019) of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 on the reduction of the impact of certain plastic products on the environment (Text with EEA relevance) // PE/11/2019/REV/1, OJ L 155, 12.6.2019, 1–19.
82. Aniskov, E. (2021). Europe has banned single-use plastic: what to expect in Russia. Retrieved from: <https://trends.rbc.ru/trends/green/60e829f79a794766ad12a657> Accessed: August 01, 2022. (In Russian)
83. Romashkov, A. (2021). Russia without plastic: terms for a complete ban on disposable products announced. Retrieved from: <https://www.bfm.ru/news/480489> Accessed: August 01, 2022. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Мяленко Дмитрий Михайлович — кандидат технических наук, заведующий сектором упаковки, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, Люсиновская, 35/7 Тел.: +7–916–854–18–24 E-mail: d_myalenko@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6342-7218	Dmitry M. Myalenko, Candidate of Technical Sciences, Head of Packaging Sector, All-Russian Research Institute of Dairy Industry 35/7, Lucinovskaya str., Moscow, Russia Tel.: +7–916–854–18–24 E-mail: d_myalenko@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6342-7218
Критерии авторства	Contribution
Автор имеет единоличное отношение к написанию рукописи и несет ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.	The author declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-22-28>

Поступила 17.11.2022

Поступила после рецензирования 09.01.2023

Принята в печать 16.01.2023

© Витол И. С., Мелешкина Е. П., Панкратов Г. Н., 2023

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

Научная статья

Open access

ОТРУБИ ИЗ КОМПОЗИТНОЙ ЗЕРНОСМЕСИ КАК ОБЪЕКТ ГЛУБОКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ. ЧАСТЬ 2. УГЛЕВОДНО-АМИЛАЗНЫЙ И ЛИПИДНЫЙ КОМПЛЕКСЫ

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,
углеводно-амилазный
и липидный комплексы

АННОТАЦИЯ

Поликомпонентные отруби, полученные при совместном размоле зерносмеси из зерновых (пшеница), бобовых (чечевица) и масличных (лен) культур, следует рассматривать как ценное вторичное сырье, использование которого для глубокой переработки позволит получать различные пищевые и кормовые ингредиенты. Оценка углеводно-амилазного и липидного комплексов трех вариантов поликомпонентных отрубей показала, что соотношение амилозы и амилопектина в крахмале трехкомпонентных отрубей практически одинаково, однако в чечевично-льняных отрубях доля амилозы в 1,6 раза выше, чем в первых двух вариантах. Удельная активность амилаз трехкомпонентных отрубей примерно в 2 раза выше, чем в чечевично-льняных отрубях. Кроме того, последние характеризуются более высоким содержанием восстанавливающих сахаров и клетчатки. Молекулярная масса амилаз, выделенных из трехкомпонентных отрубей, по данным гель-хроматографии составила: α -амилаза — 40 000 Да; β -амилаза — 60 000 Да. Установлено, что добавление семян льна в помольную смесь значительно увеличивает содержание жира в отрубях 6,4; 6,0 и 12,9%. Жирнокислотный состав исследуемых отрубей характеризуется преобладанием ненасыщенных жирных кислот. При этом соотношение эссенциальных кислот — линолевой кислоты (ω -6) к α -линоленовой кислоте (ω -3) в пользу наиболее дефицитной α -линоленовой кислоты — было характерно для чечевично-льняных отрубей и составило 1:4,2. Активность щелочных липаз, проявляющих свое действие при pH 8,0 (преимущественно зерновые липазы), и кислых липаз (преимущественно липазы масличных культур) с оптимумом действия при pH 4,7 в образцах трехкомпонентных отрубей примерно одинаковая, а чечевично-льняные отруби характеризуются высокой удельной активностью кислой липазы, которая примерно в 4,2 раза превосходит активность кислых липаз трехкомпонентных отрубей. Полученные данные, наряду с данными по особенностям белково-протеиназного комплекса исследуемых видов отрубей, будут использованы при разработке способов ферментативной модификации (глубокая переработка) и при получении компонентов для создания новых пищевых продуктов с повышенной пищевой и биологической ценностью.

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 17.11.2022

Accepted in revised 09.01.2023

Accepted for publication 16.01.2023

© Vitol I. S., Meleshkina E. P., Pankratov G. N., 2023

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 2. CARBOHYDRATE-AMYLASE AND LIPID COMPLEXES

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, polycomponent
bran, carbohydrate-amylase and
lipid complexes

ABSTRACT

Polycomponent bran obtained by joint grinding of a grain mixture from cereals (wheat), legumes (lentils) and oilseeds (flax) should be considered as a valuable secondary raw material, the use of which for deep processing will make it possible to obtain various food and feed ingredients. An assessment of the carbohydrate-amylase and lipid complexes of the three variants of multicomponent bran showed that the ratio of amylose and amylopectin in the starch of three-component bran is almost the same, however, in lentil-flax bran, the proportion of amylose is 1.6 times higher than in the first two variants. The specific activity of amylases in three-component bran is about 2 times higher than in lentil-flax bran. In addition, the latter are characterized by a higher content of reducing sugars and fiber. The molecular weight of amylases isolated from three-component bran, according to gel chromatography, was: α -amylase — 40,000 Da; β -amylase — 60,000 Da. It has been established that the addition of flax seeds to the grinding mixture significantly increases the fat content in bran 6.4; 6.0 and 12.9%. The fatty acid composition of the studied bristles is characterized by the predominance of unsaturated fatty acids. At the same time, the ratio of essential acids — linoleic acid (ω -6) to α -linolenic acid (ω -3) in favor of the most deficient α -linolenic acid — was typical for lentil-flax bran and amounted to 1:4.2. The activity of alkaline lipases, which exhibit their effect at pH 8.0 (mainly cereal lipases), and acid lipases (mainly oilseed lipases) with an optimum of

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Панкратов, Г. Н. (2023). Отруби из композитной зерносмеси как объект глубокой переработки. Часть 2. Углеводно-амилазный и липидный комплексы. *Пищевые системы*, 6(1), 22-28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-22-28>

FOR CITATION: Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N., (2023). Bran from composite grain mixture as an object of deep processing. Part 2. Carbohydrate-amylase and lipid complexes. *Food Systems*, 6(1), 22-28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-22-28>

action at pH 4.7 in three-component bran samples are approximately the same, and lentil-flax bran is characterized by a high specific acid lipase activity, which is approximately 4.2 times higher than the activity of acid lipases of three-component bran. The data obtained, along with data on the characteristics of the protein-proteinase complex of the studied types of bran, will be used in the development of methods for enzymatic modification (deep processing) and in the preparation of components for the creation of new food products with increased nutritional and biological value.

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

Глубокая переработка растительного сырья, в первую очередь зерновых, бобовых и масличных культур, активно развивается [1–3] и позволяет не просто использовать все компоненты зерна и побочных продуктов его переработки, но и получать широкий спектр продуктов с высокой добавленной стоимостью [4–7].

С этой целью из зерна выделяют отдельные фракции белковых веществ, например, клейковину, концентраты и изоляты белка; крахмал (фракции А, В, С) [1,6]; растворимые и нерастворимые пищевые волокна [8,9]; другие компоненты [10,11]. Получение гидролизатов и структурно-модифицированных продуктов переработки зерна с использованием методов направленного биокатализа (ферментативная трансформация) — еще одно перспективное направление глубокой переработки [12–14]. Все получаемые продукты могут быть использованы как компоненты питательных сред в микробиологическом производстве аминокислот, органических кислот, спиртов и др., а также применены для обогащения и создания новых продуктов как общего, так и специального лечебно-профилактического назначения [1,5,12].

Зерновые отруби представляют ценное вторичное сырье для дальнейшей глубокой переработки, и с этой точки зрения важно знать не только особенности химического состава, но и состояние ферментных систем. Поликомпонентные отруби, полученные при совместном размоле зерновых, бобовых и масличных культур, очевидно должны обладать уникальным составом различных ферментных систем, поскольку большинство из них локализуется в периферийных частях зерновки (в зародыше и клетках алейронового слоя). При переработке зерносмеси они переходят в отруби, оказывая воздействие (в первую очередь гидролитическое и окислительное) на все компоненты отрубей; кроме этого, они способны влиять друг на друга, что в некоторых случаях выражается в виде синергетического эффекта. Все перечисленное выше требует специального изучения.

Известно, что эндогенные амилазы зерна [15–17] и микробные препараты амилаз [18–21], наряду с протеазами, играют существенную роль в различных пищевых технологиях, особенно в технологиях брожения, обеспечивая гидролиз крахмала сырья и накопление сахаров, что, наряду с другими факторами, повышает выход и качество конечного продукта [22–25]. Кроме того, дальнейшее преобразование сахаров в процессе микробиологического синтеза позволяет получать широкий спектр веществ (ингредиентов) для их использования как в пищевой промышленности, так и в кормопроизводстве. Препараты амилаз применяют также при выделении и очистке пищевых волокон¹. Известно, что в семенах растений присутствуют два типа α -амилазы: α -амилазы созревания и α -амилазы прорастания. В созревающем зерне синтезируется α -амилаза созревания, которая затем переходит в латентную форму, локализуясь на мембранах алейро-

нового слоя. Помимо этого, генетическими исследованиями установлено наличие в зерне пшеницы и других злаковых культур изоформ α - и β -амилаз [26–28].

Исследования, проведенные во ВНИИ зерна и продуктов его переработки, показали, что в поликомпонентных отрубях содержание жира в продуктах помола значительно увеличивается за счет добавления семян льна в исходную зерносмесь [14]. В связи с этим интересным представляется изучение активности липаз, которые инициируют различные процессы, в первую очередь процесс ферментативного прогоркания [29–30]. Зерновые и микробные липазы достаточно хорошо изучены: разработаны способы их выделения и очистки [31–34], дана характеристика каталитическим свойствам и строению активного центра [33,35], а также показана возможность иммобилизации зерновых и микробных липаз с целью их использования в пищевой промышленности [29,36].

Известно, что применение препаратов липазы приводит к улучшению реологических свойств теста, к увеличению удельного объема изделий и улучшению структуры и цвета мякиша. Также есть сведения о том, что липазы способствуют замедлению черствения хлеба. Это можно объяснить действием продуктов гидролиза — моноглицеридов и жирных кислот, которые, образуя комплексы с амилазой, замедляют ее ретроградацию. Предполагается, что липазы изменяют взаимодействия между белками и липидами муки, улучшая качество клейковины. Кроме того, липолитические ферменты косвенно влияют на окислительные процессы в тесте при замесе, что происходит за счет увеличения доступности ненасыщенных жирных кислот для действия фермента липоксигеназы, присутствующего в муке или введенного в тесто в составе улучшителей [37].

Цель исследования — оценка углеводно-амилазного и липидного комплексов поликомпонентных зерновых отрубей для их дальнейшей глубокой переработки с использованием ферментной модификации.

2. Материалы и методы

Объектом исследования служили три вида поликомпонентных отрубей, полученных путем совместного лабораторного помола трехкомпонентной зерновой смеси: 85% зерно пшеницы, 10% семян чечевицы и 5% льна (вариант 1); в варианте 2 зерно пшеницы было заменено на крупную шлифованную. Вариант 3 — отруби, полученные в результате совместного помола бинарной зерносмеси: 67% семян чечевицы и 33% льна.

Химический состав исходных компонентов и исследуемых образцов отрубей представлен в работе [14]. Содержание крахмала определяли по методу Эверса (ГОСТ 31675–2012²), массовую долю амилазы и амилапектина рассчитывали методом М. П. Попова и Е. Ф. Шаненко, восстанавливающих сахаров — по методу Бертрона. Растворимый белок определяли по методу Лоури [38]. Жирнокислотный состав опре-

¹ ГОСТ Р 34844–2022. «Продукция пищевая. Определение массовой доли пищевых волокон». — М.: Российский институт стандартизации, 2022, 12 с.

² ГОСТ 10845–98 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения крахмала». Москва: ИПК «Издательство стандартов», 2001. — 4 с.

деляли по ГОСТ 30418–96³. Активность амилаз определяли колориметрическим методом по интенсивности окраски комплекса «крахмал — йод» при длине волны 590 нм на фотозлектроколориметре КФК-3 (ЗОМЗ, Россия). Степень гидролиза рассчитывали по калибровочной кривой. Удельную активность амилаз выражали как отношение прогидролизованного крахмала (мг) к количеству белка (мг) в водной вытяжке исследуемых образцов.

Для выделения и частичной очистки α - и β -амилазы из трехкомпонентных отрубей (вариант 1) была разработана схема, которая включала следующие этапы:

- этап 1 — экстракция измельченного материала водой в соотношении 1:10 (масса/объем) в течение 5 мин при интенсивном перемешивании. Центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин.
 - этап 2 — осаждение α -амилазы сульфатом аммония (степень насыщения от 0 до 30%); отделение осадка (α -амилаза + β -амилаза) центрифугированием при скорости 6000 об/мин в течение 10 мин.
 - этап 3 — перерастворение осадка в 0,02% растворе хлорида кальция
 - этап 4 — термостатирование при 70 °С в течение 15 мин. Центрифугирование при 6000 об/мин в течение 10 мин. Доведение супернатанта до pH 5,6.
 - этап 5 — фракционирование α -амилазы методом гель-хроматографии на колонке с TSK — gel Toyopearl HW — 55F.
 - этап 6 — осаждение β -амилазы сульфатом аммония (степень насыщения от 30 до 60%) из надосадочной жидкости, полученной при проведении этапа 2; отделение осадка (β -амилаза + следы α -амилазы) центрифугированием при скорости 6000 об/мин в течение 10 мин.
 - этап 7 — перерастворение осадка в воде с доведением с помощью 0,1н HCl до pH 3,4 для инактивации следов α -амилазы, с дальнейшим доведением pH до 4,5–5,0 0,1н раствором NaOH.
 - этап 8 — фракционирование β -амилазы методом гель-хроматографии на колонке с TSK — gel Toyopearl HW — 55F.
- В работе использовали реактивы: CaCl_2 двухводный и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (чда); 0,1н NaOH и 0,1 н HCl (стандарт-титры); производство — Россия.

Разделение амилаз и определение их молекулярной массы проводили методом гель-хроматографии на колонке (2,3 × 35) с TSK-gel Toyopearl HW-55F (ToSoh bioSep, Япония). Параметры колонки: свободный объем — 44 мл (по выходу декстрана синего с молекулярной массой около 2 млн Да); общий объем — 140 мл (по выходу тирозина).

На колонку наносили 5 мл раствора, содержащего частично очищенные амилазы (объединенные фракции после стадии высаливания от 0 до 30% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и от 30 до 60% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Элюцию проводили дистиллированной водой. Объем собираемых фракций — 4 мл. Регистрацию оптической плотности элюата во фракциях осуществляли при длине волны 280 нм на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО, Россия).

Молекулярную массу амилаз определяли графическим методом, предварительно колонку маркировали стандартными метчиками с известной молекулярной массой фирмы Merck (Германия) [14,38,39].

Определение активности щелочных и кислых липаз проводили титрометрическим методом по начальной скорости ферментативной реакции гидролиза триглицеридов растительного масла, которую рассчитывали по количеству образовавшихся жирных кислот [38].

Для обработки результатов исследований определяли средние арифметические значения величин из трех измерений для каждого образца, среднееквадратичное отклонение не превышало 3% при доверительной вероятности $P = 0,95$. С этой целью использовали методы математической статистики с применением программного обеспечения Microsoft Excel, версия 2018 г. [40].

3. Результаты и их обсуждение

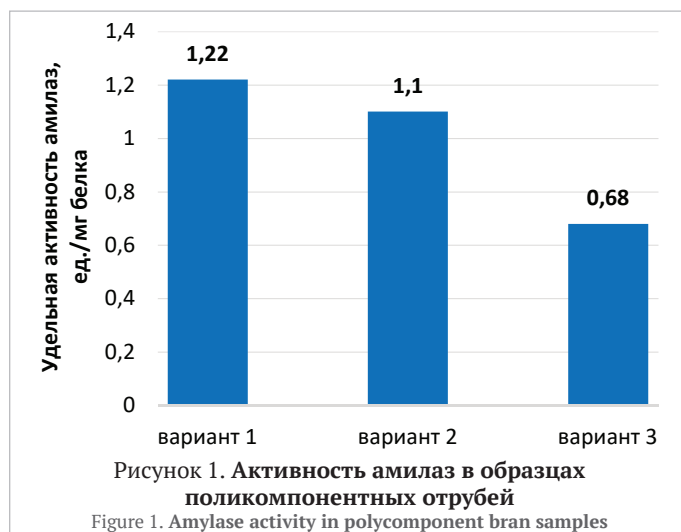
Углеводный комплекс поликомпонентных зерновых отрубей, полученных при совместном размоле зерносмеси, согласно указанным выше вариантам представлен крахмалом, клетчаткой, а также моно- и дисахаридами, поскольку наряду с оболочками и алейроновым слоем они содержат достаточное количество измельченного зародыша.

Полученные данные (Таблица 1) свидетельствуют о том, что трехкомпонентные отруби (варианты 1 и 2) содержат около 45–50% крахмала, причем соотношение амилозы и амилопектина в них практически одинаково. Чечевично-льняные отруби (вариант 3) содержат крахмала в 1,6–1,8 раз меньше, при этом доля амилозы в 1,6 раз выше, чем в первых двух вариантах. Кроме того, из всех исследуемых отрубей у чечевично-льняных отрубей отмечено более высокое содержание восстанавливающих сахаров и клетчатки.

Таблица 1.
Углеводный комплекс поликомпонентных отрубей
Table 1. Carbohydrate complex of polycomponent bran

Образец	Крахмал, %	Амилоза, %	Амилопектин, %	Восстанавливающие сахара, %	Клетчатка, %
Вариант 1	45,50	23,8	76,2	0,33	15,0
Вариант 2	52,42	24,0	76,0	0,30	14,6
Вариант 3	28,50	38,6	61,4	0,68	17,3

На Рисунке 1 представлена удельная активность амилаз (мг прогидролизованного крахмала/мг белка) в водной вытяжке исследуемых образцов отрубей.



Чечевично-льняные отруби, по сравнению с трехкомпонентными отрубями, характеризуются более низкой удельной активностью амилаз (примерно в 2 раза). При дальнейшей переработке чечевично-льняных отрубей или при их использовании в качестве обогащающего компонента в мучных смесях они не должны оказывать значительного влияния на реологические свойства при тестоведении.

На Рисунках 2 и 3 представлен профиль элюции белка частично очищенных препаратов амилаз и их активность.

³ ГОСТ 30418–96 «Масла растительные. Метод определения жирнокислотного состава». — Минск.: Стандартинформ, 2008. — 4 с.

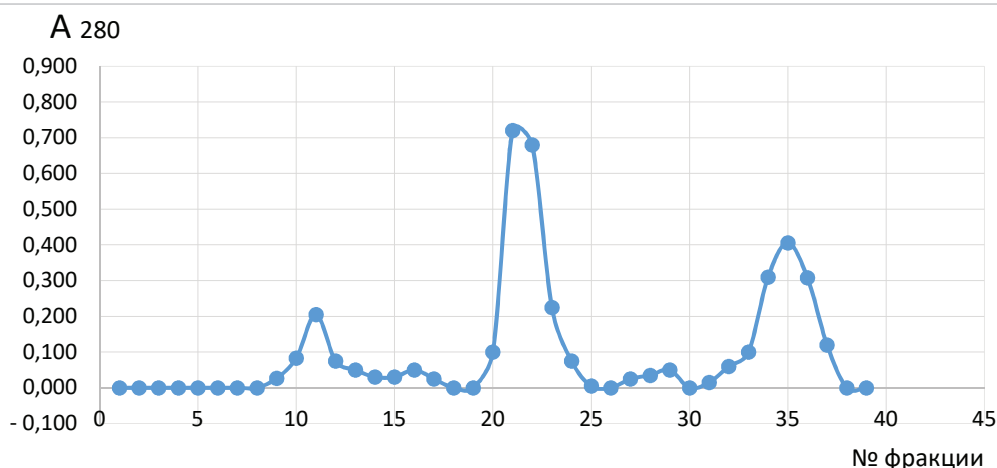


Рисунок 2. Профиль элюции белка частично очищенного препарата α - и β -амилаз
Figure 2. Protein elution profile of a partially purified preparation of α - and β -amylases

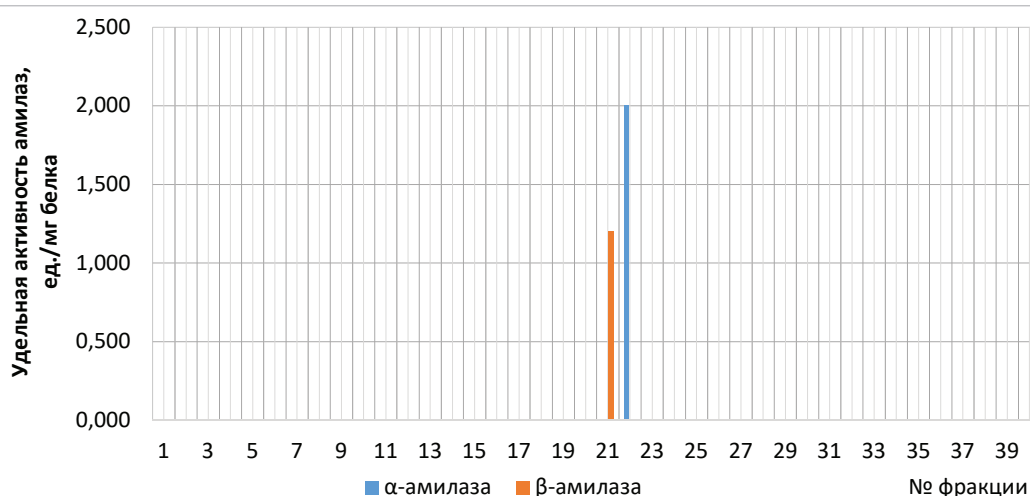


Рисунок 3. Фракционирование α - и β -амилаз трехкомпонентных отрубей (вариант 1)
Figure 3. Fractionation of α - and β -amylases of three-component bran (option 1)

Активность α -амилазы обнаружена в 22-й фракции, выходящей с объемом элюции 88 мл; активность β -амилазы обнаружена в 21-й фракции, выходящей с объемом элюции 84 мл. Таким образом, по данным гель-хроматографии молекулярная масса α - и β -амилаз, выделенных из трехкомпонентных отрубей по разработанной схеме, составила 40000 Да и 60000 Да соответственно.

Как показали наши исследования [12,14], добавление семян льна в помольную смесь значительно увеличивает содержание жира в продуктах помола. В Таблице 2 представлены данные, характеризующие исследуемые образцы отрубей по общему содержанию жира и по количеству основных насыщенных и ненасыщенных жирных кислот.

Так, общее содержание насыщенных жирных кислот с учетом количества жира в образцах отрубей составляет 0,95; 0,96 и 1,72%, а общее содержание ненасыщенных жирных кислот — 5,40; 4,92 и 9,07% соответственно для

вариантов 1, 2 и 3. При этом для чечевично-льняных отрубей (вариант 3) характерно наиболее благоприятное соотношение линолевой кислоты (ω -6) к α -линоленовой кислоте (ω -3) в пользу наиболее дефицитной α -линоленовой кислоты, которое составило 1: 4,2.

Увеличение содержания жира в поликомпонентных отрубях за счет добавления семян льна (Таблица 2) связано с необходимостью изучения активности липаз, которые, наряду с другими факторами, инициируют процесс ферментативного прогоркания. Известно, что растительные липазы отличаются оптимумом pH: зерновые липазы преимущественно проявляют свою активность в щелочной зоне — при pH 8,0; липазы масличных культур — в кислой зоне при pH 4,7 [15,29,30].

Анализ представленных на Рисунке 4 данных позволяет сделать вывод о том, что удельная активность щелочных и кислых липаз в образцах трехкомпонентных отрубей

Таблица 2. Содержание жира и жирнокислотный состав поликомпонентных отрубей

Table 2. Fat content and fatty acid composition of polycomponent bran

Образец	Жир, %	Насыщенные жирные кислоты, %			Ненасыщенные жирные кислоты, %	
		пальмитиновая C 16: 0	стеариновая C 18: 0	олеиновая C 18: 1	линолевая C 18: 2	α -линоленовая C 18: 3
Вариант 1	6,4	12,20 $\pm$ 0,98	2,66 $\pm$ 0,29	18,58 $\pm$ 1,49	61,65 $\pm$ 3,07	4,19 $\pm$ 0,46
Вариант 2	6,0	12,76 $\pm$ 1,02	3,23 $\pm$ 0,36	17,19 $\pm$ 1,43	60,29 $\pm$ 3,02	4,57 $\pm$ 0,50
Вариант 3	12,9	7,12 $\pm$ 0,52	6,26 $\pm$ 0,50	17,58 $\pm$ 1,35	10,23 $\pm$ 1,48	42,48 $\pm$ 2,87

(вариант 1 и 2) примерно одинаковая, а чечевично-льняные отруби (вариант 3) характеризуются практическим отсутствием щелочных липаз (преимущественно зерновые липазы) и высокой удельной активностью кислой липазы (преимущественно липаза льна), которая примерно в 4,2 раза превосходит активность кислых липаз трехкомпонентных отрубей.

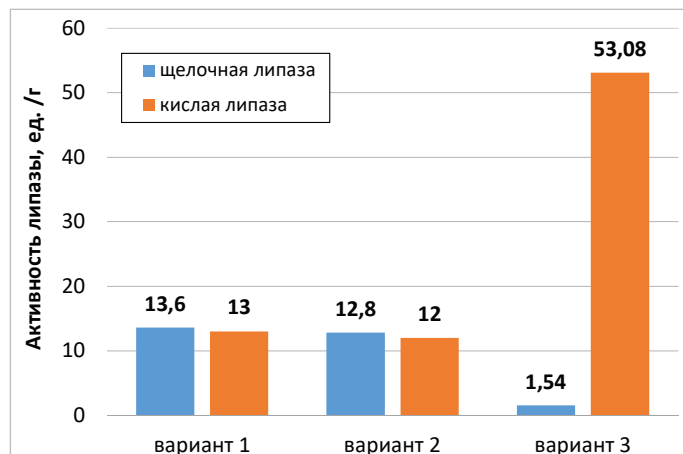


Рисунок 4. Активность щелочных и кислых липаз поликомпонентных отрубей

Figure 4. Activity of alkaline and acid lipases of polycomponent bran

4. Выводы

Оценка углеводно-амилазного и липидного комплексов поликомпонентных отрубей, полученных при совместном размоле зерносмеси из зерновых (пшеница), бобовых (чечевица) и масличных (лен) культур, выявила следующие особенности:

- соотношение амилозы и амилопектина в образцах трехкомпонентных отрубей практически одинаково, в чечевично-льняных отрубях доля амилозы в 1,6 раза выше, а удельная активность амилаз примерно в 2 раза ниже, чем в первых двух вариантах. Кроме того, чечевично-льняные отруби характеризуются более высоким содержанием восстанавливающих сахаров и клетчатки;
 - молекулярная масса амилаз, выделенных из трехкомпонентных отрубей, по данным гель-хроматографии составила 40000 Да для α -амилазы и 60000 Да для β -амилазы;
 - добавление семян льна в помольную смесь значительно увеличивает содержание жира в отрубях 6,4; 6,0 и 12,9% для вариантов 1, 2 и 3 соответственно. Жирнокислотный состав характеризуется преобладанием ненасыщенных жирных кислот для отрубей всех исследуемых вариантов. При этом для чечевично-льняных отрубей установлено соотношение эссенциальных кислот: линолевой кислоты (ω -6) к α -линоленовой кислоте (ω -3), которое составило 1: 4,2;
 - активность щелочных и кислых липаз в образцах трехкомпонентных отрубей примерно одинаковая, а чечевично-льняные отруби характеризуются высокой удельной активностью кислой липазы (преимущественно липаза льна), которая примерно в 4,2 раза превосходит активность кислых липаз трехкомпонентных отрубей.
- Полученные данные, наряду с данными по особенностям белково-протеиназного комплекса исследуемых видов отрубей, будут использованы при разработке способов ферментативной модификации (глубокая переработка) и при получении компонентов для создания новых пищевых продуктов с повышенной пищевой и биологической ценностью.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Андреев, Н. Р., Гольдштейн, В. Г., Носовская, Л. П., Адикаева, Л. В., Дегтярев, В. А. Перспективы развития глубокой переработки зерна. (2020). *Достижения науки и техники АПК*, 34(11), 98–103. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-11115>
2. Poutanen, K. S., Kärilund, A. O., Gómez-Gallego, C., Johansson, D. P., Scheers, N. M., Marklinder, I. M. et al. (2022). Grains — a major source of sustainable protein for health. *Nutrition Reviews*, 80(6), 1648–1663. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab084>
3. Jones, J. M., García, C. G., Braun, H. J. (2020). Perspective: Whole and refined grains and health — evidence supporting “make half your grains whole”. *Advances in Nutrition*, 11(3), 492–506. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz114>
4. Мистенева, С. Ю. (2022). Продукты переработки цельного зерна и перспективы их использования при производстве мучных кондитерских изделий. *Пищевые системы*, 5(3), 249–260. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-3-249-260>
5. Погорелова, Н. А., Гаврилова, Н. Б., Рогачев, Е. А., Шетинина, Е. М. (2020). Определение эффективности способов конверсии пшеничных отрубей для использования их в технологии продуктов питания. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 1, 48–57. <https://doi.org/10.36107/spfr.2020.228>
6. Сидак, М. В. (2022). Развитие глубокой переработки зерна в России: от простого крахмала к продуктам с высокой добавленной стоимостью. *Хлебопродукты*, 2, 18–23.
7. Никифорова, Т. А., Хон, И. А., Леонова, С. А., Вебер, А. Л., Краус, С. В. (2020). Рациональное использование побочных продуктов мукомольного и крупяного производства. *Хлебопродукты*, 11, 30–32. <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-10-30-32>
8. Пырьева, Е. А., Сафронова, А. И. (2019). Роль и место пищевых волокон в структуре питания населения. *Вопросы питания*, 88(6), 5–11. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10059>
9. 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>
10. Barbosa, F. C., Silvello, M. A., Goldbeck, R. (2020). Cellulase and oxidative enzymes: new approaches, challenges and perspectives on cellulose degradation for bioethanol production. *Biotechnology Letters*, 42(6), 875–884. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02875-4>
11. Krikunova, L. N., Meleshkina, E. P., Vitol, I. S., Dubinina, E. V., Obodova, O.N. (2023). Hydrolyzates of grain bran in the technology of obtaining fruit distillates. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 35–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-550>
12. Витол, И. С. (2022). Структурно-модифицированные отруби — инновационный продукт глубокой переработки зерна. *Пищевая промышленность*, 5, 27–29. <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.008>
13. Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N., Vitol, I. S., Kandrov, R., H., Tulyakov, D., G. (2017). Innovative trends the development in technology of processing of grain triticale. *Foods and Raw Materials*, 5(2), 70–82. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2017-2-70-82>
14. 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>
15. Гридина, С. Б., Зинкевич, Е. П., Владимирцева, Т. А., Забусова, К. А. (2014). Ферментативная активность зерновых культур. *Вестник КрасГАУ*, 8(95), 57–60.
16. Желтова, А. А., Зайцев, В. Г., Иващенко, Р. Ю., Агапова, Д. А. (2019). Специфическое определение активности альфа-амилазы и растворимых белков в зерне ячменя и пшеницы. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование*, 4(56), 79–84. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2019-04-9>
17. Kiszonas, A. M., Engle, D. A., Pierantoni, L. A., Morris, C. F. (2018). Relationships between Falling Number, α -amylase activity, milling, cookie and sponge cake quality of soft white wheat. *Cereal Chemistry*, 95(3), 373–385. <https://doi.org/10.1002/cche.10041>
18. Никитина, Е. В., Решетник, О. А., Губайдулин, Р. А. (2013). Биотехнологические аспекты применения амилазных ферментов в пищевой промышленности. *Вестник Казанского технологического университета*, 16(13), 148–153.
19. Лукин, А. А., Данилов, М. Б., Пирожинский, С. Г. (2020). Особенности применения микробных ферментов в отраслях производственной сферы. *Международный научно-исследовательский журнал*, 8-1(98), 94–99. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.98.8.013>
20. Патент РФ № 2290440. Способ экстракции бета-амилазы из зерен злака и целлюлаза для экстракции бета-амилазы из зерен злака / Кеки П. Оpubл. 27.12.2006. Бюлл. № 36.

21. Ban, X., Xie, X., Li, C., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L. et al. (2021). The desirable salt bridges in amylases: Distribution, configuration and location. *Food Chemistry*, 354, Article 129475. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129475>
22. Nadaroglu, H., Polat, M. S. (2022). Microbial extremozymes: Novel sources and industrial applications. Chapter in a book: *Microbial Extremozymes*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822945-3.00019-1>
23. Suleimenova, Zh. B., Saduyeva, Zh. K., Rakhmetova, Zh. K. (2016). Alpha-amylase production from *Aspergillus oryzae* M by submerged fermentation. *Biotechnologia Acta*, 9(4), 77–82. <https://doi.org/10.15407/bio-tech9.04.077>
24. Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V.K., Chauhan, B. (2013). Microbial α -amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38(11), 1599–1616. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00053-0)
25. Kikani, B. A., Singh, S. P. (2022). Amylases from thermophilic bacteria: structure and function relationship. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(3), 325–341. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1940089>
26. Нецветаев, В. П., Богдаренко, Л. С., Акиншина, О. В. (2015). Генетический анализ изоферментов бета-амилазы мягкой пшеницы. *Достижения науки и техники АПК*, 29(4), 17–19.
27. Нецветаев, В. П., Богдаренко, Л. С., Рыжкова, Т. А., Акиншина, О. В. (2016). Генетика изоферментов бета-амилазы и количественные признаки мягкой пшеницы. *Достижения науки и техники АПК*, 30(12), 5–9.
28. Netsvetaev, V. P., Bondarenko, L. S., Motorina, I. P. (2016). Distribution of alpha-amylase isozymes among the varieties of winter wheat in Russia and Ukraine. *Russian Journal of Genetics*, 52(12), 1244–1252. <https://doi.org/10.1134/S1022795416110090>
29. Демченко, Ю. А. (2018). Липаза: свойства источники, способы получения, применение. Наука: комплексные проблемы. 2(12). Электронный ресурс. <http://nignikr.adynet.ru/index.php/vypuski-2018/45-vypusk-2-12-dekabr/stati-k-vypusku-2-12-dekabr-2018/133-lipaza-svoystva-istochniki-sposoby-polucheniya-primenenie>. Дата доступа 19.06.2022.
30. Пушкарев, М. А., Сатаев, М. И., Козлов, Г. В., Саипов, А. А., Лисицкая, Т. Б., Гарабаджу, А. В. (2015). Липазы: общие характеристики. *Научные труды ЮКГУ им. М. Ауэзова*, 3, 39–43.
31. Шеламова, С. А., Тырсин Ю. А. (2009). Некоторые каталитические свойства липазы I *Rhizopus oryzae* 1403. *Вестник Оренбургского государственного университета*, 6(100), 434–437.
32. Kapranchikov, V. S., Zhrebtsov, N. A., Popova, T. N. (2004). Purification and characterization of lipase from wheat (*Triticum aestivum* L.) germ. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40(1), 84–88. <https://doi.org/10.1023/B: ABIM.0000010360.46824.56>
33. Kublicki, M., Koszelewski, D., Brodzka, A., Ostaszewski, R. (2022). Wheat germ lipase: isolation, purification and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(2), 184–200. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1939259>
34. Korneeva O. S., Kapranchikov V. S., Motina E. A., Popova T. N. (2008). Identification of catalytically active groups of wheat (*Triticum aestivum*) germ lipase. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(4), 349–355. <https://doi.org/10.1134/S0003683808040029>
35. Trbojevic Ivic, J., Velickovic, D., Dimitrijevic, A., Bezbradica, D., Dragacevic, V., Gavrovic Jankulovic, M. et al. (2016). Design of biocompatible immobilized *Candida rugosa* lipase with potential application in food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(12), 4281–4287. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7641>
36. Pierozan, M. K., Oestreicher, E. G., Oliveira, J. V., Oliveira, D., Treichel, H., Cansian, R. L. (2011). Studies on immobilization and partial characterization of lipases from wheat seeds (*Triticum aestivum*). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165(1), 75–86. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9234-y>
37. Дубцова, Г. Н., Нечаев, А. П., Молчанов, М. И. (2000). Молекулярно-биологические аспекты формирования липид-белковых комплексов и оценка их роли в структуре клейковины. В кн.: *Растительный белок: новые перспективы*. М.: Пищепромиздат, 2000.
38. 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.
39. Остерман, Л. А. (1985). Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука. 1985.
40. Гребенникова, И. В. (2015). Методы математической обработки экспериментальных данных. Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2015.

REFERENCES

1. Andreev, N. R., Goldstein, V. G., Nosovskaya, L. P., Adikaeva, L. V., Degtyarev, V. A. Prospects for the development of deep grain processing. (2020). *Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*, 34(11), 98–103. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-11115> (In Russian)
2. Poutanen, K. S., Kärllund, A. O., Gómez-Gallego, C., Johansson, D. P., Scheers, N. M., Marklinder, I. M. et al. (2022). Grains — a major source of sustainable protein for health. *Nutrition Reviews*, 80(6), 1648–1663. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab084>
3. Jones, J. M., Garcia, C. G., Braun, H. J. (2020). Perspective: Whole and refined grains and health — evidence supporting “make half your grains whole”. *Advances in Nutrition*, 11(3), 492–506. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz114>
4. Misteneva, S. Yu. (2022). Whole grain processing products and prospects for their use in the production of flour confectionery. *Food Systems*, 5(3), 249–260. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-3-249-260> (In Russian)
5. Pogorelova, N. A., Gavrilova, N. B., Rogachev, E. A., Shchetinina, E. M. (2020). Determination of the effectiveness of wheat bran conversion methods for their use in food technology. *Storage and Processing of Farm Products*, 1, 48–57. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.228> (In Russian)
6. Sidak, M. V. (2022). Development of deep grain processing in Russia: from simple starch to products with high added value. *Bread Products*, 2, 18–23. (In Russian)
7. 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 production. *Bread Products*, 11, 30–32. <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-10-30-32> (In Russian)
8. Pyryeva, E. A., Safronova, A. I. (2019). The role of dietary fibers in the nutrition of the population. *Problems of Nutrition*, 88(6), 5–11. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10059> (In Russian)
9. Gunenc, A., Alswiti, C., Hosseini, 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>
10. Barbosa, F. C., Silvello, M. A., Goldbeck, R. (2020). Cellulase and oxidative enzymes: new approaches, challenges and perspectives on cellulose degradation for bioethanol production. *Biotechnology Letters*, 42(6), 875–884. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02875-4>
11. Krikunova, L. N., Meleshkina, E. P., Vitol, I. S., Dubinina, E. V., Obodoeva, O. N. (2023). Hydrolyzates of grain bran in the technology of obtaining fruit distillates. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 35–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-550>
12. Vitol, I. S. (2022). Structurally modified bran is an innovative product of deep grain processing. *Food Industry*, 5, 27–29. <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.008> (In Russian)
13. Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N., Vitol, I. S., Kandrov, R., H., Tulyakov, D., G. (2017) Innovative trends the development in technology of processing of grain triticales. *Foods and Raw Materials*, 5(2), 70–82. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2017-2-70-82>
14. 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> (In Russian)
15. Gridina, S. B., Zinkevich, E. P., Vladimirtseva, T. A., Zabusova, K. A. (2014). Enzymatic activity of grain crops. *Bulletin of KSAU*, 8(95), 57–60. (In Russian)
16. Zheltova, A. A., Zaitsev, V. G., Ivashchenko, R. Yu., Agapova, D. A. (2019). Specific definitions of alpha-amylase and soluble proteins activity in barley and wheat grain. *Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education* 4(56), 79–84. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2019-04-9> (In Russian)
17. Kiszonas, A. M., Engle, D. A., Pierantoni, L. A., Morris, C. F. (2018). Relationships between Falling Number, α -amylase activity, milling, cookie and sponge cake quality of soft white wheat. *Cereal Chemistry*, 95(3), 373–385. <https://doi.org/10.1002/cche.10041>
18. Nikitina, E. V., Reshetnik, O. A., Gubaidulin, R. A. (2013) Biotechnological aspects of the use of amylolytic enzymes in the food industry. *Bulletin of the Kazan Technological University*, 16(13), 148–153. (In Russian)
19. Lukin, A. A., Danilov, M. B., Pirozhinsky, S. G. (2020). Application features of microbial enzymes in industrial sectors. *International Research Journal*, 8–1(98), 94–99. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.98.8.013> (In Russian)
20. Kekki P. (FI). Method for extraction of beta-amylase from cereal grains and cellulase for extraction of beta-amylase from cereal grains. Patent RF no. 2290440, 2006 (In Russian)
21. Ban, X., Xie, X., Li, C., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L. et al. (2021). The desirable salt bridges in amylases: Distribution, configuration and location. *Food Chemistry*, 354, Article 129475. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129475>
22. Nadaroglu, H., Polat, M. S. (2022). Microbial extremozymes: Novel sources and industrial applications. Chapter in a book: *Microbial Extremozymes*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822945-3.00019-1>
23. Suleimenova, Zh. B., Saduyeva, Zh. K., Rakhmetova, Zh. K. (2016). Alpha-amylase production from *Aspergillus oryzae* M by submerged fermentation. *Biotechnologia Acta*, 9(4), 77–82. <https://doi.org/10.15407/bio-tech9.04.077>
24. Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., Chauhan, B. (2013). Microbial α -amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38(11), 1599–1616. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00053-0)
25. Kikani, B. A., Singh, S. P. (2022). Amylases from thermophilic bacteria: structure and function relationship. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(3), 325–341. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1940089>

26. Netsvetaev, V. P., Bogdarenko, L. S., Akinshina, O. V. (2015). Genetic analysis of isoenzymes of beta-amylase in soft wheat. *Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*, 29(4), 17–19. (In Russian)
27. Netsvetaev, V. P., Bogdarenko, L. S., Ryzhkova, T. A., Akinshina, O. V. (2016). Genetics of beta-amylase isozymes and quantitative attributes of soft wheat. *Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*, 30(12), 5–9. (In Russian)
28. Netsvetaev, V. P., Bondarenko, L. S., Motorina, I. P. (2016). Distribution of alpha-amylase isozymes among the varieties of winter wheat in Russia and Ukraine. *Russian Journal of Genetics*, 52(12), 1244–1252. <https://doi.org/10.1134/S1022795416110090>
29. Demchenko, Yu. A. (2018). Lipase: Sources, methods of obtaining, application. *Science: complex problems*. 2(12). Retrieved from <http://nigniikp.adygnet.ru/index.php/vypuski-2018/45-vypusk-2-12-dekabr/stati-k-vypusku-2-12-dekabr-2018/133-lipaza-svoystva-istochniki-sposoby-polucheniya-primenenie> Accessed June 19, 2022 (In Russian)
30. Pushkarev, M. A., Sataev, M. I., Kozlov, G. V., Saipov, A. A., Lisitskaya, T. B., Garabadzhiu, A. V. (2015). Lipases: general characteristics. *Transaction of M. Auezov SKSU*, 3, 39–43. (In Russian)
31. Shelamova, S. A., Tyrsin, Yu. A. (2009). Some catalytic properties of lipase *I Rhizopus oryzae* 1403. *Vestnik of the Orenburg State University*, 6(100), 434–437. (In Russian)
32. Kapranchikov, V. S., Zharebtsov, N. A., Popova, T. N. (2004). Purification and characterization of lipase from wheat (*Triticum aestivum* L.) germ. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40(1), 84–88. <https://doi.org/10.1023/B:ABIM.0000010360.46824.56>
33. Kublicki, M., Koszelewski, D., Brodzka, A., Ostaszewski, R. (2022). Wheat germ lipase: isolation, purification and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(2), 184–200. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1939259>
34. Korneeva O. S., Kapranchikov V. S., Motina E. A., Popova T. N. (2008). Identification of catalytically active groups of wheat (*Triticum aestivum*) germ lipase. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(4), 349–355. <https://doi.org/10.1134/S0003683808040029>
35. Trbojevic Ivic, J., Velickovic, D., Dimitrijevic, A., Bezbradica, D., Dragacevic, V., Gavrovic Jankulovic, M. et al. (2016). Design of biocompatible immobilized *Candida rugosa* lipase with potential application in food industry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(12), 4281–4287. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7641>
36. Pierozan, M. K., Oestreicher, E. G., Oliveira, J. V., Oliveira, D., Treichel, H., Cansian, R. L. (2011). Studies on immobilization and partial characterization of lipases from wheat seeds (*Triticum aestivum*). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165(1), 75–86. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9234-y>
37. Dubtsova, G. N., Nechaev, A. P., Molchanov, M. I. (2000). Molecular biological aspects of the formation of lipid-protein complexes and evaluation of their role in the structure of gluten. Chapter in a book: *Veg-etable Protein: New Perspectives*. Moscow: Pishchepromizdat, 2000. (In Russian)
38. 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)
39. Osterman, L. A. (1985). Chromatography of proteins and nucleic acids. Moscow: Science, 1985. (In Russian)
40. Grebennikova, I. V. (2015). Methods of mathematical processing of experimental data. Yekaterinburg: Ural University Press, 2015.

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	Georgiy 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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-29-35>

Поступила 21.11.2022

Поступила после рецензирования 09.01.2023

Принята в печать 16.01.2023

© Гурский И. А., 2023

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

Научная статья

Open access

ТЕКСТУРА ОБЕЗЖИРЕННОГО ЙОГУРТА С ИЗОЛЯТАМИ И КОНЦЕНТРАТАМИ БЕЛКОВ

Гурский И. А.

Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

*йогурт, концентраты
и изоляты белков, текстура*

АННОТАЦИЯ

Йогурт является одним из самых распространенных кисломолочных продуктов. Его потребляют непосредственно в пищу и используют для производства кисломолочных десертов и мороженого. Актуальная задача для производителей йогурта — повышение качества продукта за счет дополнительно вносимых белковых компонентов. В данном исследовании оценивалось влияние изолятов и концентратов белков на реологические показатели йогурта. Методы включали определение динамической вязкости и выявление таких показателей текстуры, как твердость, липкость, разжевываемость, упругость, когезия и клейкость приготовленного йогурта через 30 суток его хранения при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$. Была оценена влагоудерживающая способность образцов йогурта. Установлено, что внесение сывороточных белков позволяет повысить влагоудерживающую способность до 77% и 80% соответственно. Наибольшее значение динамической вязкости через 5 ч сквашивания (19,3 и 26,1 Па·с) было установлено в образцах, содержащих концентрат и изолят нативных сывороточных белков. При внесении изолята молочных, концентрата соевых и изолята нативных сывороточных белков наблюдалось снижение динамической вязкости через 5 ч сквашивания. Добавление белковых компонентов приводило к значительному увеличению показателей текстуры (за исключением когезии). Наибольшее значение когезии, равное 0,4 Н·с, было установлено в образце без белковых компонентов и в образце с концентратом сывороточных белков. Показатели твердости, липкости, разжевываемости, упругости и клейкости имели наибольшее значение в образце с изолятом нативных сывороточных белков.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № 075-01190-22-00 ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 21.11.2022

Accepted in revised 09.01.2023

Accepted for publication 16.01.2023

© Gurskiy I. A., 2023

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

Original scientific article

Open access

THE TEXTURE OF NON-FAT YOGURT WITH PROTEIN ISOLATES AND CONCENTRATES

Igor A. Gurskiy

All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

*yogurt, proteins concentrates
and isolates, texture*

ABSTRACT

Yogurt is one of the most common fermented milk products. It is consumed directly as food or used for the production of fermented milk desserts and ice cream. The urgent task for yogurt producers is improving product quality due to additionally introduced protein components. In this study, an effect of protein isolates and concentrates on the rheological parameters of yogurt was evaluated. The methods included the determination of dynamic viscosity and texture indices, such as hardness, gumminess, chewiness, springiness, cohesiveness and adhesiveness. The prepared yogurt samples were investigated immediately and after 30 days of storage at a temperature of $4 \pm 2^\circ\text{C}$. The water-holding capacity was evaluated. It has been established that introduction of whey proteins makes it possible to increase the water-holding capacity to 77% and 80%, respectively. The highest value of dynamic viscosity (19.3 and 26.1 Pa·s) was found in the samples with isolate and concentrate of native whey proteins after 5 hours of fermentation. A decrease in dynamic viscosity with the introduction of milk protein isolate, soy protein concentrate and native whey protein isolate was observed after 5 hours of fermentation. Addition of the protein components led to a significant increase in texture indices, except for cohesiveness. The highest cohesiveness value of 0.4 N·s was found in the sample without protein components and in the sample with whey protein concentrate. The indicators of hardness, gumminess, chewiness, springiness and adhesiveness were the highest in the sample with native whey protein isolate.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. 075-01190-22-00 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Повышение спроса на йогурт среди потребителей обусловлено его пищевой ценностью и вкусовыми особенностями, что учитывают также при выборе йогурта в качестве компонента для изготовления кисломолочных десертов

и мороженого из этого продукта. В состав йогурта входят вещества, обладающие высокой биологической ценностью: белки (казеин и сывороточные белки), минералы (кальций, калий, натрий, фосфор и магний) и витамины (А, В6, В4, В2, В1 и В12) [1,2,3]. Помимо этого, йогурт содержит молочно-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Гурский, И. А. (2023). Текстура обезжиренного йогурта с изолятами и концентратами белков. *Пищевые системы*, 6(1), 29-35. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-29-35>

FOR CITATION: Gurskiy, I. A. (2023). The texture of non-fat yogurt with proteins isolates and concentrates. *Food Systems*, 6(1), 29-35. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-29-35>

кислые бактерии, которые способствуют восстановлению нормальной микрофлоры кишечника, стимулируют иммунитет, продуцируют противовоспалительные вещества, обладают противоопухолевым действием и т. д. [4]. Вкусовые характеристики йогурта обусловлены продуктами, образующимися в результате развития заквасочных культур. Органолептические характеристики йогурта в значительной степени связаны с его текстурными свойствами, такими как гладкость, вязкость, упругость и др., которые формируются в процессе сквашивания. В процессе роста и развития заквасочных микроорганизмов, используемых в производстве йогуртов (*Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*), происходит образование молочной кислоты, которая вызывает денатурацию белка, его агрегацию и образование геля [5], свойства которого в значительной степени определяют текстуру готового продукта.

С целью повышения биологических, физико-химических, органолептических и структурно-механических показателей йогурта возможно дополнительное внесение белковых компонентов. На текстуру йогурта могут оказывать влияние следующие процессы: пастеризация, сквашивание и хранение. При пастеризации денатурируют сывороточные белки, а дальнейшее подкисление приводит к образованию дисульфидных связей между κ -казеином и сывороточными белками, в результате чего формируется более твердый гель и снижается его синерезис [6]. Происходит образование ковалентных связей между κ -казеином, α -лактальбумином и β -лактоглобулином через реакцию тиол-дисульфидного обмена в связи с образованием свободных тиоловых групп ($-SH$) [7,8]. Часть сывороточных белков при пастеризации образуют растворимые агрегаты. В процессе сквашивания казеиновые белки молока теряют свою стабильность и коагулируют при достижении изoeлектрической точки (рН 4,6) с образованием трехмерной белковой сети, в которой удерживается сыворотка [9]. В процессе хранения в йогурте может повыситься кислотность из-за медленного охлаждения и остаточной активности молочнокислых микроорганизмов [10]. Увеличение кислотности в процессе хранения приводит к укрупнению частиц казеина, к растворению фосфата кальция и реструктуризации белковой сети [11]. Подобное изменение белковой сети ведет к уплотнению структуры, снижению реологических показателей йогурта и, как правило, к отделению сыворотки, что снижает органолептические показатели продукта. Белковые компоненты, применяемые при изготовлении йогуртов для повышения их стабильности в процессе хранения и улучшения текстурных характеристик, в зависимости от используемого сырья и способа их производства могут различаться по качественному и количественному составу белковых фракций. Белковые компоненты можно разделить на концентраты и изоляты, получаемые из цельного молока [12] или побочных продуктов молочной отрасли (сыворотки) [13]. Концентраты и изоляты сывороточных белков в основном представлены фракциями α -лактальбумина и β -лактоглобулина, а концентраты молочных белков — казеином и сывороточными белками в том же соотношении, что и в молоке [14,15]. Глобулярные сывороточные белки, к которым относятся α -лактальбумин, β -лактоглобулин и альбумины, имеют разное количество свободных $-SH$ групп, поэтому показатели текстуры зависят от вида используемых белковых компонентов и от содержащихся в них фракций белков.

Результаты многих исследований свидетельствуют о влиянии белков на вязкость и влагоудерживающую способность йогурта, а также на профиль его текстуры (ощущения при жевании). В работах [16,17,18] было рассмотрено влияние соевого белка на реологические показатели йогурта, такие

как вязкость, текучесть, а также модули упругости и потерь. Однако текстурные характеристики готового продукта были рассмотрены не в полном объеме, либо в состав йогуртов входили сахароза, стабилизаторы и жиры, что сказывалось на показателях реологических и текстурных. Кроме того, стоит отметить, что в большинстве работ соевый белок был внесен в виде соевого молока, а не как сухой компонент (концентрат соевого белка). Зарубежными авторами также были рассмотрены возможности использования концентрата и изолята сывороточных белков [19,20] и изолята нативных сывороточных белков [21]. Однако, как и в случае с соевым белком в составе йогурта с изолятами и концентратами сывороточных белков присутствовали жиры, что повлияло на показатели текстуры продукта, поэтому сравнить влияние каждого белка оказалось невозможным. Белки различных производителей могут несколько отличаться по своему составу, из-за чего не все полученные результаты различных зарубежных авторов коррелируют. Учитывая, что исследования по использованию изолятов и концентратов молочных белков недостаточно и они носят противоречивый характер, изучение их влияния на реологические свойства йогуртов является актуальной задачей.

Полезные свойства и характерные для кисломолочных продуктов высокого качества органолептические показатели дают основание для совершенствования консистенции йогурта и для проведения соответствующих исследований. Стоит также отметить, что реологические характеристики йогуртов являются важными показателями при изготовлении продуктов с их использованием, таких как кисломолочное мороженое или кисломолочные десерты, сохраняющие свою форму при размораживании. В связи с этим целью данной работы являлось изучение влияния различных белковых концентратов и изолятов на физико-химические показатели обезжиренного йогурта без применения сахарозы и стабилизаторов.

2. Объекты и методы

2.1. Объекты

В данной работе объектами исследования являлись образцы йогурта с различными белковыми компонентами, состав которых представлен в Таблице 1. Для производства йогуртов использовали сухое обезжиренное молоко (СОМ) (ООО «Юговский комбинат молочных продуктов», Россия), изолят молочного белка (ИМБ) Prodiel 87B Fluid, концентрат молочного белка (КМБ) MPC85 (ST) и изолят нативного сывороточного белка (ИНСБ) Prodiel 90S (Ingredia S. A., Франция), концентрат сывороточного белка (КСБ) WPC80 (Mlekovita Group, Польша), изолят соевого белка (ИСоБ) Shansong-90 (Linyi Shansong Biological Products Co., Ltd, Китай). Использовали закваску для йогуртов JOINTEC (CSL, Италия), в состав которой входили *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*.

Таблица 1. Состав образцов йогуртов

Table 1. Composition of yogurt samples

Компонент	Количество компонента в образце на 100 г, г					
	№ 1 (контроль)	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
СОМ*	9,6					
ИМБ	–	3,6	–	–	–	–
КСБ	–	–	–	3,8	–	–
КМБ	–	–	3,6	–	–	–
ИНСБ	–	–	–	–	–	3,5
ИСоБ	–	–	–	–	3,3	–
Вода	90,4	86,8	86,8	86,6	87,1	86,9

* сухое обезжиренное молоко.

2.2. Методы

2.2.1. Определение активной и титруемой кислотности

pH йогуртов измеряли с помощью pH-метра (модель pH-150МИ; ООО «Измерительная техника», Россия). Титруемую кислотность определяли согласно ГОСТ 3624–92¹.

2.2.2. Определение влагоудерживающей способности

Влагоудерживающую способность (ВУС) образцов определяли по измененному методу, указанному в Akalin и др. [22]. Образцы массой около 10 г (Й) центрифугировали при 1500 оборотах в течение 15 мин. Отделившуюся сыворотку (С) взвешивали. ВУС была рассчитана как:

$$ВУС(\%) = \frac{(Й - С)}{Й} \times 100. \quad (1)$$

2.2.3. Определение показателей текстуры

Анализ профиля текстуры образцов был выполнен с использованием текстурометра LFRA Texture Analyzer (Brookfield, США), оснащенного зондом в виде акрилового цилиндра диаметром 2,5 см. Скорость погружения цилиндра была 0,5 мм/с при двух циклах погружения на глубину 10 мм.

2.2.4. Определение динамической вязкости

Динамическую вязкость в процессе ферментации определяли с использованием реовискзиметра DV2+Pro (BrookField, США) с программным обеспечением Rheocalc V3 1–1 (BrookField, США) и шпинделя SC4–31 при его скорости вращения 1 об/мин.

2.2.5. Статистический анализ

Для сравнения средних значений полученных результатов использовали t-тест, $p > 0,05$ для не значимых различий. При анализе консистенции также применяли метод анализа главных компонент (PCA — principal component analysis) для уменьшения измерений путем преобразования данных, показывающих их взаимосвязь. Статистический анализ и обработку полученных результатов проводили с использованием среды анализа данных RStudio (RStudio PBC, USA).

3. Результаты и обсуждение

Внесение белковых изолятов и концентратов оказало влияние на изначальную титруемую кислотность образцов смеси для йогуртов (Таблица 2). Внесение КСБ и ИМСБ привело к увеличению изначальной титруемой кислотности смеси в 1,4–1,5 раза, КМБ и ИНСБ — в 1,2 раза. После 5 ч сквашивания в равных условиях были установлены различия в титруемой кислотности образцов йогурта. За этот период наибольший прирост кислотности был выявлен в образцах № 2, № 3 и № 4 (от 76 до 83 °Т). При внесении ИНСБ прирост титруемой кислотности за 5 ч составил лишь 50 °Т. Разница в скорости нарастания кислотности может быть связана с различной кислотностью среды [23] и с присутствием белков с различными свойствами (концентраты и изоляты белков) [24]. Также на скорость кислотообразования могут оказывать влияние: содержание сухих веществ, состав молока, взаимодействие компонентов, температура инкубации и др. [25]. Полученные результаты в части большей интенсивности кислотообразования в образцах № 2–№ 4 совпадают с исследованиями других авторов [26,27]. Повышение скорости нарастания титруемой кислотности может быть связано с наличием пептидов с низкой молекулярной массой. Данные пептиды являются биологически активными ком-

понентами и могут усиливать рост и кислотообразующую активность заквасочных микроорганизмов. Использование соевого белка (образец № 5) не оказало значимого влияния на титруемую кислотность образцов в изначальной смеси, но повысило титруемую кислотность спустя 5 ч сквашивания на 5 °Т.

Таблица 2. Значения кислотности образцов йогурта ($Me \pm SD$, $n = 3$)

Table 2. Acidity of yogurt samples ($Me \pm SD$, $n = 3$)

Образец №	Активная кислотность, pH		Титруемая кислотность, °Т	
	0 ч	5 ч	0 ч	5 ч
1	6,5	4,7	20,3 ± 1,2 ^a	87,5 ± 1,0
2	6,5	4,6	30,5 ± 1,0 ^c	108,5 ± 1,2 ^a
3	6,6	4,7	25,3 ± 0,3 ^b	108,0 ± 1,0 ^a
4	6,4	4,6	28,5 ± 0,6 ^c	104,5 ± 1,2
5	6,7	4,7	22,3 ± 1,2 ^a	92,5 ± 1,2
6	6,5	4,6	25,3 ± 1,0 ^b	75,0 ± 0,6

Значения с одинаковой буквой (^{a-c}) в одном столбце не имеют значимых различий ($p > 0,05$).

В процессе сквашивания определяли динамическую вязкость исследуемых образцов (Рисунок 1). Наибольшее значение вязкости образцов № 3, № 5 и № 6 было достигнуто спустя 4 ч сквашивания и составляло 9,8; 7,8 и 29 Па·с соответственно. Через 5 ч вязкость этих же образцов уменьшилась на 35, 48 и 10% соответственно, что может быть связано со слабым удерживанием влаги в структуре сгустка, вызванным чрезмерным сшиванием мицелл казеина. В остальных образцах разрушения сгустка установлено не было. Стоит отметить, что наибольшая вязкость была выявлена в образцах № 4 и № 6 (выше 19 Па·с), вязкость остальных образцов не превышала значения 10 Па·с. Увеличение вязкости образцов с белками по отношению к контрольному образцу связано с увеличением доли белка в продукте и с его гидрофильными свойствами. Наибольшая вязкость образцов № 4 и № 6 может быть связана с присутствием в составе концентратов α -лактальбумина, который в процессе термообработки образует комплекс с мицеллами казеина, влияя на его гидрофильные свойства [28]. В результате адсорбции сывороточных белков, концентрация которых повышена в образцах № 4 и № 6, увеличиваются гелеобразующие способности, что и повышает вязкость.

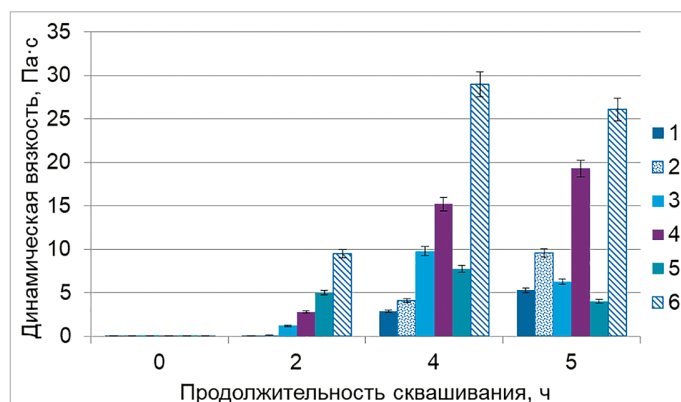


Рисунок 1. Зависимость динамической вязкости йогурта от продолжительности сквашивания
Figure 1. Dependence of dynamic viscosity of yogurt on fermentation duration

Влагоудерживающая способность является одним из важнейших показателей качества йогурта (Рисунок 2). Внесение сывороточных белков (образцы № 4 и № 6) позволило

¹ ГОСТ 3624–92 «Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности». Москва, «Стандартинформ», 2009. — 8 с.

снизить синерезис сыворотки, влагоудерживающая способность этих образцов была выше 75%. Внесение молочных белков и соевого белка в несколько меньшей степени позволило повысить влагоудерживающую способность. Значение этого показателя для образцов № 2, № 3 и № 5 находилось в диапазоне значений от 50 до 60%. В целом, внесение белковых компонентов усилило влагоудерживающую способность в 1,3–2,0 раза. Полученные результаты исследования влагоудерживающей способности коррелируют с результатами работ зарубежных авторов [29–31], изучавших применение белковых концентратов и изолятов. Различия ВУС между образцами с различными видами белков обусловлено содержанием белковых фракций. В результате уменьшения отношения между казеином и сывороточными белками увеличивается количество точек соединения в комплексе между казеином и сывороточными белками, что усиливает ветвление и повышает ВУС.

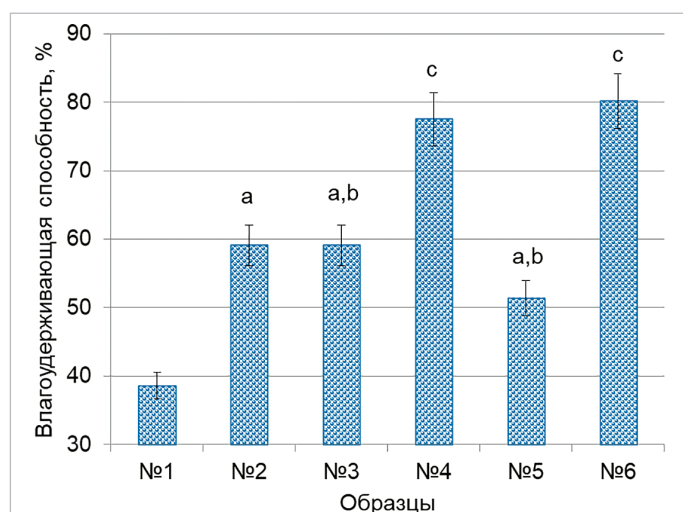


Рисунок 2. Влагоудерживающая способность образцов йогурта. Образцы с одинаковой буквой (a–c) не имеют значимых различий ($p > 0,05$)

Figure 2. Water-holding capacity of yogurt samples. Samples with the same letter (a–c) do not have significant differences ($p > 0.05$)

При проведении текстурного анализа образцов йогурта определяли твердость, липкость, разжевываемость, упругость, когезию и клейкость. Типичная кривая профиля текстуры согласно [32] представлена на Рисунке 3. Результаты измерения показателей текстуры отображены на Рисунке 4.

Твердость — одна из главных характеристик, получаемая в процессе изучения текстуры продукта, являющаяся способностью сопротивляться воздействию, в результате которого происходит деформация. Было установлено, что при внесении белковых компонентов значительно увеличивается твердость образцов. Также твердость усиливается и в процессе 30 суток хранения готового йогурта, что связано с упрочнением структуры продукта. Значение твердости образца № 6 было выше в 2–4 раза, чем в образцах с другими белками. Подобная разница может быть связана с высоким содержанием тиоловых групп, о чем сообщают авторы работы [33]. Полученные результаты коррелируют с данными других отчетов [34,35]. Значительно большая твердость образца № 6 в сравнении с № 4 объясняется большим содержанием нативного сывороточного белка и отсутствием казеинмакропептидов. Большая твердость образца № 3 в сравнении с № 4 может быть связана с увеличением общего казеина и, как следствие, с наличием большей сформированной белковой сети. Значимых различий между образцами № 4 и № 5 установлено не было. Отличия между образцами белков молочных и сывороточных могут быть связаны с различной концентрацией минеральных веществ и с соотношением сывороточных белков и казеина.

Высокое значение липкости при оценке текстуры продукта является его недостатком, т. к. данный показатель определяется как энергия, необходимая для разжевывания продукта [36]. Значимые отличия липкости были установлены в образцах № 1 (минимальное) и № 6 (максимальное). Было выявлено увеличение данного показателя в процессе хранения в 1,2–1,5 раза. Разница в показателях липкости между образцом № 1 и остальными, как и в случае с твердостью, может быть связана с увеличением количества белка, в частности тиоловых групп. В значении показателя «липкость» образцов № 1 и № 6 разница составила 4,4 раза через 1 сутки хранения и 5,4 раза через 30 суток хранения.

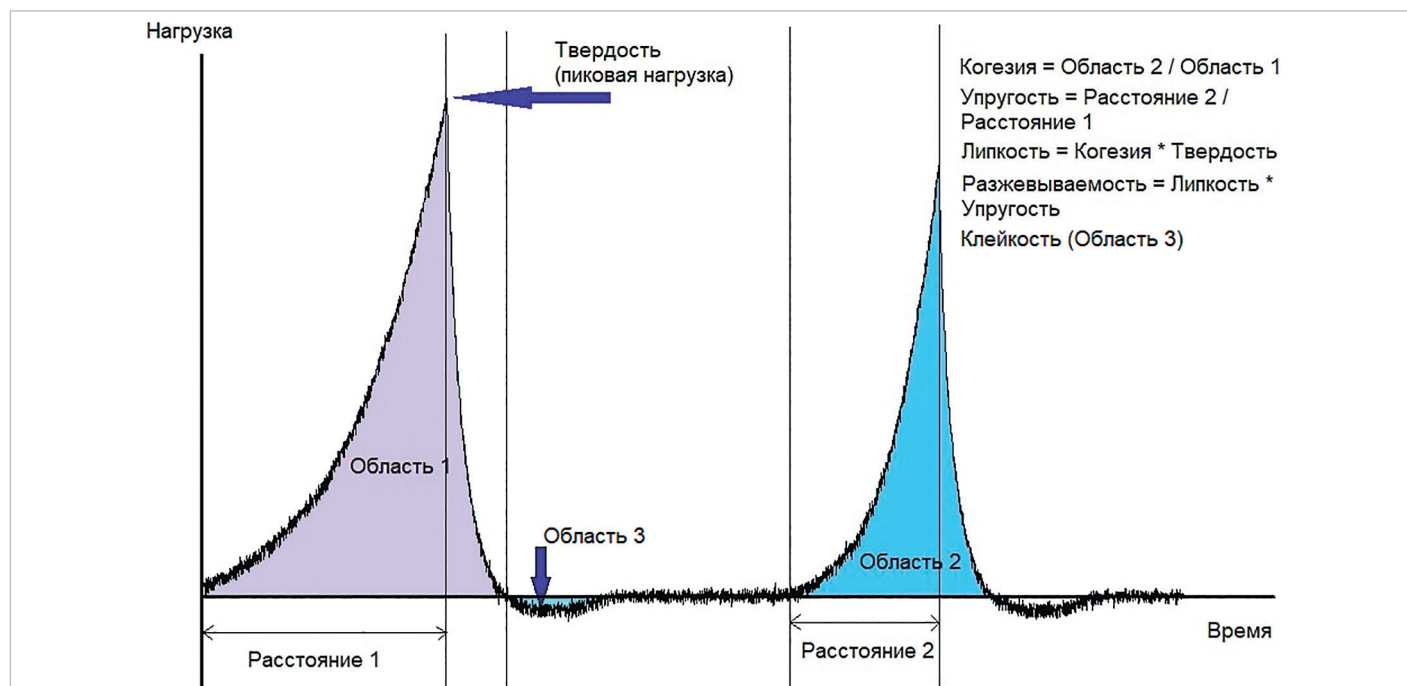


Рисунок 3. Типичная кривая, полученная в результате анализа текстурного профиля

Figure 3. Typical curve obtained as a result of texture profile analysis

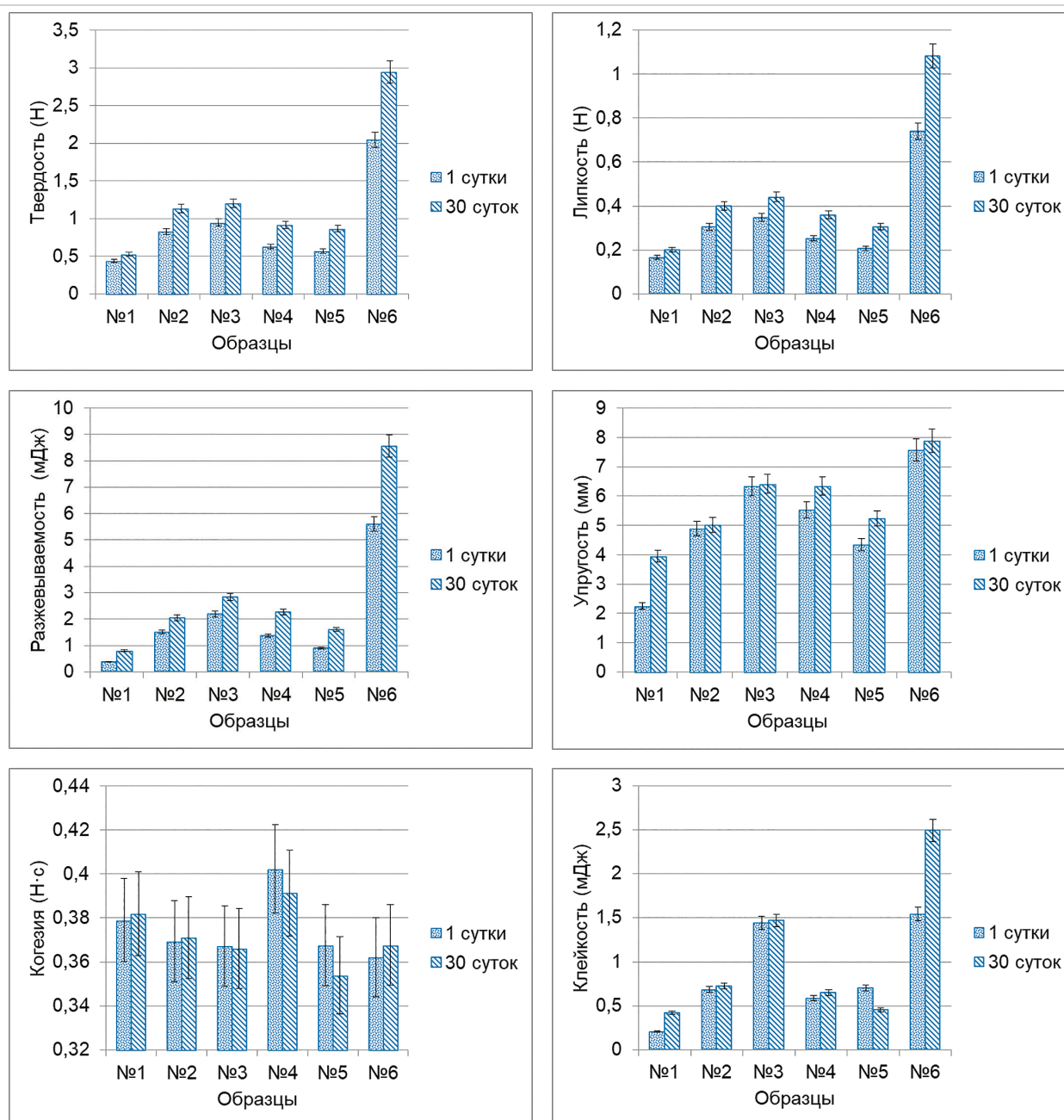


Рисунок 4. Результаты анализа текстуры образцов йогурта
Figure 4. Results of texture analysis of yogurt samples

Разжевываемость — работа, затраченная на пережевывание образца до его состояния, готового к проглатыванию [36]. Данный показатель имеет значимую корреляцию с твердостью, липкостью и упругостью. Наибольшее и наименьшее значения данного показателя, как и в случае с коррелирующими величинами, присущи образцу № 6 и № 1 соответственно. Можно сделать вывод, что увеличение данного показателя также связано с повышением доли белка и с его составом.

Упругость — показатель, характеризующий способность деформированного продукта возвращаться к исходному состоянию после устранения нагрузки. Данная характеристика зависит от температуры обработки, от взаимодействия белков и разворачивания их глобул в процессе ферментации [37]. Во всех образцах йогурта с внесенными белками значения упругости были выше в 1,9–3,4 раза через 1 сутки хранения и в 1,2–2,0 раза через 30 суток, по сравнению с образцом обычного йогурта. Значимое увеличение данного показателя было установлено только в образце обычного йогурта. Оно может быть связано с уплотнением структуры йогурта

в процессе хранения. Наибольшее значение упругости было в образце с ИНСБ. Образцы № 2, № 4 и № 5 значимых различий данного показателя между собой не имели.

Клейкость — необходимая работа для преодоления силы притяжения между поверхностью пищевого продукта, и различными объектами. Например, работа необходимая для отделения продукта, прилипшего к зубам во время еды [37]. В процессе хранения установлено значимое увеличение клейкости (в 1,6 раза) при использовании ИНСБ. Наименьшее значение данного показателя выявлено в образце № 1, а наибольшее — в № 6. Серьезных различий между образцами № 2, № 3 и № 5 установлено не было.

Как и в случае с твердостью, большое влияние на исследуемые показатели (липкость, разжевываемость, упругость, клейкость) оказывает количество нативных сывороточных белков или общего молочного белка с соотношением казеина и сывороточных белков 4:1. Несмотря на то, что уменьшение отношения между казеином и сывороточными белками повышает вязкость, показатели текстуры не увеличились.

Более низкие значения в образце с соевым белком могут быть связаны с его влиянием на образование комплексов между сывороточными белками и казеином при нагревании, что отмечали исследователи в ряде работ [38].

Когезия — параметр текстуры, определяемый величиной силы внутренних связей, препятствующих деформации продукта до разрыва. Из представленной диаграммы на Рисунке 4 видно, что наибольшая когезия характерна для образца йогурта с концентратом сывороточного белка. Большая когезия может быть связана с меньшей агрегацией мицелл казеина, в результате чего большее пространство занято сывороткой. Значительное снижение когезии в процессе хранения было установлено в образце с соевым белком (№ 5). В остальных образцах процесс хранения не оказал значимого влияния на данный показатель. Подобное различие когезии образцов с соевым белком и другими белками может быть связано с формированием высокомолекулярных полимеров белковых мицелл с белками сыворотки, как это было описано в работе [39]. При отсутствии такого рода полимеров в случае использования соевого белка слабые внутренние связи в процессе хранения продукта разрушаются, в результате чего происходит существенное снижение когезии. Также стоит отметить, что в образцах со значением когезии выше 0,37 (№ 1, № 2 и № 4) через 5 ч ферментации динамическая вязкость не снижалась.

Распределение образцов йогурта в зависимости от двух основных компонент, полученных анализом PCA, показано на Рисунке 5.

Анализ главных компонент позволяет упростить интерпретации показателей текстуры образцов йогуртов. PC2 связана с когезией и объясняет 14,1% дисперсии. PC1 объясняет 77,1% всей дисперсии. Наибольший вклад в PC1 внесли показатели «разжевываемость», «липкость» и «твердость». Корреляция между ними составила: разжевываемость — липкость (99,4%), разжевываемость — твердость (99,1%), твердость — липкость (99,8%). На рисунке четко дифференцированы образцы йогурта. Суммарно PC1 и PC2 объясняют 91,2% всей дисперсии. Расстояния между областями образца № 1 и образцов с белковыми компонентами подтверждает влияние белковых концентратов и изолятов на текстуру йогурта.

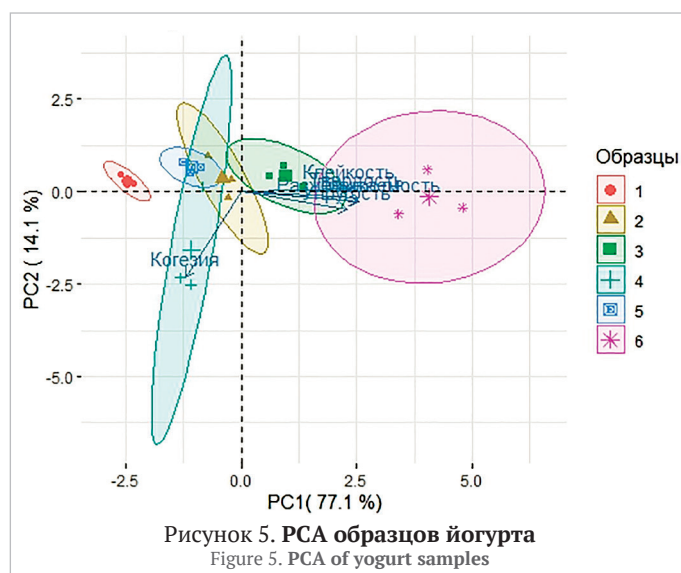


Рисунок 5. PCA образцов йогурта
Figure 5. PCA of yogurt samples

4. Выводы

В ходе работы было изучено влияние определенных белковых компонентов на физико-химические и реологические показатели обезжиренного йогурта. Образцы с различными белками имели значительные различия как между собой, так и в сравнении с контрольным образцом (образец № 1). Использование ИМБ, КМБ и КСБ приводит к получению более высоких значений титруемой кислотности. Внешение белков привело к увеличению ВУС до 51–80%. Добавление КМБ и КСБ не приводит к снижению вязкости йогурта после 5 ч сквашивания. Было установлено, что все белки улучшали показатели, связанные с текстурой. Наибольшее влияние на когезию оказало применение КСБ на остальные ИНСБ. В дальнейших работах возможно рассмотрение влияния исследуемых белков при их совместном использовании в различных концентрациях, а также обезжиренного йогурта, обогащенного концентратами белков, на текстуру продуктов с его использованием, в частности кисломолочных десертов и мороженого.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Tessier, A.-J., Presse, N., Rahme, E., Ferland, G., Bherer, L., Chevalier, S. (2021). Milk, yogurt and cheese intake is positively associated with cognitive executive functions in older adults of the Canadian Longitudinal Study on Aging. *Journals of Gerontology — Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 76(12), 2223–2231. <https://doi.org/10.1093/gerona/glab165>
- Amellal-Chibane, H., Benamara, S. (2011). Total contents of major minerals in the nature yoghurt and in the yoghurts with the date powder of three dry varieties. *American Journal of Food and Nutrition*, 1(2), 74–78. <https://doi.org/10.5251/abjna.2011.1.2.74.78>
- Ujjwainee, B., Rakibul, M., Roshni, P., Tanima, H., Gourisankar, R. (2017). Variety of yogurt and its health aspects — a brief review. *International Journal of Innovative Practice and Applied Research*, 7(7), 55–66.
- Masood, M. I., Qadir, M., Shirazi, J. H., Khan, I. U. (2011). Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. *Critical Reviews in Microbiology*, 37(1), 91–98. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2010.536522>
- Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., Zhao, G. (2017). Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties*, 20, S316–S330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>
- Mahomud, M. S., Katsuno, N., Nishizu, T. (2017). Role of whey protein-casein complexes on yoghurt texture. *Reviews in Agricultural Science*, 5, 1–12. <https://doi.org/10.7831/ras.5.1>
- Jang, H. D., Swaisgood, H. E. (1990). Disulfide bond formation between thermally denatured β -lactoglobulin and κ -casein in casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 73(4), 900–904. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78746-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78746-2)
- Dalgleish, D. G. (1990). Denaturation and aggregation of serum proteins and caseins in heated milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(11), 1995–1999. <https://doi.org/10.1021/jf00101a001>
- Damin, M. R., Alcántara, M. R., Nunes, A. P., Oliveira, M. N. (2009). Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *LWT*, 42(10), 1744–1750. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.019>
- Deshwal, G. K., Tiwari, S., Kumar, A., Raman, R. K., Kadyan, S. (2021). Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. *Trends in Food Science and Technology*, 109, 499–512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.057>
- Guenard-Lampron, V., St-Gelais, D., Villeneuve, S., Turgeon, S. L. (2020). Effect of stirring operations on changes in physical and rheological properties of nonfat yogurts during storage. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 210–214. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16434>
- Shinya, I. (2015). Functional and hydration properties of milk protein concentrate (MPC). *Milk Science*, 64(2), 127–137. <https://doi.org/10.11465/milk.64.127>
- Tunick, M. H. (2008). Whey Protein Production and Utilization: A Brief History. Chapter in a book: *Whey Processing, Functionality and Health Benefits*. Hoboken: Wiley-Blackwell (US). 2008. <https://doi.org/10.1002/9780813803845.ch1>
- Svanborg, S., Johansen, A., Abrahamsen, R. K., Skeie, S. B. (2015). The composition and functional properties of whey protein concentrates produced from buttermilk are comparable with those of whey protein concentrates produced from skimmed milk. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 5829–5840. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9039>
- Uluko, H., Liu, L., Lv, J.-P., Zhang, S.-W. (2016). Functional characteristics of milk protein concentrates and their modification. *Critical Reviews in*

- Food Science and Nutrition*, 56, 1193–1208. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.758625>
16. Drake, M. A., Chen, X. Q., Tamarapu, S., Leenanon, B. (2000). Soy protein fortification affects sensory, chemical, and microbiological properties of dairy yogurts. *Journal of Food Science*, 65(7), 1244–1247. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10272.x>
 17. Kovalenko, I. V., Briggs, J. L. (2002). Textural characterization of soy-based yogurt by the vane method. *Journal of Texture Studies*, 33(2), 105–118. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2002.tb01338.x>
 18. Kong, X., Xiao, Z., Du, M., Wang, K., Yu, W., Chen, Y. et al. (2022). Physicochemical, textural, and sensorial properties of soy yogurt as affected by addition of low acyl gellan gum. *Gels*, 8(7), Article 453. <https://doi.org/10.3390/gels8070453>
 19. Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E. J. (2004). Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14(2), 151–159. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00166-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00166-3)
 20. Gursel, A., Gursoy, A., Anli, E. A. K., Budak, S. O., Aydemir, S., Durlu-Ozkaya, F. (2016). Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2694–2703. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10393>
 21. Guggisberg, D., Eberhard, P., Albrecht, B. (2007). Rheological characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins. *International Dairy Journal*, 17(11), 1353–1359. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.013>
 22. Akalin, A. S., Unal, G., Dinkci, N., Hayaloglu, A. A. (2012). Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 95(7), 3617–3628. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5297>
 23. Rault, A., Bouix, M., Béal, C. (2009). Fermentation pH influences the physiological-state dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-controlled culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(13), 4374–4381. <https://doi.org/10.1128/AEM.02725-08>
 24. Bury, D., Jelen, P., Kimura, K. (1998). Whey protein concentrate as a nutrient supplement for lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 8(2), 149–151. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00033-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00033-8)
 25. Deshwal, G. K., Tiwari, S., Kumar, A., Raman, R. K., Kadyan, S. (2021). Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. *Trends in Food Science and Technology*, 109, 499–512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.057>
 26. Sodini, I., Lucas, A., Oliveira, M. N., Remeuf, F., Corrieu, G. (2002). Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2479–88. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74330-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74330-0)
 27. Zhao, Q., Wang, J., Zhao, M., Jiang, Y., Chun, C. (2006). Effect of Casein Hydrolysates on Yogurt Fermentation and Texture Properties during Storage. *Food Technology and Biotechnology*, 44, 429–434.
 28. Hashim, M. A., Nadtochi, L. A., Muradova, M. B., Proskura, A. V., Alsalem, K. A., Hammam, A. R. A. (2021). Non-fat yogurt fortified with whey protein isolate: Physicochemical, rheological, and microstructural properties. *Foods*, 10(8), Article 1762. <https://doi.org/10.3390/foods10081762>
 29. Mahomud, M. S., Katsuno, N., Nishizu, T. (2017). Formation of soluble protein complexes and yoghurt properties influenced by the addition of whey protein concentrate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 44, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.05.010>
 30. Puvanthiran, A., Williams, R. P., Augustin, M. A. (2002). Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 12(4), 383–391. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00033-X)
 31. Salunke, P., Metzger, L. E. (2022). Functional properties of milk protein concentrate and micellar casein concentrate as affected by transglutaminase treatment. *Food Hydrocolloids*, 137, Article 108367. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108367>
 32. Wee, M. S. M., Goh, A. T., Stieger, M., Forde, C.G. (2018). Correlation of instrumental texture properties from textural profile analysis (TPA) with eating behaviours and macronutrient composition for a wide range of solid foods. *Food and Function*, 9(10), 5301–5312. <https://doi.org/10.1039/c8fo00791h>
 33. Nastaj, M., Sołowiej, B. G., Gustaw, W., Peréz-Huertas, S., Mleko, S., Wesolowska-Trojanowska, M. (2019). Physicochemical properties of High-Protein-Set Yoghurts obtained with the addition of whey protein preparations. *International Journal of Dairy Technology*, 72(3), 395–402. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12603>
 34. Tsevdou, M., Eleftheriou, E., Taoukis, P. S. (2013). Transglutaminase treatment of thermally and high pressure processed milk: Effects on the properties and storage stability of set yoghurt. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 17, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.11.004>
 35. Mahomud, M. S., Katsuno, N., Zhang, L., Nishizu, T. (2017). Physical, rheological, and microstructural properties of whey protein enriched yogurt influenced by heating the milk at different pH values. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), Article e13236. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13236>
 36. Mousavi, M., Heshmati, A., Daraei Garmakhany, A., Vahidinia, A., Taheri, M. (2019). Texture and sensory characterization of functional yogurt supplemented with flaxseed during cold storage. *Food Science and Nutrition*, 7(3), 907–917. <https://doi.org/10.1002/fsn3.805>
 37. Delikanli, B., Ozcan, T. (2017). Improving the textural properties of yogurt fortified with milk proteins. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), Article e13101. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13101>
 38. Roesch, R. R., Corredig, M. (2005). Heat-induced soy-whey proteins interactions: formation of soluble and insoluble protein complexes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(9), 3476–3482. <https://doi.org/10.1021/jf048870d>
 39. Mitra, P., Nepal, K., Tavade, P. (2022). Effect of whey and soy proteins fortification on the textural and rheological properties of value-added yogurts. *Applied Food Research*, 2(2), Article 100195. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100195>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ		AUTHOR INFORMATION	
Принадлежность к организации		Affiliation	
Гурский Игорь Алексеевич — младший научный сотрудник, Лаборатория технологии мороженого, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-495-610-83-85 E-mail: iixrug@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8177-3472		Igor A. Gurskiy, Junior Researcher, Ice Cream Technology Laboratory, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostyikova str., 127422, Moscow, Russia Tel.: +7-495-610-83-85 E-mail: iixrug@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8177-3472	
Критерии авторства		Contribution	
Автор самостоятельно подготовил рукопись и несет ответственность за плагиат		Completely prepared the manuscript and is responsible for plagiarism	
Конфликт интересов		Conflict of interest	
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.		The author declare no conflict of interest.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45>

Поступила 16.02.2023

Поступила после рецензирования 09.03.2023

Принята в печать 14.03.2023

© Лепилкина О. В., Григорьева А. И., 2023



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

Обзорная статья

Open access

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ПРОТЕОЛИЗ ПРИ ПРЕОБРАЗОВАНИИ МОЛОКА В СЫР

Лепилкина О. В.*, Григорьева А. И.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

молоко, сыр, протеолиз,
плазмин, ферменты
молочнокислых бактерий,
сычужный фермент

АННОТАЦИЯ

Преобразование молока в сыр происходит под влиянием множества физико-химических, биохимических и микробиологических процессов, среди которых протеолизу отводится очень важная роль. Протеолиз относится к наиболее сложному типу необратимой посттрансляционной модификации белков. Катализаторами ферментативного протеолиза на разных стадиях производства сыра являются нативные ферменты молока, экзо- и эндопептидазы заквасочных и незаквасочных микроорганизмов, молокосвертывающие ферменты. В статье представлен краткий обзор современных представлений о свойствах, механизме действия и специфичности основных представителей ферментов, гидролизующих молочные белки на стадиях подготовки молока к свертыванию, во время сычужного свертывания и последующего созревания сыров. К ним относятся плазминовая система молока, ферменты психротрофных бактерий и молочнокислых микроорганизмов, попадающих в молоко как случайно (незаквасочная микрофлора), так и планируемо в виде заквасок из специально подобранных штаммов. Молокосвертывающие ферменты, выполнив свою основную функцию — свертывание молока, — частично переходят в сыр и наряду с ферментами заквасочных микроорганизмов и плазмином участвуют в протеолитических процессах при созревании сыра. Общеизвестно, что протеолиз в созревающих сырах является наиболее значимым биохимическим процессом, влияющим на формирование вкуса, аромата и консистенции наряду с липолизом и гликолизом. Сочетание продуктов протеолиза (пептидов, аминокислот, аминов и др.) индивидуально для разных видов сыров и меняется в зависимости от технологических параметров изготовления, в том числе от продолжительности созревания. Протеолиз в сырах исследовался многими учеными в различных аспектах. Этот обзор дополняет известные сведения новой информацией, не претендуя на всеобъемлемость.

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 16.02.2023

Accepted in revised 09.03.2023

Accepted for publication 14.03.2023

© Lepilkina O. V., Grigorieva A. I., 2023

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

Review article

Open access

ENZYMATIC PROTEOLYSIS DURING THE CONVERSION OF MILK INTO CHEESE

Olga V. Lepilkina*, Anastasiya I. Grigorieva

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

KEY WORDS:

milk, cheese, proteolysis, plasmin,
lactic acid bacteria enzymes,
rennet

ABSTRACT

The transformation of milk into cheese occurs under the influence of many physicochemical, biochemical and microbiological processes, among which proteolysis plays a very important role. Proteolysis belongs to the most complex type of irreversible post-translational modification of proteins. Enzymatic proteolysis catalysts at different stages of cheese production are native milk enzymes, exo- and endopeptidases of starter and non-starter microorganisms, and milk-clotting enzymes. The article presents a brief overview of modern ideas about the properties, mechanism of action and specificity of the main representatives of enzymes that hydrolyze milk proteins at the stages of preparing milk for coagulation, during rennet coagulation and subsequent maturation of cheeses. These include the plasmin system of milk, enzymes of psychrotrophic bacteria and lactic acid microorganisms that enter milk both accidentally (non-starter microflora) and planned in the form of starter cultures from specially selected strains. Milk-clotting enzymes, having fulfilled their main function — milk coagulation — partially pass into cheese and, along with enzymes of starter microorganisms and plasmin, participate in proteolytic processes during cheese ripening. It is generally accepted that proteolysis in ripening cheeses is the most significant biochemical process that affects the formation of taste, aroma and texture along with lipolysis and glycolysis. The combination of proteolysis products (peptides, amino acids, amines, etc.) is individual for different types of cheese and varies depending on the technological parameters of production, including the duration of maturation. Proteolysis in cheeses has been studied by many scientists in various aspects. This review supplements the known information with new information, without claiming to be comprehensive.

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

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Лепилкина, О. В., Григорьева, А. И. (2023). Ферментативный протеолиз при преобразовании молока в сыр. *Пищевые системы*, 6(1), 36-45. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45>

FOR CITATION: Lepilkina, O. V., Grigorieva, A. I. (2023). Enzymatic proteolysis during the conversion of milk into cheese. *Food Systems*, 6(1), 36-45. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45>

1. Введение

Наиболее ценной составной частью молока являются белки, разнообразные по строению, физико-химическим свойствам и биологическим функциям. Молочный протеом чрезвычайно сложен, он отличается высокой гетерогенностью из-за многочисленных генетических вариантов и изоформ [1]. На протеомный состав молока существенное влияние оказывают вид и порода жвачных животных [2,3], а также многочисленные посттрансляционные модификации, происходящие на протяжении всего цикла жизни белков: от синтеза в вымени лактирующего животного до процесса пищеварения в желудочно-кишечном тракте человека [4].

Молочные белки принято делить на две основные группы: казеины и сывороточные белки [5,6]. Российские исследователи выделяют третью группу — белки оболочек жировых глобул [7].

Казеины составляют около 80% белков молока. Они представлены четырьмя фракциями: α_{s1} -казеин, α_{s2} -казеин, β -казеин и κ -казеин. Приблизительное соотношение фракций казеина в общем количестве казеиновых белков: 38% α_{s1} -казеина, 10% α_{s2} -казеина, 35% β -казеина и 12% κ -казеина [5]. Есть мнение о гораздо большей гетерогенности казеинов, обнаруженной с помощью электрофореза в крахмальном или полиакриламидном геле. Она объясняется небольшими различиями в одном или нескольких казеинах. Эти незначительные вариации, называемые микрогетерогенностью, обусловлены пятью факторами: изменчивостью степени фосфорилирования, генетическим полиморфизмом, количеством дисульфидных связей, различиями в степени гликозилирования, гидролизом первичных казеинов плазмином [8,9].

Сывороточные белки, на долю которых приходится около 20% общего белка коровьего молока, также являются неоднородной фракцией. Суммарную фракцию сывороточных белков получают после выделения из молока казеина. Для этого используются разные способы: изоэлектрическое осаждение при pH 4,6, высаливание в насыщенном растворе NaCl или сычужное свертывание. Сывороточные белки, полученные этими методами, несколько различаются: кислая сыворотка содержит протеозопептоны, а сычужная — гликомакропептиды, образующиеся из κ -казеина при воздействии на него сычужного фермента. В сыворотке, полученной после осаждения казеина насыщенным раствором NaCl, не содержатся иммуноглобулины, так как они соосаждаются с казеинами. В кислой сыворотке четко определены две группы белков: лактальбумины и лактоглобулины. Лактоглобулиновая фракция представлена в основном иммуноглобулинами. Фракция лактальбумина содержит два основных белка: α -лактальбумин и β -лактоглобулин. Кроме того в ней содержатся несколько второстепенных белков, включая альбумин сыворотки крови и лактоферрин [5].

Белки, содержащиеся в оболочках жировых глобул, составляют всего 1–2% от общего количества белков коровьего молока, но на их долю приходится 25–70% от всех веществ, входящих в состав оболочечного вещества [10]. Современными методами протеомики выявлено более 100 белков в оболочках жировых глобул [11]. К основным, присутствующим в высоких концентрациях, относятся бутирофилин, ксантиндегидрогеназа/оксидаза, адипофилин, муцин-1, белок PAS III или муцин-15, белок CD36, белки PAS6/7 и белок, связывающий жирные кислоты. Кроме того, с оболочками жировой глобулы ассоциировано не менее 25 минорных белков [11,12]. К ним относятся ферменты, иммуноглобулины, белки цитоплазмы секреторно-

эпителиальных клеток, компоненты обезжиренного молока, белки молочных лейкоцитов [10].

Белкам присуща способность к различным межмолекулярным и внутримолекулярным взаимодействиям. В процессе преобразования молока в тот или иной молочный продукт они подвергаются многочисленным посттрансляционным модификациям. Это происходит под влиянием различных физических, химических и биохимических факторов, воздействующих на химические связи в молекуле белка. При разрыве внутримолекулярных связей (водородных, электростатических, дисульфидных) происходит денатурация белка: меняется его конформация. В случае разрыва ковалентных пептидных связей главной цепи белковой молекулы происходит ее распад на фрагменты с меньшей молекулярной массой. Это может быть достигнуто путем химического (кислотного, щелочного) или ферментативного гидролиза — протеолиза, представляющего собой сложный тип необратимой посттрансляционной модификации белков [13].

При изготовлении сыра особую роль играет ферментативный протеолиз. Он способствует текстурным изменениям сырной матрицы вследствие разрушения белковой сети, снижения активности воды за счет связывания воды высвободившимися карбоксильными и аминогруппами и повышения pH. Образующиеся при протеолизе пептиды и свободные аминокислоты напрямую влияют на вкус и запах сыра. Высвобожденные аминокислоты являются субстратом для вторичных катаболических изменений: переаминирования, дезаминирования, декарбоксилирования, десульфурации. Наряду с этим происходит катаболизм ароматических аминокислот и реакции аминокислот с другими соединениями [14].

Ферментативный протеолиз в сыре протекает под действием протеолитических ферментов — протеаз. Протеазы представляют собой большую и разнообразную группу гидролитических ферментов, которые классифицируются по их месту действия, структуре активного центра и специфическим механизмам реакции. Среди протеаз на основании их специфичности выделяют две группы: эндопептидазы (протеиназы) и экзопептидазы (пептидазы). Эндопептидазы расщепляют пептидную цепь белка в средних участках и гидролизуют ее на более мелкие фрагменты. Экзопептидазы действуют на концах пептидных цепей или вблизи них и обозначаются как аминокислотпептидазы и карбоксипептидазы, что указывает на их действие на N- или C-концах пептидных цепей. Эти ферменты могут быть дополнительно дифференцированы в зависимости от размера отщепляемой части, будь то, например, аминокислота, дипептид или трипептид [15].

При протеолизе эндо- и экзопептидазы действуют одновременно: первые образуют большое количество «концов», от которых затем экзопептидазами отщепляются аминокислоты. Преимущественное высвобождение аминокислот происходит во время созревания сыра [16].

Следует отметить, что термины «протеазы», «протеиназы» и «пептидазы» обычно используются как синонимы к словосочетанию «протеолитические ферменты», которые расщепляют пептидные связи. Согласно «Номенклатурному комитету Международного союза биохимии и молекулярной биологии (NC-IUBMB)», рекомендуется использовать термин «пептидаза» для любого фермента, который гидролизует пептидные связи [17].

Комплекс протеаз, действующих на протяжении всего периода изготовления сыра, представлен нативными ферментами молока, ферментами микроорганизмов закваски, молокосвертывающими ферментами, обладающими протеолитическими свойствами.

2. Протеолиз, катализируемый нативными ферментами молока

Начальная атака на казеин осуществляется нативными пептидазами молока, предпочтительно плазмином, переходящим из крови животного в молоко во время его синтеза в вымени. Именно в вымени начинается протеолиз отдельных фракций казеина. В результате в свежесвыдоенном молоке присутствует протеозо-пептонная фракция белков, а также γ -казеин, представляющий собой фрагмент β -казеина. Состав протеозо-пептонов меняется в зависимости от происхождения, состояния, продолжительности и температуры хранения молока [18].

Плазмин — основная нативная протеаза молока, которая является частью сложной системы, состоящей из плазминогена, активаторов плазминогена, ингибиторов активатора плазминогена, плазмينا и ингибиторов плазмينا. Активаторы плазминогена превращают неактивный плазминоген в активный плазмин, который затем может вызвать расщепление молочных белков. Ингибиторы плазмينا, присутствующие естественным образом в молоке, могут отключать плазминовую систему [19].

В свежем молоке плазмин, плазминоген и активаторы плазминогена связаны с мицеллой казеина, что делает деградацию казеинов очень эффективной, в то время как ингибиторы системы находятся в фазе сыворотки [20]. Предполагается, что повышенная активность фермента плазмينا является вероятной причиной нарушения технологических свойств молока коров, находящихся в познелактационном периоде либо страдающих маститом [16,21].

Плазминовая система довольно термостойка. Плазмин и плазминоген выдерживают условия пастеризации молока при pH 6,8, а также являются устойчивыми к кратковременному высокотемпературному термическому воздействию [19]. При длительной пастеризации при температурах выше 80 °C плазмин теряет свою активность [18]. Ингибитор активатора плазминогена термолабилен, он инактивируется при пастеризации молока. Вследствие этого в пастеризованном молоке увеличивается протеолитическая активность плазминовой системы.

Термическая обработка молока перед изготовлением сыра также может повлиять на протеолиз во время его созревания. Снижение гидролиза казеина во время созревания сыра, приготовленного из пастеризованного молока, связано с уменьшением активности плазмينا из-за термической инактивации активаторов плазминогена и ввиду взаимодействия между β -лактоглобулином и компонентами плазминовой системы при нагревании [18].

Термическая инактивация плазминовой системы усугубляется под высоким давлением. Borda и др. [22] исследовали термостабильность плазминовой системы молока, полученной ультрацентрифугированием и содержащей как плазминоген, так и плазмин в фосфатном буфере при pH 6,6. В диапазоне температур от 50 до 64 °C ученые наблюдали повышение активности плазмينا, что могло быть связано с инактивацией ингибиторов плазмينا. При более высоких температурах система демонстрировала кинетику инактивации первого порядка. В процессе воздействия на систему плазмينا высокого давления было установлено, что она сохраняет устойчивость при комнатной температуре. Синергетический эффект высокого давления и температуры наблюдался в диапазонах от 300 до 600 МПа и от 35 до 65 °C. При давлении выше 600 МПа появлялся эффект стабилизации. Авторы считают, что полученные результаты могут быть полезны для оценки применимости термических процессов при высоком давлении в производстве сыров или других молочных продуктов. При этом ученые признают

недостаток углубленных исследований структурных изменений и разрыва дисульфидных связей внутри плазмينا во время комбинированной термической обработки под высоким давлением [22].

Несомненно, наблюдаемое Borda и др. [22] изменение активности плазминовой системы молока связано с трансформациями структуры и ряда физических свойств казеиновых мицелл, которые происходят под влиянием высокого давления. Так, Будкевич Р. О. и др. [23], используя метод фотонно-корреляционной спектроскопии, показали, что обработка мицелл казеина давлением приводит к трансформации их размера, что обусловлено слипанием частиц (при давлении 50 МПа), и поэтапному дроблению при дальнейшем росте давления. Это сопровождается колебаниями уровня флуоресценции тирозина и триптофана, указывая на перегруппировку молекулярной структуры казеина. ИК-Фурье спектроскопия выявила изменение интенсивности оптической плотности в диапазоне амид I, амид II и валентных связей тирозина, подтверждая отсутствие формирования новых связей. Полученные физические данные указывают на изменение структуры казеиновых мицелл с увеличением доли (25%) крупных частиц после действия высокого давления (350 МПа).

Протеолиз, катализируемый плазмином, может оказывать как положительное, так и отрицательное воздействие на качество молочных продуктов. Так, в молоке, подвергнутом ультравысокотемпературной обработке, и в высокобелковых молочных напитках может произойти нежелательное гелеобразование. А в сыроделии протеолиз играет положительную роль, т.к. способствует формированию вкуса, аромата и консистенции сыров во время созревания [18,19].

О влиянии плазмينا на процесс сычужного свертывания молока имеются противоречивые сведения. Но большинство исследователей склонны считать, что плазмин влияет на этот процесс. Так, Villalobos и др. [24] было отмечено ухудшение параметров сычужного свертывания молока овец, страдающих маститом или перенесших это заболевание в предыдущую лактацию. Авторы связывают это с высокой активностью плазмينا в молоке с большим количеством соматических клеток. В этом случае ухудшались параметры сычужного свертывания из-за усиления распада казеина: увеличивалась продолжительность образования геля и уменьшалась его плотность. Но в более поздних исследованиях они не обнаружили связи между активностью плазмينا, количеством соматических клеток и параметрами процесса коагуляции [25,26]. Противоречивые результаты авторы объясняют отличиями между породами животных, а также различными методами, используемыми для измерения количества плазмينا.

Somers и др. [27] исследовали влияние активности плазмينا и холодного хранения молока на процесс сычужного свертывания при производстве сыра Моцарелла. С этой целью молоко хранили при 4 °C в течение 0, 24 и 48 часов с добавлением плазмينا и без него. В параллельных экспериментах изучали влияние инкубации молока с добавлением плазмينا в течение 2 ч при 37 °C перед пастеризацией и внесением сычужного фермента. Было установлено, что хранение в холодильнике очень мало повлияло на процесс сычужного свертывания молока. Кривые гелеобразования контрольного молока и молока, хранившегося в течение 24 и 48 ч, были практически идентичными. Но добавление экзогенного плазмينا оказало крайне негативное влияние на этот процесс, увеличивая время гелеобразования и снижая плотность образующегося геля. Эффект был наибольшим для молока, которое хранилось в течение 24 и 48 часов. Два часа выдержки при 37 °C также имели большой эффект. На основа-

нии этих результатов авторы делают вывод о том, что гидролиз казеина плазмином вреден для последующего сычужного свертывания. Вместе с тем Somers и др. [27] отмечают, что некоторые другие исследователи не обнаружили отрицательно влияния плазмينا на процесс сычужного свертывания.

Исследованиями Srinivasan и др. [21] показано, что гидролиз казеинов плазмином существенно влияет на реологические показатели гелей, полученных свертыванием молока сычужным ферментом. По мере увеличения распада казеина происходит линейное уменьшение жесткости, модуля упругости, предела текучести и линейное увеличение тангенса угла потерь (δ), что указывает на размягчение гелей. Даже при низких уровнях гидролиза казеина реологические свойства сычужных гелей изменялись, что могло отрицательно сказаться на выходе сыра и на его текстуре. С помощью конфокальной сканирующей лазерной микроскопии было показано, что при высоком уровне гидролиза казеина ($< 40\%$ интактных казеинов) микроструктура сычужных гелей резко изменялась [21]. Результаты этого исследования согласуются с данными, полученными Somers и др. [27] на овечьем молоке и подтверждают гипотезу о том, что повышенная активность плазмينا в молоке коров, находящихся в позднем лактационном периоде или страдающих маститом, может изменить сычужные свойства молока. При этом как отрицательный момент следует рассматривать также увеличение потерь белка с сывороткой вследствие усиленного гидролиза казеина с образованием продуктов с меньшей молекулярной массой [21].

Интересная гипотеза выдвинута Мироненко И. М. [28], которая освещает совместное действие нативных протеаз молока и ионного кальция в формировании сычужного геля. В соответствии с ней после воздействия сычужного фермента кальциевый обмен между водной фазой молока и внутримиллярной жидкостью оказывает влияние на перевод нативных протеаз молока, локализованных в мицеллах казеина, в активное состояние. Ионный кальций активирует внутримиллярные ферментативные процессы, вызывающие отщепление от белковых молекул концевых фрагментов, приводя белковые молекулы в реакционно-активное состояние. В частности, действие плазмينا на β -казеин ведет к разрыву пептидных связей с образованием γ -казеинов и фосфопептидов, формирующих в дальнейшем протеозопептонную фракцию подсырной сыворотки. Агрегация параказеиновых мицелл происходит за счет возникновения новых связей на их поверхности.

Логичными следует признать и выводы Мироненко И. М. [29] о том, что условия сычужного свертывания молока (рН 6,8–6,5 в диапазоне физиологических температур) являются комфортными для деятельности нативных щелочных протеаз молока. Поэтому алгоритмы их действия вполне могут быть вписаны в процесс формирования белкового геля при сычужном свертывании.

При внесении сычужного фермента в молоко плазмин и плазминоген свертываются вместе с мицеллами казеина и концентрируются в сырном зерне, переходя затем в сыр для участия в протеолизе при его созревании [29]. Вклад плазмينا в процесс созревания проявляется по-разному в сырах различных видов и зависит от таких факторов, как рН сыра во время созревания, температура свертывания молока и температура созревания сыра [18].

Плазмин действует преимущественно на β - и α_{s2} -казеины; α_{s1} -казеин менее чувствителен к гидролизу плазмином, чем β - и α_{s2} -казеины. В результате гидролиза β -казеина образуются γ_1 -, γ_2 -, γ_3 -казеины и протеозопептоны. При созревании сыра происходит преимущественное расщепление связи $\text{Lys}_{21}\text{-Gln}_{22}$ в α_{s2} -казеине. Вклад плазмينا в процесс проте-

олиза в сыре зависит от вида сыра и технологических параметров его изготовления. Например, было установлено, что активность плазмينا в сыре Эмменталь высокая, в сыре Гауда — средняя, а в Чеддере — низкая [30]. Невысокая активность плазмينا в сыре Чеддер объясняется низкими значениями рН. В сырах с высокой температурой второго нагревания типа Эмменталь плазмин, напротив, представляется важным протеолитическим агентом, так как большая часть химозина инактивируется. Плазмин, будучи термостойким ферментом, выдерживает высокую температуру второго нагревания.

Помимо плазмينا в молоке содержится несколько и других протеаз, но их влияние на протеолиз в сыре при созревании до сих пор не выявлено.

3. Протеолиз, катализируемый ферментами микроорганизмов

Высокая питательная ценность, высокая активность воды и почти нейтральный рН делают молоко идеальной средой для роста многих микроорганизмов [31]. В зависимости от санитарно-гигиенических условий дойки и содержания животных, методов санитарной обработки доильного и складского оборудования, состав микробиоты сырого молока может сильно отличаться в разных хозяйствах. Микробная популяция характеризует качество молока и может содержать как нежелательные (патогенные и вызывающие порчу продуктов), так и полезные (молочнокислые) микроорганизмы.

В молочной промышленности существует практика сбора и хранения молока при низких температурах до передачи на производство сыра. При низких температурах хранения (менее 7°C) в молоке развиваются психротрофные микроорганизмы, которые продуцируют внеклеточные ферменты, в основном пептидазы и липазы [32]. В отличие от липолитических ферментов, пептидазы, как правило, чрезвычайно термостабильны и выдерживают температуры пастеризации (77°C в течении 40 мин), а также высокотемпературную обработку молока (УНТ: 140°C в течении 4 с) [33]. Вследствие этого в молоке, поступающем на переработку в молочные продукты, наряду с плазмином присутствуют термостабильные внеклеточные бактериальные протеиназы, продуцируемые психротрофными микроорганизмами. Большая часть (около 80%) ферментативно активных изолятов психротрофных микроорганизмов, растущих в молоке, относятся к роду *Pseudomonas* [34].

Бактериальные пептидазы психротрофных микроорганизмов различаются по своей специфичности в отношении молочных белков и влияют на систему плазмينا, что может повлиять впоследствии на качество молочных продуктов. Они проявляют активность в широком диапазоне рН и температуры. Температурные оптимумы находятся в диапазоне $30\text{--}45^\circ\text{C}$, но и при более низких температурах пептидазы психротрофных микроорганизмов частично остаются активными. Термостабильные пептидазы психротрофов атакуют все формы казеина с преимущественным гидролизом κ -казеина, затем β -казеина и, наконец, α -казеина [35]. Гидролиз κ -казеина может привести к дестабилизации мицелл казеина и к образованию пептидов, имеющих горький вкус. Помимо вкусовых пороков пептидазы психротрофных микроорганизмов могут стать причиной гелеобразования в стерилизованном и ультрапастеризованном молоке при длительном хранении, а также вызывать текстурные дефекты сыра и других молочных продуктов [36].

К полезным микроорганизмам сырого молока относятся молочнокислые бактерии, которые попадают в молоко с поверхностей вымени, доильного оборудования и емкостей

для хранения из окружающей среды молочного предприятия [37]. Это так называемая аутохтонная микрофлора, постоянно обитающая на данном, конкретном предприятии. Следует отметить, что при производстве некоторых видов сыров, изготавливаемых из сырого молока, используются натуральные закваски с неконтролируемым составом молочнокислых микроорганизмов, различным на разных предприятиях. Аутохтонные молочнокислые бактерии играют важную роль в производстве и формировании органолептических показателей сыров из сырого молока, являясь основными участниками биохимических процессов: протеолиза, липолиза, гликолиза.

Pogačić и др. [38], изучили разнообразие и динамику штаммов типичных молочнокислых бактерий, попадающих в сыр Grana Padano из сырого молока и натуральной сывороточной закваски, во время его созревания. Сыры были изготовлены на шести различных предприятиях северной Италии. Установлено, что в состав микробиоты сыров входили 11 видов микроорганизмов: *St. thermophilus*, *Lb. delbrueckii subsp. lactis*, *Lb. helveticus*, *Lb. fermentum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lc. Lactis*, *Pc. acidilactici*, *E. faecalis*, *Lb. paraplantarum*. Молочнокислые бактерии в основном были представлены *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus* и *Pediococcus acidilactici*. При этом структура и динамика микробиоты в разных местах производства сыра были специфичны.

Во многих длительно созревающих сырах из сырого молока незаквасочные молочнокислые организмы доминируют и способствуют более глубокому созреванию сыров. Как правило, сыры, изготовленные из сырого молока, обладают более интенсивным вкусом, чем сыры из пастеризованного молока [39].

После пастеризации в молоке остается небольшое количество молочнокислых микроорганизмов (0–76 КОЕ/мл), но они быстро растут в сыре при созревании. Поэтому определение пределов колониеобразующих единиц незаквасочных молочнокислых бактерий в молоке должно быть разумным для выбора соответствующего качества сырого молока для производства сыра [40].

При оптимальном содержании молочнокислая микрофлора сырого молока играет положительную роль в созревании сыра, влияя на формирование его органолептических характеристик. Но она относится к незаквасочной микрофлоре, неконтролируемое развитие которой не позволяет получать сыры стабильного качества. Поэтому в сыроделии для поддержания типичности отдельных видов сыров используют закваски с отобранными штаммами и заданными технологическими характеристиками.

Интересно отметить, что промышленные закваски для большинства сыров основаны на одном виде, а именно на *Lactococcus lactis*. Существует много штаммов этого вида, используемых для производства различных видов сыра. Они обладают разными характеристиками, но общими биохимическими признаками: способностью продуцировать кислоту и преобразовывать молочный белок во вкусовые компоненты. Во время созревания сыра протеолиз считается самым важным процессом для получения желаемого вкуса и текстуры. Лактококки обладают протеолитической системой, которая вместе с другими ферментами (химозином, пепсином) гидролизуют казеин с образованием пептидов и аминокислот. Аминокислоты затем под действием ферментов превращаются в альдегиды, спирты, кетоны, амины, кислоты, сложные эфиры и серосодержащие соединения, которые вносят свой вклад во вкус и аромат сыра. И во всех этих превращениях участвуют *Lactococcus lactis* [39].

Lactococcus lactis — одна из самых известных молочнокислых бактерий, ставшая парадигмой с точки зрения понимания протеолиза и утилизации пептидов. Эта бактерия требовательна к питательным веществам. Например, большинство штаммов *L. lactis* являются ауксотрофными по нескольким аминокислотам: изолейцину, лейцину, валину, глутаминовой кислоте, гистидину и метионину [41]. Количество свободных аминокислот и компонентов азота в молоке в форме, непосредственно поглощаемой бактериями для молочнокислого брожения, недостаточно, поэтому молочнокислые бактерии должны получать эти ингредиенты путем разложения молочных белков, в основном казеина с помощью протеолитических ферментов [42].

Закваски, применяемые для производства сыров, состоят из нескольких видов молочнокислых бактерий. Помимо *Lactococcus lactis* в состав первичных заквасок входят *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* и *L. helveticus* [43].

Способность активно продуцировать протеолитические ферменты является одним из критериев отбора штаммов молочнокислых бактерий в состав заквасок для производства ферментированных пищевых продуктов, в том числе сыров. Эти ферменты играют важную роль в снабжении бактериальных клеток соединениями азота, а именно свободными аминокислотами, необходимыми для их роста и развития [44].

Протеолитические ферменты синтезируются внутри бактериальных клеток и в основном секретируются вне клетки. Бактериальная протеиназа, связанная с клеточной стенкой, гидролизует казеин сначала до олигопептидов, которые поглощаются клеткой с участием специфического пептидного транспорта и в дальнейшем под действием различных внутриклеточных пептидаз гидролизуются на короткоцепочечные пептиды и аминокислоты [45]. В настоящее время разработана модель микробной деградации казеина, транспорта и расщепления пептидов, а также регуляции стадий протеолиза [46].

Ферменты, продуцируемые различными видами молочнокислых бактерий, отличаются субстратной специфичностью и уровнем протеолитической активности [47]. Это учитывается при составлении композиций заквасочных культур с целью направленного регулирования процесса протеолиза при созревании сыров [48].

Молочнокислые бактерии вымирают в сыре во время его созревания, но их внутриклеточные ферменты, особенно пептидазы, высвобождаются и на протяжении всего срока созревания гидролизуют белки. На их долю приходится большая часть образующегося водорастворимого азота [49]. По приросту продуцирования низкомолекулярных полипептидов они намного превосходят молокосвертывающие ферментные препараты [48]. Протеазы мезофильных заквасочных бактерий в основном активны в отношении пептидов, уже присутствующих в сыре в больших количествах в результате начального протеолиза, вызванного сычужным ферментом [32]. В мягких сырах без созревания или созревающих непродолжительное время действие ферментов молочнокислых микроорганизмов затруднено, так как они не активны по отношению к интактным казеинам. По данным Franco и др. [50] в испанских сырах Ahumado de Áliva, изготавливаемых с использованием лиофилизированной молочнокислой мезофильной закваски (*Lactococcus lactis subsp. lactis* и *Lactococcus lactis subsp. cremoris*) и телячьего сычужного фермента, после созревания в течение 28 суток деградировали только 22% α_s -казеина и 9% β -казеина. Незначительный прирост растворимого (в том числе небелкового) азота говорил о слабом протеолизе

и что в данном случае основным протеолитическим агентом был сычужный фермент.

Различный состав микрофлоры заквасок в сочетании с технологическими особенностями производства обуславливает индивидуальные различия сыров разных видов по органолептическим показателям. Продуктам ферментативного гидролиза белка отводится в этом важная роль. В сырах с высокой температурой второго нагревания практически вся протеолитическая активность исходит от ферментов термофильных молочнокислых палочек. Их экзопептидазная активность, связанная с ферментами, расположенными на стенках живых микроорганизмов, сравнительно невелика. Поэтому вызываемый ими протеолиз на начальной стадии созревания сыра невысок. Отмирание микроорганизмов сопровождается лизисом их клеток, из которых выделяются эндопептидазы, вызывающие интенсивный протеолиз. Среди продуктов распада белка в сырах с высокой температурой второго нагревания заметная доля приходится на аминокислоты [49].

Сыры с низкой температурой второго нагревания созревают главным образом под действием ферментов мезофильной лактококковой микрофлоры. Протеазная активность у лактококков выражена сильнее, чем пептидазная. Поэтому в результате протеолиза в сырах с низкой температурой второго нагревания преимущественно образуются пептиды с разной длиной цепи [49].

4. Протеолиз, катализируемый молокосвертывающими ферментами

Ключевым моментом процесса изготовления сыра является превращение молока в гель, способный к синерезису. Это достигается путем добавления в выдержанное с закваской молоко сычужного фермента или других молокосвертывающих ферментов — заменителей сычужного фермента. Использование молокосвертывающих ферментов в технологии изготовления созревающих сыров обязательно. Это важный функционально-необходимый ингредиент, основной задачей которого является свертывание молока с образованием геля.

Традиционно в сыроделии используется телячий сычужный фермент. Он представляет собой смесь нескольких молекулярных и генетических разновидностей химозина и пепсина. Химозин доминирует в составе сычужного фермента теленка, а пепсин — в сычужном ферменте взрослого животного. Содержание пепсина в сычужном ферменте зависит от возраста животного на момент убоя [51].

На начальной стадии свертывания молока химозин проявляет специфическую протеолитическую активность в отношении пептидной связи $\text{Phe}_{105} - \text{Met}_{106}$ в молекуле κ -казеина. В результате разрыва этой пептидной связи в сывороточную фазу высвобождается гидрофильный гликомакропептид. Остальная N-концевая часть κ -казеина, называемая пара- κ -казеином, остается связанной с мицеллой. Постепенная потеря гликомакропептида сопровождается снижением ζ -потенциала мицелл. Это приводит к их дестабилизации и агрегации до состояния геля [52,53]. Агрегирование мицелл происходит, когда около 97% κ -казеина в мицелле гидролизовалось [54].

В отличие от химозина, который преимущественно гидролизует пептидную связь $\text{Phe}_{105} - \text{Met}_{106}$, пепсин гораздо менее специфичен и гидролизует пептидные связи с остатками Leu, Phe, Tyr и Val [55]. Он специфичен, главным образом, по отношению к пептидным связям ароматических и объемных алифатических аминокислотных остатков, а также к связям, включающим глутаминовую кислоту [56]. Есть сведения о гидролизе пепсином белков оболочек жи-

ровых глобул [57]. При этом основные белки оболочек гидролизировались с разной скоростью: бутирофилин оказался более устойчивым, чем ксантиноксидаза, PAS-6 или PAS-7.

Высокая скорость неспецифического протеолиза, вызванного пепсином, может стать причиной получения дряблого геля, а также привести к большим потерям белка и жира с сывороткой. Интенсивный протеолиз при созревании сыров способен стать причиной появления пороков вкуса (горечь) и консистенции (мажущаяся, излишне мягкая). Для того чтобы избежать этого и получить сыры высокого качества, важно использовать молоко с кислотностью не более 18 °Т и регулировать процесс нарастания кислотности в сыроизготовителе, не допуская снижения величины pH в сырной массе ниже 5,1. Это условие необходимо соблюдать, чтобы ограничить протеолитическую активность пепсина, которая резко возрастает при pH ниже 5,0 [58].

Широкую протеолитическую активность проявляют также заменители сычужного фермента — микробные и растительные. Они расщепляют большее число связей, чем телячий химозин, не ограничиваясь κ -казеином [59,60]. Критерием, определяющим пригодность заменителя сычужного фермента для свертывания молока в сыроделии, является величина отношения его молокосвертывающей активности к общей протеолитической активности. Для производства сыра пригодны только те ферменты, которые характеризуются высокими значениями этого соотношения [52,61]. Под молокосвертывающей активностью понимается специфическая протеолитическая активность в отношении связи $\text{Phe}_{105} - \text{Met}_{106}$ в κ -казеине. Химозин, составляющий основу телячьего сычужного фермента, служит для этого эталоном, так как обладает высокой молокосвертывающей активностью и низкой общей протеолитической активностью.

По сравнению с химозином, молокосвертывающие ферменты микробного происхождения характеризуются неспецифическим гидролизом и κ -казеина, и пара- κ -казеина [52,59]. Отношение их молокосвертывающей активности к общей протеолитической активности в среднем в 4 раза ниже, чем у молокосвертывающих ферментов животного происхождения, к которым относится телячий сычужный фермент [61].

Применение некоторых растительных ферментов, например, актинидина (получают из плодов киви), позволяет получать сыры с органолептическими показателями, подобными тем, что производятся с использованием сычужного фермента. Другие растительные ферменты, такие как протеазы имбиря или кукумизин (выделяют из мякоти мускусной дыни), обладают чрезмерной протеолитической активностью и способствуют развитию очень разных текстур и вкусов сыров с риском образования горьких пептидов. Для таких молокосвертывающих ферментов с высоким неспецифическим действием было разработано несколько усовершенствованных стратегий производства сыров. Так, например, эффективным способом улучшения текстуры и снижения горечи может быть применение растительного фермента в смеси с химозином. Положительно влияет увеличение продолжительности посолки сыра при созревании, а также использование молока, подвергнутого ультрафильтрации или концентрированию. Применение последних приемов обосновывается тем, что увеличение концентрации белков снижает риск слишком высокого общего протеолиза и образования горьких пептидов [60].

Неспецифическая протеолитическая активность заменителей сычужного фермента приводит к тому, что уже в процессе обработки зерна образуются водорастворимые пептиды, необратимо переходящие в сыворотку. Это влечет за собой снижение выхода сыра [59]. В этом случае сыворотку

рекомендуется использовать для производства сыров [60].

Использование в сыроделии растительных ферментов не имеет широкого распространения. Основные причины: низкое соотношение молокосвертывающей и протеолитической активности, низкий выход сыра, дорогостоящая процедура экстракции ферментов из растительного сырья [30,61].

Действие молокосвертывающего фермента не заканчивается образованием молочного геля. Большая часть вносимого в молоко сычужного фермента теряется вместе с сыворожкой, но некоторое его количество сохраняется в геле. В зависимости от вида, количество молокосвертывающего фермента, переходящего в сыр, различно. Это связано с разной термоустойчивостью, степенью связи с молекулами казеина, а также с технологическими параметрами процесса изготовления сыра (рН, температура второго нагревания, содержание влаги в сырном зерне в конце обработки) [59].

Переходя в сыр, сычужный фермент играет главную роль на начальной стадии протеолиза казеинов при созревании сыра [62]. Химозин сначала расщепляет α_{s1} -казеин по связи Phe₂₃–Phe₂₄. Следующими расщепляемыми связями являются Leu₁₀₁–Lys₁₀₂ и Trp₁₆₄–Tyr₁₆₅. Эти связи расщепляются химозином с гораздо меньшей скоростью по сравнению с первичным расщеплением связи Phe₂₃–Phe₂₄. Скорость гидролиза разных пептидных связей зависит от ионной силы и значения рН. Считается, что α_{s2} -казеин и пара- κ -казеин устойчивы к протеолизу под действием химозина. Их гидролиз в сыре носит ограниченный характер. В β -казеине химозин быстрее всего расщепляет пептидную связь Leu₁₉₂–Tyr₁₉₃ и несколько медленнее — связи Ala₁₈₉–Phe₁₉₀, Leu₁₆₅–Ser₁₆₆, Gln₁₆₇–Ser₁₆₈, Leu₁₃₉–Leu₁₄₀ и Leu₁₂₇–Trp₁₂₈ [30].

Высококачественный (очищенный) телячий сычужный фермент содержит около 10% коровьего пепсина, но во многих промышленно выпускаемых ферментных препаратах содержится до 80% пепсина. Говяжий пепсин осуществляет гидролиз казеина главным образом в тех же областях, что и химозин. Но его действие гораздо менее специфично, поэтому высвобождается больше разных пептидов. Он участвует в гидролизе большего числа специфических пептидных связей α_{s1} -, α_{s2} - и β -казеинов, чем химозин [30].

Сычужный фермент особенно активен в сырах, приготовленных с использованием мезофильной закваски. Сыры, изготовленные из термофильных заквасок, обычно готовят при более высоких температурах, которые инактивируют протеолитическую активность сычужного фермента в сыре [32].

Во время созревания происходит множество биохимических и физико-химических изменений, при которых

белки распадаются на более мелкие фрагменты: пептиды, аминокислоты, амины, кислоты, тиолы, тиоэфиры. В правильных сочетаниях с продуктами липолиза и гликолиза эти соединения играют важную роль в формировании характерных органолептических показателей различных сыров [63].

Заключение

В основе производства большинства сыров лежат протеолитические процессы, непрерывно протекающие с разной степенью интенсивности на протяжении всего цикла изготовления сыра. Катализаторами ферментативного протеолиза на разных стадиях производства сыра являются нативные ферменты молока; экзо- и эндопептидазы заквасочных и незаквасочных микроорганизмов; молокосвертывающие ферменты.

Начальная стадия протеолиза происходит в молоке под действием нативных ферментов молока, в первую очередь, плазмина, который действует преимущественно на β - и α_{s2} -казеины. При хранении молока перед производством сыра при низких температурах в нем развиваются психротрофные микроорганизмы, продуцирующие протеолитические ферменты. Термостабильные пептидазы психротрофов атакуют все формы казеина с преимущественным гидролизом κ -казеина, затем β -казеина и, наконец, α -казеина. Ферменты молочнокислых микроорганизмов заквасок в зависимости от вида различаются субстратной специфичностью и уровнем протеолитической активности, гидролизуя практически все фракции казеина. Вклад в общий протеолиз вносится и молокосвертывающими ферментами, часть которых сохраняется в структуре сыра. В процессе свертывания молока основной компонент сычужного фермента — химозин — проявляет специфичность по отношению пептидной связи Phe₁₀₅–Met₁₀₆ в κ -казеине. А на начальной стадии протеолиза при созревании сыра он расщепляет пептидные связи α_{s1} -казеина. Сопутствующий химозину пепсин менее специфичен и гидролизует большее число пептидных связей α_{s1} -, α_{s2} - и β -казеинов.

Таким образом, все фракции казеина претерпевают необратимые изменения, непрерывно подвергаясь протеолизу на всех стадиях изготовления сыра. Особо важное значение протеолиз имеет на стадии созревания, когда проявляется совокупное действие всех протеолитических агентов, присутствующих в сыре. Разнообразные продукты протеолиза (пептиды, аминокислоты, ароматические соединения) при правильном сочетании с продуктами липолиза и гликолиза формируют характерный вкус различных сыров.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Thompson, A., Boland, M., Singh, H. (2009). Milk proteins: from expression to food. Academic Press, 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374039-7.X0001-3>
- D'Ambrosio, C., Arena, S., Salzano, A. M., Renzone, G., Ledda, L., Scaloni, A. (2008). A proteomic characterization of water buffalo milk fractions describing PTM of major species and the identification of minor components involved in nutrient delivery and defense against pathogens. *Proteomics*, 8(17), 3657–3666. <https://doi.org/10.1002/pmic.200701148>
- Rout, P.K., Verma, M. (2021). Post translational modifications of milk proteins in geographically diverse goat breeds. *Scientific Reports*, 11, Article 5619. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85094-9>
- Baptista, D.P., Gigante, M.L. (2021). Bioactive peptides in ripened cheeses: release during technological processes and resistance to the gastrointestinal tract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), 4010–4017. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11143>
- Goulding, D.A., Fox, P.F., O'Mahony, J.A. (2020). Milk proteins: An overview. Chapter in a book: Milk Proteins: From Expression to Food. Amsterdam: Elsevier, 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815251-5.00002-5>
- Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H., O'Mahony, J.A. (2015). Milk proteins. Chapter in a book: Dairy Chemistry and Biochemistry. Springer International Publishing Switzerland, 2015. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>
- Горбатова, К.К., Гунькова, П.И. (2010). Биохимия молока и молочных продуктов. СПб.: ГИОРД, 2010.
- Holland, J.W. (2008). Post-translational modifications of caseins. Chapter in a book: Milk Proteins: From Expression to Food. Amsterdam: Elsevier, 2008. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374039-7.00004-0>
- O'Mahony, J. A., Fox, P. F. (2012). Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects. Chapter in a book: Advanced Dairy Chemistry. Springer, Boston, 2012. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4714-6_2
- Guerin, J., Burgain, J., Gomand, F., Scher, J., Gaiani, C. (2017). Milk fat globule membrane glycoproteins: Valuable ingredients for lactic acid bacteria encapsulation? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(4), 639–651. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1386158>
- Lopez, C., Cauty, C., Guyomarc'h, F. (2018). Unravelling the complexity of milk fat globules to tailor bioinspired emulsions providing health benefits: the key role played by the biological membrane. *European Journal*

- of *Lipid Science and Technology*, 121(10), Article 1800201. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800201>
12. Ельчанинов, В.В. (2019). Белки мембраны молочной жировой глобулы. 1. Генез и структура жировой глобулы молока, номенклатура белков мембраны. *Молочная промышленность*, 7, 24–27.
 13. Rogers, L.D., Overall, C.M. (2013). Proteolytic post-translational modification of P-proteins: Proteomic tools and methodology. *Molecular and Cellular Proteomics*, 12(12), 3532–3542. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.031310>
 14. Sousa, M.J., Ardö, Y., McSweeney, P.L.H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11(4–7), 327–345. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00062-0)
 15. Ward, O.P. (2011). 3.49 — Proteases. *Comprehensive Biotechnology*, 571–582. PMID: PMC7152071. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-088504-9.00222-1>
 16. Ardö, Y. (2021). Enzymes in cheese ripening. Chapter in a book: Agents of Change. Enzymes in Milk and Dairy Products. Switzerland: Springer, Cham., 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_15
 17. Webb, E.C. (1992). Enzyme nomenclature 1992. Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes. San Diego: Academic Press, 1992.
 18. France, T.C., O'Mahony, J.A., Kelly, A.L. (2021). The plasmin system in milk and dairy products. Chapter in a book: Agents of Change. Food Engineering Series. Springer, Cham., 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_2
 19. Nielsen, S.S. (2002). Plasmin system and microbial proteases in milk: Characteristics, roles, and relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6628–6634. <https://doi.org/10.1021/jf0201881>
 20. Crudden, A., Kelly, A.L. (2003). Studies of plasmin activity in whey. *International Dairy Journal*, 13(12), 987–993. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(03\)00140-7](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(03)00140-7)
 21. Srinivasan, M., Lucey, J.A. (2002). Effects of added plasmin on the formation and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. *Journal of Dairy Science*, 85(5), 1070–1078. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(02\)74167-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(02)74167-2)
 22. Borda, D., Indrawati, Smout, C., Van Loey, A., Hendrickx, M. (2004). High pressure thermal inactivation kinetics of a plasmin system. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2351–2358. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(04\)73357-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(04)73357-3)
 23. Budkevich, R.O., Eremina, A.I., Evdokimov, I.A., Fedortsov, N.M., Martak, A.A., Budkevich, E.V. (2018). The physical properties of the casein in solution: effect of ultra-high pressure. *Food Systems*, 1(3), 4–12. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-3-4-12>
 24. Villalobos, J.C., Sigler, A.I.G., Oliete, B., Sánchez, R.A., Jiménez, L., Sánchez, N.N. et al. (2015). Relationship of somatic cell count and composition and coagulation properties of ewe's milk. *Mljekarstvo*, 65(2), 138–143. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2015.0208>
 25. Villalobos, J.C., Garzón, A.I., Martínez Marín, A.L., Arias, R., Ciocia, F., McSweeney, P.L.H. (2018). Plasmin activity in Manchega ewe milk: The effect of lactation, parity and health of the udder, and its influence on milk composition and rennet coagulation. *Small Ruminant Research*, 158, 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.005>
 26. Sánchez, A.F., Muñoz, J.P., Villalobos, J.C., Sánchez, R.A., Garzón, A., de Pedro, E.A.S. (2021). Coagulation process in Manchega sheep milk from Spain: A path analysis approach. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7544–7554. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19187>
 27. Somers, J.M., Guinee, T.P., Kelly, A.L. (2002). The effect of plasmin activity and cold storage of cheese milk on the composition, ripening and functionality of mozzarella-type cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 55(1), 5–11. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00050.x>
 28. Мироненко, И.М. (2021). Функции ионного кальция и нативных протеаз молока в процессе сычужного свертывания. *Сыроделье и маслоделие*, 1, 25–28. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-25-28>
 29. Мироненко, И.М. (2019). Вероятные участники процесса сычужного свертывания молока. *Сыроделье и маслоделие*, 4, 20–23.
 30. Ardö, Y., McSweeney, P.L.H., Magboul, A.A., Upadhyay, V.K., Fox, P.F. (2017). Biochemistry of cheese ripening: Proteolysis. Chapter in a book: Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology. Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00018_1
 31. Ozer, B.B., Akdemir-Evrendilek, G. (2014). Microbiology of Raw Milk. Chapter in a book: Dairy Microbiology and Biochemistry. Boca-Raton: CRC Press, 2017.
 32. Glück, C., Stessler, T., Fischer, L. (2021). Heat-stable microbial peptidases associated with the microbiota of raw milk. Chapter in a book: Agents of Change. Enzymes in Milk and Dairy Products. Switzerland: Springer, Cham., 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_11
 33. Pukančíková, L., Lipničanová, S., Kačániová, M., Chmelová, D., Ondrejovič, M. (2016). Natural microflora of raw cow milk and their enzymatic spoilage potential. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 15(2), 142–155. <https://doi.org/10.1515/nbec-2016-0015>
 34. Baur, C., Krewinkel, M., Kranz, B., von Neubeck, M., Wenning, M., Scherer, S. et al. (2015). Quantification of the proteolytic and lipolytic activity of microorganisms isolated from raw milk. *International Dairy Journal*, 49, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.04.005>
 35. Datta, N., Deeth, H.C. (2003). Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. *LWT — Food Science and Technology*, 36(2), 173–182. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(02\)00214-1](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(02)00214-1)
 36. Kelly, A.L., Larsen, L.B. (2021). Agents of change: Enzymes in milk and dairy products. Springer Cham, 2021. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8>
 37. Settanni, L., Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), 691–697. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>
 38. Pogačić, T., Mancini, A., Santarelli, M., Bottari, B., Lazzi, C., Neviani, E. et al. (2013). Diversity and dynamic of lactic acid bacteria strains during aging of a long ripened hard cheese produced from raw milk and undefined natural starter. *Food Microbiology*, 36(2), 207–215. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.05.009>
 39. Wouters, J. T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., Smit, G. (2002) Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12(2–3), 91–109. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00151-0)
 40. Bluma, A., Ciprovica, I. (2015). Diversity of lactic acid bacteria in raw milk. *Research for Rural Development*, 1, 157–161.
 41. Hernandez-Valdes, J.A.; van Gestel, J.; Kuipers, O.P. (2020). A ribo-switch gives rise to multi-generational phenotypic heterogeneity in an auxotrophic bacterium. *Nature Communications*, 11(1), e00133. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15017-1>
 42. Tagliazucchi, D., Martini, S., Solieri, L. (2019). Bioprospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented dairy food. *Fermentation*, 5(96), Article 96. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>
 43. Parente, E., Cogan, T.M., Powell, I.B. (2017). Starter cultures: General aspects. Chapter in a book: Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology. Academic Press, 2017. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00008_1
 44. Китаевская, С.В., Пономарев, В.Я., Решетник, О.А. (2022). Оценка протеолитической активности новых штаммов лактобацилл с крио-резистентными свойствами. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 12(1), 76–86. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>
 45. Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., Kot, A.M. (2021). Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria. *Molecules*, 26(7), Article 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
 46. Korhonen, H., Pihlanto, A. (2003). Food — derived bioactive peptides—opportunities for designing future foods. *Current Pharmaceutical Design*, 9(16), 1297–1308. <https://doi.org/10.2174/1381612033454892>
 47. Головач, Т.Н., Жабанос, Н.К., Фурик, Н.Н., Курченко, В.П., Ризевский, С.В. (2013). Субстратная специфичность и уровень ферментной активности при расщеплении белковых фракций молока пробиотическими микроорганизмами. *Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья*, 8, 130–142.
 48. Оледов, Н. И. Гришкова, А.В., Белов, А.Н. (2019). К вопросу направленного регулирования протеолитических процессов в сырах. *Сыроделье и маслоделие*, 5, 24–26. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-5-24-26>
 49. Мягконосов, Д.С., Мордвинова, В.А., Абрамов, Д.В., Делицкая, И.Н. (2014). Особенности протеолиза у сыров различных видовых групп. *Сыроделье и маслоделие*, 2, 24–27.
 50. Franco, I., Prieto, B., Urdiales, R., Fresno, J.M., Carballo, J. (2001). Study of the biochemical changes during ripening of Ahumado de Aliva cheese: a Spanish traditional variety. *Food Chemistry*, 74(4), 463–469. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(01\)00164-9](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(01)00164-9)
 51. Rampilli, M., Larsen, R., Harboe, M. (2005). Natural heterogeneity of chymosin and pepsin in extracts of bovine stomachs. *International Dairy Journal*, 15(11), 1130–1137. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.10.003>
 52. Horne, D.S., Lucey, J.A. (2017). Rennet-induced coagulation of milk. Chapter in a book: Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00005-3>
 53. Britten, M., Giroux, H.J. (2021). Rennet coagulation of heated milk: A review. *International Dairy Journal*, 124, Article 105179. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105179>
 54. Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2016). Enzymatic coagulation of milk. Chapter in a book: Fundamentals of Cheese Science, New York: Springer, 2016. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_7
 55. Jaros, D., Rohm, H. (2017). Rennets: Applied aspects. Chapter in a book: Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology. Academic Press, 2017. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00003_1
 56. Кригер, А.В., Белов, А.Н. (2010). Влияние ферментных композиций на протеолиз в сырах. *Сыроделье и маслоделие*, 3, 38–40.
 57. Ye, A., Cui, J., Singh, H. (2011). Proteolysis of milk fat globule membrane proteins during in vitro gastric digestion of milk. *Journal of Dairy Science*, 94(6), 2762–2770. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4099>
 58. Абрамов, Д.В., Мягконосов, Д.С., Делицкая, И.Н., Мордвинова, В.А., Муничева, Т.Э., Овчинникова, Е.Г. (2019). Перспективы применения комплексных МФП для производства созревающих сычужных сыров. *Сыроделье и маслоделие*, 1, 24–26. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-1-24-26>
 59. Мягконосов, Д.С., Абрамов, Д.В., Овчинникова, Е.Г., Муничева, Т.Э. (2019). Перспективы использования микробных заменителей тимо-зины в сыроделии. *Сыроделье и маслоделие*, 4, 14–17.

60. Amira, A. B., Besbes, S., Attia, H., Blecker, C. (2017). Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S76–S93. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1289959>
61. Мяконосов, Д.С., Абрамов, Д.В., Делицкая, И.Н., Овчинникова, Е.Г. (2022). Протеолитическая активность молокосвертывающих ферментов разного происхождения. *Пищевые системы*, 5(1), 47–54. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-47-54>
62. Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., Farag, M. A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.009>
63. Fox, P.F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72(6), 1379–1400. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79246-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79246-8)

REFERENCES

1. Thompson, A., Boland, M., Singh, H. (2009). Milk proteins: from expression to food. Academic Press, 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374039-7.X0001-3>
2. D'Ambrosio, C., Arena, S., Salzano, A. M., Renzone, G., Ledda, L., Scaloni, A. (2008). A proteomic characterization of water buffalo milk fractions describing PTM of major species and the identification of minor components involved in nutrient delivery and defense against pathogens. *Proteomics*, 8(17), 3657–3666. <https://doi.org/10.1002/pmic.200701148>
3. Rout, P.K., Verma, M. (2021). Post translational modifications of milk proteins in geographically diverse goat breeds. *Scientific Reports*, 11, Article 5619. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85094-9>
4. Baptista, D.P., Gigante, M.L. (2021). Bioactive peptides in ripened cheeses: release during technological processes and resistance to the gastrointestinal tract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), 4010–4017. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11143>
5. Goulding, D.A., Fox, P.F., O'Mahony, J.A. (2020). Milk proteins: An overview. Chapter in a book: Milk Proteins: From Expression to Food. Amsterdam: Elsevier, 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815251-5.00002-5>
6. Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H., O'Mahony, J.A. (2015). Milk proteins. Chapter in a book: Dairy Chemistry and Biochemistry. Springer International Publishing Switzerland, 2015. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>
7. Gorbatova, K.K., Gunkova, P.I. (2010). Biochemistry of milk and dairy products. Saint-Petersburg: GIOR, 2010. (In Russian)
8. Holland, J.W. (2008). Post-translational modifications of caseins. Chapter in a book: Milk Proteins: From Expression to Food. Amsterdam: Elsevier, 2008. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374039-7.00004-0>
9. O'Mahony, J. A., Fox, P. F. (2012). Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects. Chapter in a book: Advanced Dairy Chemistry. Springer, Boston, 2012. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4714-6_2
10. Guerin, J., Burgain, J., Gomand, F., Scher, J., Gaiani, C. (2017). Milk fat globule membrane glycoproteins: Valuable ingredients for lactic acid bacteria encapsulation? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(4), 639–651. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1386158>
11. Lopez, C., Cauty, C., Guyomarc'h, F. (2018). Unravelling the complexity of milk fat globules to tailor bioinspired emulsions providing health benefits: the key role played by the biological membrane. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(10), Article 1800201. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800201>
12. Elchaninov, V.V. (2019). The proteins of milk fat globule membrane. 1. Genesis and structure of the milk fat globule, nomenclature of proteins of milk fat globule membrane. *Dairy Industry*, 7, 24–27. (In Russian)
13. Rogers, L. D., Overall, C. M. (2013). Proteolytic post-translational modification of P₁proteins: Proteomic tools and methodology. *Molecular and Cellular Proteomics*, 12(12), 3532–3542. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.031310>
14. Sousa, M.J., Ardö, Y., McSweeney, P.L.H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11(4–7), 327–345. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00062-0)
15. Ward, O.P. (2011). 3.49 – Proteases. *Comprehensive Biotechnology*, 571–582. PMID: PMC7152071. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-088504-9.00222-1>
16. Ardö, Y. (2021). Enzymes in cheese ripening. Chapter in a book: Agents of Change. Enzymes in Milk and Dairy Products. Switzerland: Springer, Cham., 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_15
17. Webb, E.C. (1992). Enzyme nomenclature 1992. Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes. San Diego: Academic Press, 1992.
18. France, T.C., O'Mahony, J.A., Kelly, A.L. (2021). The plasmin system in milk and dairy products. Chapter in a book: Agents of Change. Food Engineering Series. Springer, Cham., 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_2
19. Nielsen, S.S. (2002). Plasmin system and microbial proteases in milk: Characteristics, roles, and relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6628–6634. <https://doi.org/10.1021/jf0201881>
20. Crudden, A., Kelly, A.L. (2003). Studies of plasmin activity in whey. *International Dairy Journal*, 13(12), 987–993. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(03\)00140-7](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(03)00140-7)
21. Srinivasan, M., Lucey, J.A. (2002). Effects of added plasmin on the formation and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. *Journal of Dairy Science*, 85(5), 1070–1078. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74167-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74167-2)
22. Borda, D., Indrawati, Smout, C., Van Loey, A., Hendrickx, M. (2004). High pressure thermal inactivation kinetics of a plasmin system. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2351–2358. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73357-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73357-3)
23. Budkevich, R.O., Eremina, A.I., Evdokimov, I.A., Fedortsov, N.M., Martak, A.A., Budkevich, E.V. (2018). The physical properties of the casein in solution: effect of ultra-high pressure. *Food Systems*, 1(3), 4–12. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-3-4-12>
24. Villalobos, J.C., Sigler, A.I.G., Olette, B., Sánchez, R.A., Jiménez, L., Sánchez, N.N. et al. (2015). Relationship of somatic cell count and composition and coagulation properties of ewe's milk. *Mljekarstvo*, 65(2), 138–143. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2015.0208>
25. Villalobos, J.C., Garzón, A.I., Martínez Marín, A.L., Arias, R., Ciocia, F., McSweeney, P.L.H. (2018). Plasmin activity in Manchega ewe milk: The effect of lactation, parity and health of the udder, and its influence on milk composition and rennet coagulation. *Small Ruminant Research*, 158, 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.10.005>
26. Sánchez, A.F., Muñoz, J.P., Villalobos, J.C., Sánchez, R.A., Garzón, A., de Pedro, E.A.S. (2021). Coagulation process in Manchega sheep milk from Spain: A path analysis approach. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7544–7554. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19187>
27. Somers, J.M., Guinee, T. P., Kelly, A.L. (2002). The effect of plasmin activity and cold storage of cheese milk on the composition, ripening and functionality of mozzarella-type cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 55(1), 5–11. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00030.x>
28. Mironenko, I.M. (2021). Functions of ionic calcium and native milk proteases in the process of rennet clotting. *Cheesemaking and Buttermaking*, 1, 25–28. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-25-28> (In Russian)
29. Mironenko, I.M. (2019). Probable participants in the process of rennet coagulation of milk. *Cheesemaking and Buttermaking*, 4, 20–23. (In Russian)
30. Ardö, Y., McSweeney, P.L.H., Magboul, A.A., Upadhyay, V.K., Fox, P.F. (2017). Biochemistry of cheese ripening: Proteolysis. Chapter in a book: Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology. Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00018_1
31. Ozer, B.B., Akdemir-Evrendilek, G. (2014). Microbiology of Raw Milk. Chapter in a book: Dairy Microbiology and Biochemistry. Boca-Raton: CRC Press, 2017.
32. Glück, C., Stressler, T., Fischer, L. (2021). Heat-stable microbial peptidases associated with the microbiota of raw milk. Chapter in a book: Agents of Change. Enzymes in Milk and Dairy Products. Switzerland: Springer, Cham., 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_11
33. Pukančíková, L., Lipničanová, S., Kačániová, M., Chmelová, D., Ondrejovič, M. (2016). Natural microflora of raw cow milk and their enzymatic spoilage potential. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 15(2), 142–155. <https://doi.org/10.1515/nbec-2016-0015>
34. Baur, C., Krewinkel, M., Kranz, B., von Neubeck, M., Wenning, M., Scherer, S. et al. (2015). Quantification of the proteolytic and lipolytic activity of microorganisms isolated from raw milk. *International Dairy Journal*, 49, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.04.005>
35. Datta, N., Deeth, H.C. (2003). Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. *LWT – Food Science and Technology*, 36(2), 173–182. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(02\)00214-1](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(02)00214-1)
36. Kelly, A.L., Larsen, L.B. (2021). Agents of change: Enzymes in milk and dairy products. Springer Cham, 2021. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8>
37. Settanni, L., Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), 691–697. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>
38. Pogačić, T., Mancini, A., Santarelli, M., Bottari, B., Lazzi, C., Neviani, E. et al. (2013). Diversity and dynamic of lactic acid bacteria strains during aging of a long ripened hard cheese produced from raw milk and undefined natural starter. *Food Microbiology*, 36(2), 207–215. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.05.009>
39. Wouters, J. T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., Smit, G. (2002) Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12(2–3), 91–109. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00151-0)
40. Bluma, A., Ciprovica, I. (2015). Diversity of lactic acid bacteria in raw milk. *Research for Rural Development*, 1, 157–161.
41. Hernandez-Valdes, J.A.; van Gestel, J.; Kuipers, O.P. (2020). A ribo-switch gives rise to multi-generational phenotypic heterogeneity in an auxotrophic bacterium. *Nature Communications*, 11(1), e00133. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15017-1>
42. Tagliazucchi, D., Martini, S., Solieri, L. (2019). Bioprospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented

- dairy food. *Fermentation*, 5(96), Article 96.. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>
43. Parente, E., Cogan, T.M., Powell, I.B. (2017). Starter cultures: General aspects. Chapter in a book: *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press, 2017. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00008_1
 44. Kitaevskaya, S.V., Ponomarev, V.Y., Reshetnik, O.A. (2022). Evaluation of the proteolytic activity of new cryoresistant lactobacillus strains. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 12(1), 76–86. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86> (In Russian)
 45. Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., Kot, A.M. (2021). Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria. *Molecules*, 26(7), Article 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
 46. Korhonen, H., Pihlanto, A. (2003). Food — derived bioactive peptides—opportunities for designing future foods. *Current Pharmaceutical Design*, 9(16), 1297–1308. <https://doi.org/10.2174/1381612033454892>
 47. Halavach, T.N., Zhabanos, N.K., Furik, N.N., Kurchenko, V.P., Rizevsky, S.V. (2013). Substrate specificity and enzymatic activity level in the cleavage of milk protein fractions with probiotic microorganisms. *Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials*, 8, 130–142. (In Russian)
 48. Odegov, N.I., Grishkova, A.V., Belov, A.N. (2019). To the question of directed regulation of proteolytic processes in cheeses. *Cheesemaking and Buttermaking*, 5, 24–26. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-5-24-26> (In Russian)
 49. Myagkonosov, D.S., Mordvinova, V.A., Abramov, D.V., Delitskaya, I.N. (2014). Special features of proteolysis in different groups of cheese types. *Cheesemaking and Buttermaking*, 2, 24–27. (In Russian)
 50. Franco, I., Prieto, B., Urdiales, R., Fresno, J.M., Carballo, J. (2001). Study of the biochemical changes during ripening of Ahumado de Aliva cheese: a Spanish traditional variety. *Food Chemistry*, 74(4), 463–469. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00164-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00164-9)
 51. Rampilli, M., Larsen, R., Harboe, M. (2005). Natural heterogeneity of chymosin and pepsin in extracts of bovine stomachs. *International Dairy Journal*, 15(11), 1130–1137. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.10.003>
 52. Horne, D.S., Lucey, J.A. (2017). Rennet-induced coagulation of milk. Chapter in a book: *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00005-3>
 53. Britten, M., Giroux, H.J. (2021). Rennet coagulation of heated milk: A review. *International Dairy Journal*, 124, Article 105179. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105179>
 54. Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2016). Enzymatic coagulation of milk. Chapter in a book: *Fundamentals of Cheese Science*, New York: Springer, 2016. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_7
 55. Jaros, D., Rohm, H. (2017). Rennets: Applied aspects. Chapter in a book: *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press, 2017. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00003_1
 56. Kriger, A.V., Belov, A.N. (2010). Effect of enzyme compositions on cheese proteolysis. *Cheesemaking and Buttermaking*, 3, 38–40. (In Russian)
 57. Ye, A., Cui, J., Singh, H. (2011). Proteolysis of milk fat globule membrane proteins during in vitro gastric digestion of milk. *Journal of Dairy Science*, 94(6), 2762–2770. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4099>
 58. Abramov, D.V., Myagkonosov, D.S., Delitskaya, I.N., Mordvinova, V.A., Municheva, T.E., Ovchinnikova, E. G. (2019). Perspectives of using complex milk-clotting enzyme preparations for ripening rennet cheeses production. *Cheesemaking and Buttermaking*, 1, 24–26. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-1-24-26> (In Russian)
 59. Myagkonosov, D.S., Abramov, D.V., Ovchinnikova, E.G., Municheva, T.E. (2019). Prospects of using microbial substitutes of chymosin in cheesemaking. *Cheesemaking and Buttermaking*, 4, 14–17. (In Russian)
 60. Amira, A. B., Besbes, S., Attia, H., Blecker, C. (2017). Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S76–S93. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1289959>
 61. Myagkonosov, D. S., Abramov, D. V., Delitskaya, I. N., Ovchinnikova, E. G. (2022). Proteolytic activity of milk-clotting enzymes of different origin. *Food Systems*, 5(1), 47–54. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-47-54> (In Russian)
 62. Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., Farag, M. A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.009>
 63. Fox, P.F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72(6), 1379–1400. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79246-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79246-8)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Лепилкина Ольга Валентиновна — доктор технических наук, главный научный сотрудник, отдел физической химии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Tel.: +7-910-965-51-61, E-mail: ov.lepilkina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2375-3959 * автор для контактов	Olga. V. Lepilkina, Doctor of Technical Sciences, Leading Scientific Worker, Department of Physical Chemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-965-51-61 E-mail: ov.lepilkina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2375-3959 * corresponding author
Григорьева Анастасия Игоревна — младший научный сотрудник, отдел физической химии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Tel.: +7-901-051-62-46 E-mail: a.grigoriyeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4364-0342	Anastasija I. Grigorieva, Junior Researcher, Department of Physical Chemistry, All-Russian Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-901-051-62-46 E-mail: a.grigoriyeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4364-0342
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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-46-52>

Поступила 21.11.2022

Поступила после рецензирования 13.02.2023

Принята в печать 16.02.2023

© Метленкин Д. А., Платова Р. А., Платов Ю. Т., Федосеенко О. В., Садкова О. В., 2023



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

Научная статья

Open access

СОРТИРОВКА ПЛОДОВ АВОКАДО ПО ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНЫМ ИЗОБРАЖЕНИЯМ

Метленкин Д. А.^{1,*}, Платова Р. А.¹, Платов Ю. Т.¹, Федосеенко О. В.², Садкова О. В.²

¹ Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова, Москва, Россия

² ООО «Городской супермаркет», Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

авокадо, качество, гиперспектральное изображение, многомерный анализ, влажность, сухой остаток, PLS

АННОТАЦИЯ

Показано применение методов гиперспектрального изображения (HSI) в диапазоне 400–1000 нм и многомерного анализа для сортировки плодов авокадо Хасс. Методом главных компонент осуществлена декомпозиция матрицы данных HSI плодов авокадо и выявлены полосы отражения в видимой и ближней инфракрасной областях спектра, взаимосвязанные с процессом созревания и содержанием влажности плодов авокадо. Установлено, что при использовании факторных нагрузок в качестве псевдоцвета возможна визуализация при поточной сортировке плодов авокадо по влажности. Построение калибровочных моделей определения влажности и сухого вещества плодов авокадо проведено на основе данных измерений влажности и гиперспектральных изображений. Формирование матрицы спектральных данных осуществляли двумя способами: посредством отбора спектральных сигнатур HSI случайным образом со всей поверхности плодов или поверхность изображения HSI плодов (исходные HSI) как области интереса (ROI). На основе данных измерений влажности и отбора спектральных сигнатур гиперспектральных изображений проведено построение калибровочных моделей определения влажности и сухого вещества плодов авокадо. При последовательном моделировании методом PLS (проекция на латентные структуры) разработаны точные калибровочные модели для определения влажности ($R_p^2=0,89$) и сухого вещества ($R_p^2=0,92$) в составе плодов авокадо. При построении калибровочных моделей по исходным HSI получены модели для прогнозирования влажности ($R_c^2=0,99$) и сухого вещества ($R_c^2=0,99$) в составе плодов авокадо. Предлагается использование калибровочных моделей по исходным HSI для определения влажности и сухого вещества в интервалах допустимых значений в соответствии с действующим стандартом UNECE STANDARD FFV-42:2019.

Received 21.11.2022

Accepted in revised 13.02.2023

Accepted for publication 16.02.2023

© Metlenkin D. A., Platova R. A., Platon Yu.T., Fedoseenko O. V., Sadkova O. V., 2023

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

Original scientific article

Open access

AVOCADO FRUIT SORTING BY HYPERSPECTRAL IMAGES

Dmitrii A. Metlenkin^{1,*}, Raisa A. Platova¹, Yuri T. Platon¹, Olga V. Fedoseenko², Olesya V. Sadkova²

¹ Plekhanov Russian University of Economics, Moscow, Russia

² City Supermarket LLC, Moscow, Russia

KEY WORDS:

avocado, quality, hyperspectral imaging, multivariate analysis, moisture, dry matter, PLS

ABSTRACT

The paper shows the use of the methods of hyperspectral imaging (HSI) in a range of 400–1000 nm and multivariate analysis for sorting Hass avocado fruits. The decomposition of the data matrix of HSIs of avocado fruits was carried out using the principle component analysis. The reflection bands in the visible and near-infrared spectral regions interrelated with the process of maturation and the moisture content of avocado fruits were revealed. It has been established that visualization upon avocado inline sorting by moisture is possible when using factor loadings as pseudo-color. Calibration models for determination of moisture and dry matter of avocado fruits were built based on the data of moisture measurement and hyperspectral images. The matrix of spectral data was formed by two methods: random selection of spectral signatures of HSIs from the whole surface of fruits or the image surface of HSIs of fruits (initial HSIs) as a region of interest (ROI). Based on the data of moisture measurement and selection of spectral signatures of hyperspectral images, calibration models were built for detection of moisture and dry matter of avocado fruits. Using sequential simulation by the projection to latent structures (PLS) method, accurate calibration models were developed to detect moisture ($R_p^2=0.89$) and dry matter ($R_p^2=0.92$) in the composition of avocado fruits. When building calibration models by the initial HSIs, models were obtained to predict moisture ($R_c^2=0.99$) and dry matter ($R_c^2=0.99$) in the composition of avocado fruits. It is proposed to use calibration models by the initial HSIs to determine moisture and dry matter in the intervals of the acceptable values according to the acting standard UNECE STANDARD FFV-42:2019.

1. Введение

Авокадо — один из тропических плодов, обладающих пищевой и диетической ценностью [1]. Поскольку авокадо является климактерическим плодом, поэтому после срезания

плоды являются вполне развившимися и сформировавшимися, но не обладают потребительской зрелостью: вкусом, ароматом и цветом [2]. Определение зрелости плодов авокадо — это ключевой фактор в обеспечении с одной стороны,

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Метленкин, Д.А., Платова, Р.А., Платов, Ю.Т., Федосеенко, О.В., Садкова, О.В. (2023). Сортировка плодов авокадо по гиперспектральным изображениям. *Пищевые системы*, 6(1), 46–52. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-46-52>

FOR CITATION: Metlenkin, D.A., Platova, R.A., Platon, Yu.T., Fedoseenko, O.V., Sadkova, O.V. (2023). Avocado fruit sorting by hyperspectral images. *Food Systems*, 6(1), 46–52. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-46-52>

минимальных требований качества [3], с другой стороны, низких потерь в цепочке поставок [4].

Определение зрелости плодов авокадо проводят как сенсорным анализом (оценка внешнего вида поверхности), так и инструментальными методами разрушающего контроля: измерение содержания влаги, сухого вещества, липидов, сахаров [4], а также определение твердости плода [5]. Однако, указанные методы обладают рядом недостатков: сенсорный анализ субъективен, а инструментальные методы имеют разрушительный характер и трудоемки, что порождает необходимость поиска неразрушающего метода для точного и быстрого определения зрелости.

В работах [2,6] приведен анализ применения неразрушающих методов определения зрелости плодов авокадо, основанные на различиях в плотности, звуке и оптических характеристиках. В последние годы предпринимаются попытки применения неразрушающей технологии для контроля качества плодов, в частности методов визуализации, таких как: спектральные методы (рамановская визуализация, гиперспектральная визуализация, флуоресцентная визуализация и визуализация обратного рассеяния лазерного света), ядерно-магнитные методы (магнитно-резонансная томография и мягкая рентгенография) и другие методы, включая тепловизионную, инфракрасную термографию и микроволновое изображение [6]. К сожалению, фрукты, обладающие толстой кожицей, такие как плоды авокадо, создают проблемы для применения неразрушающих технологий мониторинга качества.

В качестве неразрушающего метода определения зрелости авокадо используют метод гиперспектрального изображения (HSI) [7]. HSI-технология позволяет анализировать одновременно спектральные и пространственные характеристики, тем самым осуществляя сегментацию поверхности на области интереса и выделение спектральных сигнатур различного физиологического состояния плодов [8,9]. Некоторые объекты имеют уникальные характеристики в электромагнитном спектре, известные как спектральные сигнатуры, которые позволяют идентифицировать материал [10].

При анализе HSI используют многомерные методы классификации и построения калибровочных моделей [11,12]. В работе [13] показана возможность классификации плодов авокадо по степени зрелости использованием HSI в диапазоне 300–900 нм. Разработка калибровочных моделей для определения физико-химических свойств плодов авокадо продемонстрирована в работе [14].

Разработка технологии HSI позволяет проводить неразрушающую и бесконтактную цифровую сортировку плодов авокадо. Использование такого подхода дает возможность определять зрелость и проводить сортировку плодов в режиме реального времени и на месте.

Целью данного исследования является разработка методического подхода сортировки плодов авокадо сочетанием методов гиперспектрального изображения и многомерного анализа.

2. Объекты и методы

Для исследования сформирован калибровочный набор плодов авокадо, который использовался для построения моделей. В калибровочный набор отобраны 9 плодов авокадо из одной партии сорта Хасс пурпурного и темно-зеленого цвета (страна происхождения: Танзания; урожай 2021 года), которые отличались по влажности как указано в Таблице 1.

Измерение влажности (MS,%) проводилось с использованием влагомера Mettler Toledo HB43-S (Mettler-Toledo International Inc., USA), диапазон измерения которого составляет от 0,01 до 100%, с погрешностью $\pm 0,04\%$. Для каж-

дого образца авокадо из калибровочного набора отбиралась проба массой 10 г и высушивались при 100 °С в до постоянной массы (45 мин). Разница между изначальной массой W_0 и массой после высушивания W_1 использовалась для расчета сухого вещества (DM,%) плодов авокадо из калибровочного набора, как представлено в уравнении (1).

$$DM(\%) = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

Регистрация гиперспектральных изображений проведена с помощью гиперспектральной камеры Specim IQ (Spectral Imaging Ltd, Finland) в спектральном диапазоне 400–1000 нм (спектральное разрешение 7 нм и включает 204 полосы). Камера для проведения исследований предоставлена компанией ООО «Азимут Фотоникс» (Москва). В процессе съемки характеристики освещения фиксируются с помощью белой эталонной панели (white reference) [15], которая расположена в левом верхнем углу области съемки. Для равномерного освещения образцов при регистрации изображений область съемки, содержащую образцы авокадо на листе картона, подсвечивали галогеновой лампой QL 500BW Falcon Eyes под углом освещения 30°. Гиперспектральная камера была установлена на штатив и размещена в верхней части освещаемой лампой области на расстоянии 30 см от образцов авокадо. При регистрации HSI с использованием Specim IQ происходит наведение гиперспектральной камеры с помощью камеры-видеоискателя (RGB-камера). Полученные гиперспектральные изображения были импортированы на компьютер для последующей обработки.

HSI — это трехмерный массив данных, который включает спектр в каждой точке-пикселе поверхности плодов. Процедура сегментации поверхности разбивает изображение на группы пикселей, обладающих схожими спектральными характеристиками. Большое число каналов — полос спектра и число пикселей (дискретизация) описывающих поверхность, приводят к значительной информативной избыточности. При обработке HSI используют алгоритмы сокращения размерности [7,9,12,13,16], одним из наиболее распространенным является метод главных компонент.

Для плодов из калибровочного набора были получены гиперспектральные изображения ($n=4$) с каждой стороны (поворотом на 180°), что способствовало увеличению пространственных и спектральных данных при разработке калибровочных моделей. Регистрация гиперспектральных изображений образцов плодов авокадо из тестового набора проведена на 7,9 и 12 дни хранения.

При построении калибровочных моделей определения MS, % и DM, % проводили отбор спектральных сигнатур (спектров в отдельных пикселях изображения) из гиперспектральных изображений плодов авокадо из калибровочного набора. Для разработки калибровочных моделей определения MS, % и DM, % используют матрицы данных X и Y . По результатам отбора построена матрица данных X размерностью $I \times J$ (I — количество спектральных сигнатур HSI, J — число коэффициентов отражения на длинах волн) и матрица Y размерностью $I \times K$ (K — число столбцов, равное числу значений показателей, характеризующих зрелость плодов (MS, % и DM, %)).

Классификация образцов плодов авокадо из калибровочного набора посредством сегментации поверхности по HSI проведена методом главных компонент (МГК) в программном комплексе Альбеда 4.0.23 (МФТИ, Россия) [17].

Разработка калибровочных моделей осуществлялась в двух программных комплексах Unscrambler X 10.0.4 (Camo Software, Норвегия) и perClass Mira 3.1 (perClass BV, Netherlands). Качество и точность калибровочных моделей

оценивалась по стандартным в программном комплексе Unscrambler показателям: коэффициенту детерминации (R_c^2), среднеквадратичной ошибке (RMSEC) и по результатам полной перекрестной кросс-валидации моделей (R_p^2 , RMSEP, соответственно). Последовательное моделирование проводилось с удалением выбросов согласно статистике Hotteling's T^2 и F-residuals.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Влажность плодов авокадо

Зрелость авокадо тесно связана с содержанием влаги и сухого вещества плодов. Содержание сухого вещества плодов авокадо после срезания постепенно увеличивается [18]. Согласно [3] содержание сухого вещества плодов авокадо сорта Хасс в стадии потребительской зрелости должно быть не менее 21,0%. Перезревание, порча или хранение авокадо в ненадлежащих условиях, приводят к увеличению влажности и уменьшению содержания сухого вещества, что обусловлено окислением липидов мякоти и образованию свободной воды в составе плодов [19].

Из данных Таблицы 1 следует, что диапазон значений влажности для образцов авокадо из калибровочного набора составляет 74,4–83,0%, а сухого вещества путем расчета по значениям влажности — 17,0–25,6%, соответственно. Среди отобранных образцов, образцы под номером 5,6,8 с содержанием сухого вещества 17,0–19,2% не соответствуют требованиям стандарта UNECE STANDARD FFV-42:2019 (не менее 21,0%), а образцы плодов авокадо под номерами 2–4 имеют значение содержания сухого вещества выше минимальных требований стандарта (23,9–25,6% против 21,0%).

Таблица 1. Содержание влажности и сухого вещества в образцах плодов авокадо из калибровочного набора
Table 1. Content of moisture and dry matter in the avocado fruit samples from the calibration set

Номер образца	MS, %*
1	79,0±0,4
2	75,2±0,4
3	76,1±0,5
4	74,4±0,4
5	83,0±0,6
6	82,6±0,7
7	78,3±0,4
8	80,8±0,5
9	79,1±0,4

Показатели содержания влажности и сухого вещества использовались в качестве откликов у матрицы Y для разработки калибровочных моделей.

3.2. Градация плодов авокадо

по спектральным сигнатурам HSI

Содержание MS,% и DM,% сильно коррелирует с физиологическим состоянием плодов, включая, например, твердость плода. Согласно [2,20] физиологическое состояние плодов неоднородно как внутри единичной партии, так и по различным сортам авокадо. Согласно международному стандарту незначительный объем выборки для проверки качества плодов авокадо не позволяет оценить множество отдельных плодов из партии. Цифровая сортировка по HSI позволит осуществлять градацию множества плодов авокадо по зрелости целой партии быстро и на месте.

На Рисунке 1 представлены усредненные спектральные сигнатуры двух плодов авокадо из калибровочного набора, имеющие минимальное (образец № 4) и максимальное (образец № 5) содержание влаги. Как видно, в диапазоне 400–690 нм в видимой области (VIS) их спектры визуально слабо различимы, но значимо различаются в диапазоне «красный край» (red edge) (690–780 нм) VIS-области и в ближней инфракрасной области (NIR) (780–1000 нм). В связи с малым различием в VIS-области эти два образца имеют, соответственно, малое цветовое различие по окраске (ниже порога различения при визуальном осмотре).

Согласно опубликованным работам [21–23] в VIS-области присутствуют полосы колебаний C-H при 740 нм [21] и широкая полоса третьего обертона колебаний C-H, CH_2 , и CH_3 при 840 нм [22,23], интенсивность которых коррелирует с содержанием сухого вещества. Следовательно, более низкое отражение в NIR-области при 740 и 840 нм характерное для образца № 4, соответствует меньшему содержанию влаги и большему содержанию сухого вещества.

3.3. Классификация плодов авокадо посредством сегментации поверхности по HSI методом главных компонент

В качестве первого этапа разработки определения зрелости плодов авокадо необходимо изучить возможность сегментации поверхности по данным HSI в диапазоне 400–1000 нм. Такой подход, в свою очередь, позволит установить можно ли по HSI поверхности плодов авокадо: по отдельным сегментам поверхности или по всей площади поверхности производить их сортировку.

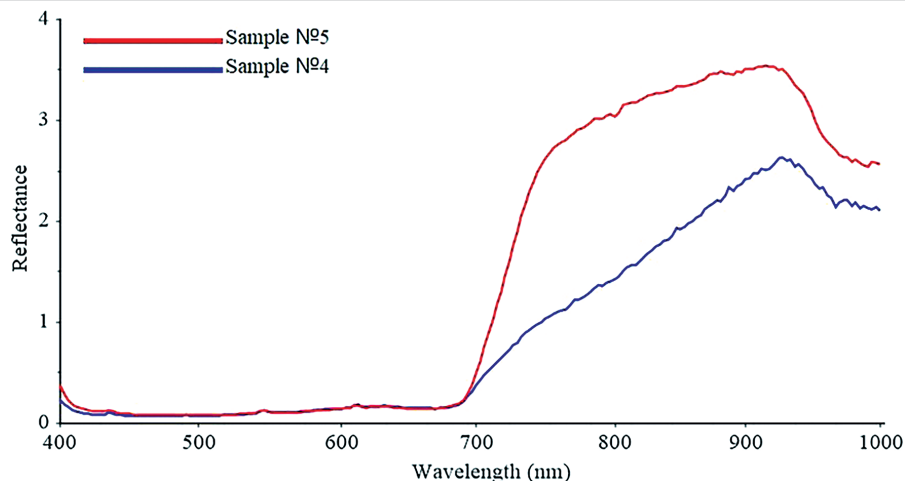


Рисунок 1. Усредненные спектральные сигнатуры плодов авокадо из калибровочного набора: образец № 5 (красная линия) и образец № 4 (синяя линия)

Figure 1. Averaged spectral signatures of avocado fruits from the calibration set: sample 5 (red line) and sample 4 (blue line)

При анализе HSI с помощью МГК проведена декомпозиция трехмерной матрицы данных (512×512 pixel, 204 канала) с использованием алгоритма NIPALS на матрицы Т-счетов и Р-нагрузок. В матрице Т-счетов приводятся пространственные координаты, т.е. пиксели изображения как независимые друг от друга данные. А в качестве Р-нагрузок коэффициенты отражения спектра HSI.

По результатам обработки матрицы данных выделено первые четыре главные компоненты (ГК): первая, вторая, третья и четвертая ГК (PC – principal component), которые объясняют 99,5% от общей дисперсии (70,3%, 27,0%, 1,4%, 0,8% соответственно). Значение факторных нагрузок коэффициентов отражения на длинах волн спектра по четырем ГК представлена на Рисунке 2. Проведена интерпретация с первой по четвертую ГК по знаку (+/–) и по значению факторных нагрузок коэффициентов отражения на длинах волн спектра.

Первая ГК связана со знаком (+) с коэффициентами отражения спектра без явных максимумов. Вторая ГК согласно знаку (+/–) факторных нагрузок коэффициентов отражения на длинах волн спектра разделяет спектр на два диапазона: со знаком (+) – для факторных нагрузок в VIS-диапазоне от 400 до 710 нм, со знаком (–) – в NIR-диапазоне от 710 до 1000 нм. Следовательно, 1 и 2 ГК, во-первых, содержат большую часть информации (97,3% от общей дисперсии), содержащуюся в гиперкубе данных, но при этом, во-вторых, коэффициенты отражения на длинах волн спектра по этим двум ГК сильно коррелированы и поэтому не вносят вклад, позволяющий проводить классификацию плодов авокадо.

При анализе факторных нагрузок коэффициентов отражения на длинах волн спектра по 3 ГК выявлены следующие максимумы: 434, 487, 545, 604, 690. Ряд максимумов факторных нагрузок коэффициентов отражения на длинах волн спектра, соответствуют полосам поглощения пигментов в составе кожуры плода. По 3 ГК согласно знаку (+) присутствуют факторные нагрузки полос отражения каротиноидов при 434 нм [24], антоцианов при 545 нм [25], против факторных нагрузок согласно знаку (–) полос

отражения хлорофилла *b* при 604 нм и хлорофилла *a* при 690 нм [24]. Как показано в работах [18,26] при созревании в кожуре авокадо наблюдается изменение соотношения содержания хлорофилла и каротиноидов при увеличении антоцианов. При этом в первые дни созревания уменьшение содержания каротиноидов наблюдается незначительно [18]. Следовательно, максимумы факторных нагрузок при 434, 545 нм со знаком (+) связаны с изменением содержания антоцианов и незначительно с содержанием каротиноидов, а максимумы при 604 и 690 нм со знаком (–) – с содержанием хлорофилла при созревании плодов авокадо. Поэтому, 3 ГК информирует о соотношении содержания пигментов в составе кожуры при созревании плодов авокадо.

По 4 ГК со знаком (+) выявлены имеют факторные нагрузки, соответствующие полосе отражения 1-го обертона ОН при 963 нм [27,28], а со знаком (–) – спектральной области «красный край» с максимумом при 750 нм.

Таким образом, 3 и 4 ГК, объясняющие 1,4% и 0,8% от общей дисперсии, соответственно, характеризуют процесс созревания плодов авокадо.

После вычисления ГК пользовательский интерфейс Альбеда 4.0.23. позволяет просматривать изображение при использовании ГК в качестве псевдоцветов в различных режимах отображения (оттенки серого, RGB (красный, зеленый, синий)). Для визуализации различий плодов авокадо из калибровочного набора по влажности 4 ГК была использована в качестве псевдоцвета для перестроения гиперспектрального изображения (Рисунок 3b) и его сравнения с исходным изображением (Рисунок 3a).

На Рисунке 3a представлено изображение плодов авокадо снятых с помощью RGB-камеры по сравнению с изображением, построенного по значениям факторных нагрузок по 4 ГК (Рисунок 3b), значение которых представлено в оттенках серого (grayscale). При визуальном анализе изображения плодов авокадо снятых с помощью RGB-камеры не видно явных различий между образцами.

Из Рисунка 3b видно, что образцы № 2,3,4 из калибровочного набора окрашены в светло-серые цвета, в отличие

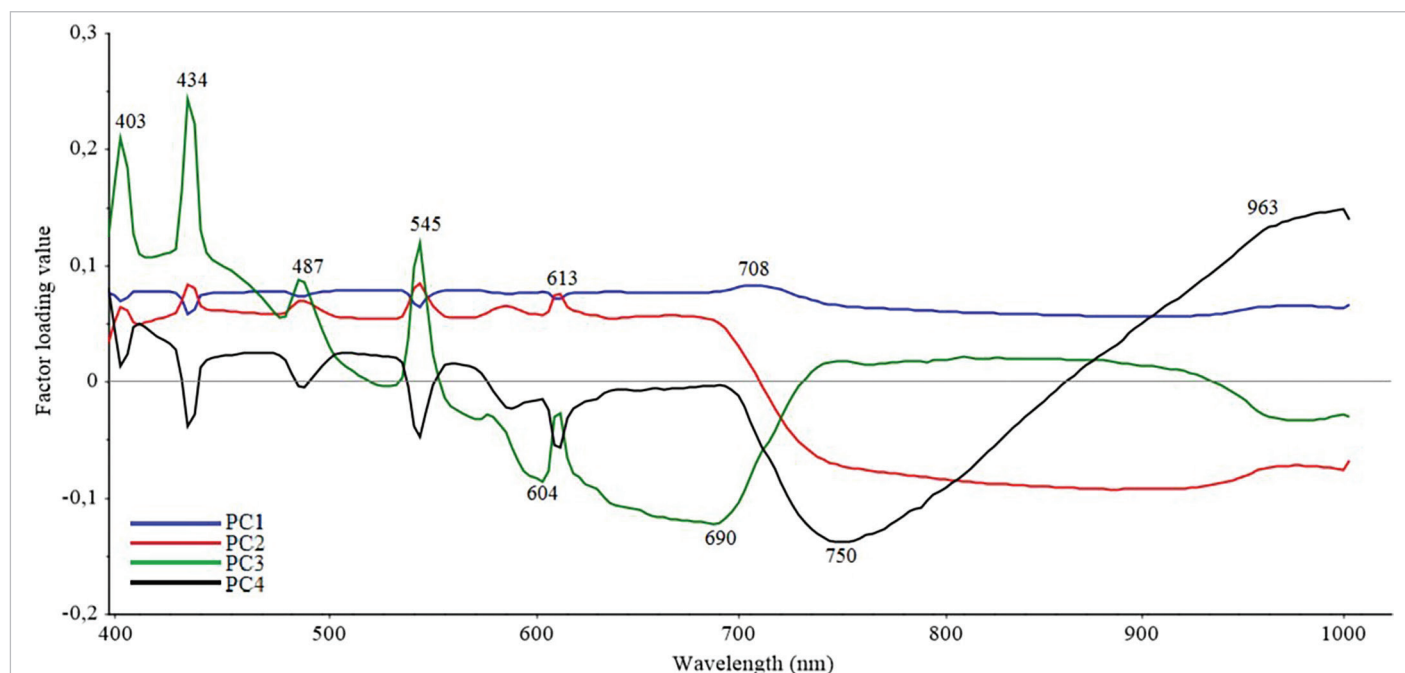


Рисунок 2. Факторные нагрузки коэффициентов отражения на длинах волн спектра HSI в диапазоне 400–1000 нм по четырем ГК (PC1-PC4)

Figure 2. Factor loadings of reflection coefficients at HSI spectrum wavelengths in the range of 400–1000 nm by four PCs (PC1-PC4)

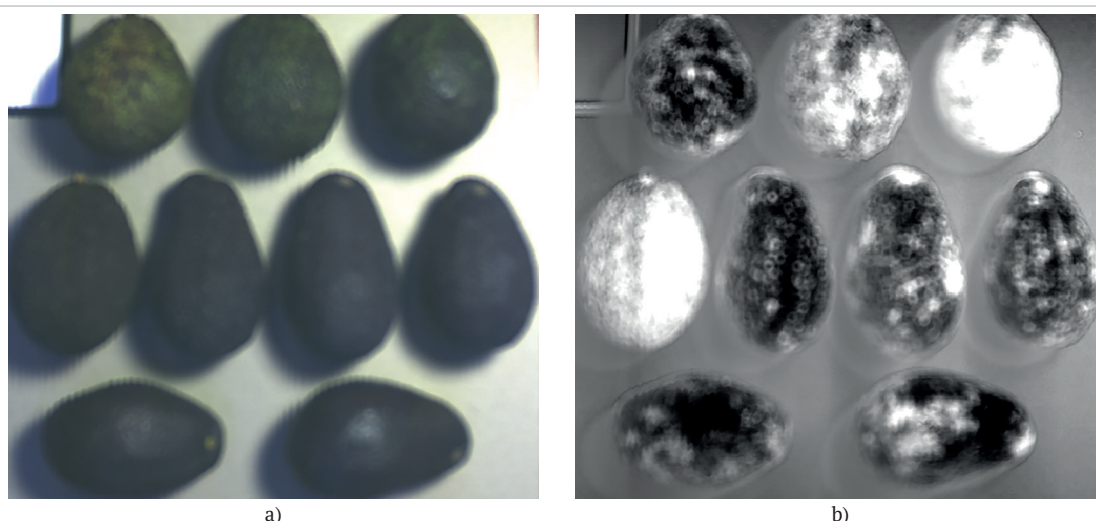


Рисунок 3. Гиперспектральное изображение плодов авокадо из калибровочного набора: исходное (а), в оттенках серого образцов с использованием 4 ГК как псевдоцвета (б). Образцы авокадо расположены по порядковому номерам слева-направо и сверху-вниз

Figure 3. Hyperspectral image of avocado fruits from the calibration set: initial (a), in shades of gray of the samples using four PCs as pseudo-color (b). The avocado samples are arranged by ordinal numbers from left to right and from top to bottom

от других образцов, цвет площади поверхности которых ближе к темно серому цвету. Согласно данным таблицы 1, образцы № 2,3,4 более низкое значение влажности (от 74,4% до 76,1%) по сравнению с другими образцами (от 78,3% до 83,0%). Следовательно, поточная сортировка плодов авокадо по влажности возможна при использовании факторных нагрузок по 4 ГК в качестве псевдоцвета для визуализации. Также выявлено, что визуализация позволяет выявить латентные (скрытые) области поверхности, в которых происходит изменение качества плодов.

3.4. Разработка калибровочных моделей определения MS,% и DM,% по HSI

По результатам анализа HSI выбрано два направления разработки калибровочных моделей:

- ❑ посредством отбора спектральных сигнатур HSI случайным образом с поверхности плодов;
- ❑ использование всей площади поверхности HSI (исходные HSI) плодов авокадо в качестве.

Разработка калибровочных по спектральным сигнатурам проведена методом PLS в программном комплексе Unscrambler X 10.0.4, по исходным HSI — в perClass Mira 3.1 (perClass BV, Netherlands).

При разработке калибровочных моделей определения MS,% и DM,% плодов авокадо по спектральным сигнатурам проводили моделирование с изменением следующих параметров (Таблица 2):

- ❑ использование спектральных сигнатур с гиперспектрального изображения с одной или с двух сторон;
- ❑ уменьшение количества спектральных сигнатур при последовательном удалении выбросов согласно статистике Hotelling's T^2 и F-residuals;
- ❑ определение количества латентных переменных (факторов) по кумулятивной доле объяснимой дисперсии.

Отбор наиболее репрезентативных моделей проводился по статистическим показателям RMSE (точность модели) и R^2 (качество модели). При этом необходимы наибольшие значения R^2 при наименьшем значении RMSE. Показатель RMSE отображает отклонение определяемого при калибровке показателя, поэтому для достижения высокой репрезентативности модели проводилось последовательное моделирование для уменьшения показателей RMSE и увеличения показателей R^2 .

Таблица 2. Проверка точности и качества калибровочных моделей с использованием спектральных сигнатур для определения сухого вещества и влажности плодов авокадо Хасс

Table 2. Check of accuracy and quality of calibration models using spectral signatures to detect dry matter and moisture of Hass avocado fruits

Показатель	Количество использованных HSI	Количество спектральных сигнатур	Количество факторов	RMSEC	RMSEP	R_c^2	R_p^2
MS, %	1	185	7	1,46	1,64	0,79	0,73
MS, %	1	173	8	1,31	1,58	0,84	0,76
MS, %	1	127	8	0,87	1,11	0,93	0,89
MS, %	1	123	8	0,84	1,1	0,93	0,89
MS, %	2	410	10	1,44	1,57	0,77	0,74
MS, %	2	369	9	1,41	1,61	0,78	0,72
MS, %	2	296	11	0,99	1,1	0,89	0,87
MS, %	2	264	10	0,94	1	0,9	0,89
DM, %	1	185	8	1,33	1,54	0,82	0,76
DM, %	1	125	8	0,8	0,97	0,93	0,90
DM, %	1	103	8	0,59	0,77	0,97	0,94
DM, %	2	410	10	1,44	1,57	0,77	0,74
DM, %	2	309	10	0,92	0,99	0,91	0,9
DM, %	2	257	9	0,78	0,86	0,94	0,92

По итогам моделирования наиболее репрезентативными являлись модели (Таблица 2), в которых используются спектральные сигнатуры гиперспектральных изображений с двух сторон плодов авокадо. Низкие значения показателей R_c^2 и R_p^2 для таких моделей, в отличие от моделей со спектральными сигнатурами гиперспектрального изображения с одной стороны, компенсируются меньшими значениями RMSEC и RMSEP, что повышает качество моделей. Последовательное обнаружение и удаление выбросов, то есть спектральных сигнатур, превышающих критический предел согласно статистике Hotelling's T^2 и F-residuals, повышало качество и точность моделей. К выбросам были отнесены спектральные сигнатуры, отобранные с поверхности плодов авокадо в местах возникновения бликов от

галогеновой лампы. Показано, что использование данных спектральных сигнатур гиперспектральных изображений с двух сторон позволяет увеличить качество моделей при незначительном снижении точности. Однако, отбор спектральных сигнатур вручную не позволяет в достаточной мере избавиться от фоновых шумов и выбросов в спектральных данных, содержащихся в областях с бликами от галогеновой лампы, что приводит к снижению точности и необходимости последовательного удаления выбросов из калибровки.

Разработку калибровочных моделей по исходным HSI плодов авокадо проводили с реализацией алгоритма: выделение плодов авокадо по контуру, удаление заднего фона и бликов от галогеновой лампы. После этого осуществлена сегментация объектов, то есть выделение каждого плода авокадо на передний план как отдельную область интереса (ROI).

Точность калибровочных моделей для определения DM,% и MS,% до удаления областей с бликами от галогеновой лампы составляла $R_c^2=0,93$ и $R_c^2=0,86$, соответственно. После сегментации HSI были разработаны калибровочные модели с высокой точностью $R_c^2=0,99$ для определения содержания MS,% и DM,%. Высокая точность достигается за счет увеличения количества репрезентативных спектральных данных.

В отличие от калибровочных моделей по спектральным сигнатурам, выбранным случайным образом с поверхности плодов, против моделей с использованием всей площади поверхности HSI достигается более высокая точность за счет увеличения спектральных данных — числа пикселей с площади изображения каждого плода авокадо из калибровочного набора.

Калибровочные модели по исходным гиперспектральным изображениям могут быть использованы для определения влажности и сухого вещества в интервалах допустимых

значений в соответствии с действующим стандартом UNECE STANDARD FFV-42:2019.

4. Выводы

Показан потенциал использования гиперспектрального изображения в видимом-ближнем инфракрасном диапазоне и многомерного анализа для неразрушающей идентификации плодов авокадо.

Проведено сравнение спектральных сигнатур плодов авокадо из калибровочного набора с наименьшей и наибольшей влажностью и выявлены диапазоны спектра, коррелирующие с физиологическим состоянием плодов.

Методом главных компонент осуществлена декомпозиция матрицы данных HSI плодов авокадо из калибровочного набора и выявлены полосы отражения в VIS- и NIR-области, коррелирующие с процессами созревания и содержания влажности плодов авокадо. Установлено, что при использовании факторных нагрузок по 4 ГК в качестве псевдоцвета возможна визуализация при поточной сортировке плодов авокадо по влажности.

На основе данных измерений влажности и отбора спектральных сигнатур гиперспектральных изображений проведено построение калибровочных моделей определения влажности и сухого вещества плодов авокадо. При последовательном моделировании методом PLS разработаны точные калибровочные модели для определения влажности ($R_p^2=0,89$) и сухого вещества ($R_p^2=0,92$) в составе плодов авокадо. При построении калибровочных моделей по исходным HSI получены модели для прогнозирования влажности ($R_c^2=0,99$) и сухого вещества ($R_c^2=0,99$) в составе плодов авокадо.

Предлагается использование калибровочных моделей по исходным HSI для определения влажности и сухого вещества в интервалах допустимых значений в соответствии с действующим стандартом UNECE STANDARD FFV-42:2019.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Hurtado-Fernandez, E., Fernandez-Gutierrez, A., Carrasco-Pancorbo, A. (2018). Avocado fruit — *Persea americana*. Chapter in a book: *Exotic Fruits*. Academic Press, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0>
- Magwaza, L. S., Tesfay, S. Z. (2015). A review of destructive and non-destructive methods for determining avocado fruit maturity. *Food and Bio-process Technology*, 8(10), 1995–2011. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1568-y>
- UNECE STANDARD FFV-42. 2019. 'Concerning the marketing and commercial quality control of Avocados'. Agricultural Quality Standards, Geneva, Switzerland.
- Donetti, M., Terry, L. A. (2014). Biochemical markers defining growing area and ripening stage of imported avocado fruit cv. Hass. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34(1), 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.011>
- Ochoa-Ascencio, S., Hertog, M. L., Nicolaï, B. M. (2009). Modelling the transient effect of 1-MCP on 'Hass' avocado softening: A Mexican comparative study. *Postharvest Biology and Technology*, 51(1), 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.06.002>
- Hussain, A., Pu, H., Sun, D. -W. (2018). Innovative nondestructive imaging techniques for ripening and maturity of fruits — A review of recent applications. *Trends in Food Science and Technology*, 72, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.010>
- Lohumi, S., Lee, S., Lee, H., Cho, B. -K. (2015). A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. *Trends in Food Science and Technology*, 46(1), 85–98. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.08.003>
- Elmasry, G., Kamruzzaman, M., Sun, D. -W., Allen, P. (2012). Principles and applications of hyperspectral imaging in quality evaluation of agro-food products: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(11), 999–1023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.543495>
- Manley, M. (2014). Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chemical Society Reviews*, 43(24), 8200–8214. <https://doi.org/10.1039/c4cs00062e>
- Faltynkova, A., Johnsen, G., Wagner, M. (2021). Hyperspectral imaging as an emerging tool to analyze microplastics: a systematic review and recommendations for future development. *Microplastics and Nanoplastics*, 1(1), Article 13. <https://doi.org/10.1186/s43591-021-00014-y>
- Rodionova, O. Ye., Pomerantsev, A.L. (2006). Chemometrics: Achievements and prospects. *Russian Chemical Reviews*, 75(4), 271–287. <https://doi.org/10.1070/RC2006v075n04ABEH003599>
- Granato, D., Putnik, P., Kovačević, D. B., Santos, J. S., Calado, V., Rocha, R. S. et al. (2018). Trends in chemometrics: Food authentication, microbiology, and effects of processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(3), 663–677. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12341>
- Pinto, J., Rueda-Chacón, H., Arguello, H. (2019). Classification of Hass avocado (*persea americana* mill) in terms of its ripening via hyperspectral images. *Tecnológicas*, 22(45), 111–130. <https://doi.org/10.22430/22565337.1232>
- Vega Diaz, J. J., Sandoval Aldana, A. P., Reina Zuluaga, D. V. (2021). Prediction of dry matter content of recently harvested 'Hass' avocado fruits using hyperspectral imaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(3), 897–906. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10697>
- Behmann, J., Acebron, K., Emin, D., Bennertz, S., Matsubara, S., Thomas, S. et al. (2018). Specim IQ: Evaluation of a new, miniaturized handheld hyperspectral camera and its application for plant phenotyping and disease detection. *Sensors (Switzerland)*, 18(2), Article 441. <https://doi.org/10.3390/s18020441>
- Lyu, Y. (2019). Identify the ripening stage of avocado by multispectral camera using semi-supervised learning on small dataset. Thesis (M. Phil.)-Hong Kong University of Science and Technology, 2019.
- Albedo. Hyperspectral data processing software. Retrieved from <https://geo.mipt.ru/albedo>. Accessed October 20, 2022.
- Ashton, O.B.O., Wong, M., McGhie, T. K., Vather, R., Wang, Y., Requejo-Jackman, C. et al. (2006). Pigments in avocado tissue and oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10151–10158. <https://doi.org/10.1021/jf061809j>
- Parodi, G., Sanchez, M., Daga, W. (November 12–16, 2007). *Correlation of oil content, dry matter and pulp moisture as harvest indicators in Hass avo-*

- cado fruit (Persea americana Mill) grown under two conditions of orchards in Chincha-Peru. Proceedings VI World Avocado Congress (Actas VI Congreso Mundial del Aguacate). Viña Del Mar, Chile, 2007.*
20. Hofman, P. J., Jobin-Décor, M., Giles, J. (2000). Percentage of dry matter and oil content are not reliable indicators of fruit maturity or quality in late-harvested 'Hass' avocado. *HortScience*, 35(4), 694–695. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.4.694>
 21. Posom, J., Klappachan, J., Rattanasopa, K., Sirisomboon, P., Saengprachatanarug, K., Wongpichet, S. (2020). Predicting marian plum fruit quality without environmental condition impact by handheld visible – near-infrared spectroscopy. *ACS Omega*, 5(43), 27909–27921. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c03203>
 22. Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E., Ghassemian, H. (2014). Prediction of soluble solids in oranges using visible/near-infrared spectroscopy: Effect of peel. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1460–1468. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.717332>
 23. Cen, H., He, Y. (2007). Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends in Food Science and Technology*, 18(2), 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.003>
 24. Croft, H., Chen, J. M. (2017). Leaf pigment content. Chapter in a book: *Comprehensive Remote Sensing*. Elsevier, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10547-0>
 25. Saha, S., Singh, J., Paul, A., Sarkar, R., Khan, Z., Banerjee, K. (2020). Anthocyanin profiling using UV–VIS spectroscopy and liquid chromatography mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 103(1), 23–39. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0201>
 26. Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of 'Hass' avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.008>
 27. Anne Frank Joe, A. Gopal, A. (April 20–21, 2017). *Identification of spectral regions of the key components in the near infrared spectrum of wheat grain*. Proceedings of IEEE International Conference on Circuit, Power and Computing Technologies, ICCPCT. Kollam, 2017. <https://doi.org/10.1109/ICCPCT.2017.8074207>
 28. Ollinger, S. V. (2011). Sources of variability in canopy reflectance and the convergent properties of plants. *New Phytologist*, 189(2), 375–394. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03536.x>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Метленкин Дмитрий Андреевич — инженер, Инжиниринговый центр, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-963-656-79-92 E-mail: Metlenkin.DA@rea.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-7006-2253 * автор для контактов	Dmitrii A. Metlenkin, Engineer, Engineering Center, Plekhanov Russian University of Economics Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-963-656-79-92 E-mail: Metlenkin.DA@rea.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-7006-2253 * corresponding author
Платова Раиса Абдулгафаровна — кандидат технических наук, доцент, кафедра товароведения и товарной экспертизы, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-916-346-37-75 E-mail: raisa.platova@yandex.ru Platova.RA@rea.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-9583-8188	Raisa A. Platova, Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Commodity Science, Plekhanov Russian University of Economics. Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-916-346-37-75 E-mail: raisa.platova@yandex.ru Platova.RA@rea.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-9583-8188
Платов Юрий Тихонович — доктор технических наук, профессор, кафедра товароведения и товарной экспертизы, Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова 117997, Москва, Стремянный переулок, 36 Тел.: +7-910-473-21-75 E-mail: Platov.YT@rea.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6157-572X	Yuri T. Platov, Doctor of Technical Sciences, Professor, Department of Commodity Science, Plekhanov Russian University of Economics. Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia Tel.: +7-910-473-21-75 E-mail: Platov.YT@rea.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6157-572X
Федосеенко Ольга Владимировна — начальник лаборатории, ООО «Городской супермаркет» 113054, Москва, ул. Валовая, д. 8/18, Россия Тел.: +7-916-564-50-02 E-mail: ofedoseenko@azbukavkusa.ru	Olga V. Fedoseenko, Head of Laboratory, City Supermarket LLC Valovaya street, 8/18, Moscow, 113054, Russia Tel.: +7-916-564-50-02 E-mail: ofedoseenko@azbukavkusa.ru
Садкова Олеся Вячеславовна — химик, ООО «Городской супермаркет» 113054, Москва, ул. Валовая, д. 8/18 Тел.: +7-495-504-34-87 / 6294 E-mail: osadkova@azbukavkusa.ru	Olesya V. Sadkova, Chemist, City Supermarket LLC Valovaya street, 8/18, Moscow, 113054, Russia Tel.: +7-495-504-34-87 / 6294 E-mail: osadkova@azbukavkusa.ru
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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-53-63>

Received 10.12.2022

Accepted in revised 20.03.2023

Accepted for publication 23.03.2023

© Tlay R. H., Abdul-Abbas S. J., El-Maksoud A. A. A., Altemimi A. B., Abdelmaksoud T. G., 2023

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

Original scientific article

Open access



FUNCTIONAL BISCUITS ENRICHED WITH POTATO PEEL POWDER: PHYSICAL, CHEMICAL, RHEOLOGICAL, AND ANTIOXIDANT PROPERTIES

Rawaa H. Tlay¹, Sinan J. Abdul-Abbas², Ahmed A. A. El-Maksoud³,
Ammar B. Altemimi^{2,4}, Tarek G. Abdelmaksoud^{3*}

¹ Damascus University, Damascus, Syria

² University of Basrah, Basrah, Iraq

³ Cairo University, Giza, Egypt

⁴ University of Warith Al-Anbiyaa, Karbala, Iraq

KEY WORDS:

biscuits, potato peel powder, total phenols, antioxidant activity, organoleptic properties

ABSTRACT

This research aimed to replace wheat flour with potato peel powder (PPP) at different levels (3, 5, 7, 10, 30, and 50%). An effect of PPP on physical, chemical, rheological, and antioxidant properties of biscuit samples was investigated. The results show that the PPP sample had a significantly higher content of total sugar, protein and ash, and a lower content of moisture (15.68g/100g dry weight, 15.32 g/100g dry weight, 9.11%, 8.35%, respectively) compared with the wheat flour sample. Also, a higher total phenolic content and antioxidant activity (71.12 mg Gallic acid equivalent / 100g dry weight and 68.39%, respectively) was observed in the PPP sample. The highest percentage of PPP addition (50%) exerted the greatest significant effect on the content of total sugar, protein, moisture, ash, total phenols, and antioxidant activity compared with the control sample and other biscuit samples leading to their increase to 50.90 g/100g dry weight, 12.74 g/100g dry weight, 5.56%, 2.39%, 41.71 mg Gallic acid equivalent / 100g dry weight, 59.72%, respectively. A decrease in the L*, a*, b*, C*, h and BI values, and an increase in ΔE values were observed with replacing wheat flour with PPP. The 3% and 5% replacement rates contributed to improving most organoleptic characteristics (general acceptability, color, taste) compared to the samples with the highest studied percentages (30% and 50%). Although the highest percentages of PPP addition led to lower scores for sensory characteristics, all studied samples were acceptable from the sensory point of view, except the samples with the 50% replacement rate in terms of their taste and color.

Поступила 10.12.2022

Поступила после рецензирования 20.03.2023

Принята в печать 23.03.2023

© Тлей Р. Х., Абдул-Аббас С. Дж., Эль-Максуд А. А. А., Алтемими А. Б., Абедельмаксуд Т. Г., 2023

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

Научная статья

Open access

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ПЕЧЕНЬЕ, ОБОГАЩЕННОЕ ПОРОШКОМ КАРТОФЕЛЬНОЙ КОЖУРЫ: ФИЗИЧЕСКИЕ, ХИМИЧЕСКИЕ, РЕОЛОГИЧЕСКИЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА

Тлей Р.Х.¹, Абдул-Аббас С. Дж.², Эль-Максуд А.А.А.³, Алтемими А. Б.^{2,4}, Абедельмаксуд Т. Г.^{3*}

¹ Дамасский Университет, Дамаск, Сирия

² Университет Басры, Басра, Ирак

³ Каирский Университет, Каир, Египет

⁴ Университет Варит Аль-Анбия, Кербела, Ирак

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

печенье, порошок картофельной кожуры, общие фенолы, антиоксидантная активность, органолептические свойства

АННОТАЦИЯ

Цель этой работы состоит в описании и исследовании ранее неизвестного явления самосегментации молочного сгустка в сыродельной ванне открытого типа. На основе анализа кинетики гелеобразования определено, что самосегментация геля начинается вблизи геле-точки, развивается в течение нескольких десятков секунд и закрепляется по мере уплотнения геля. Сегменты в молочном сгустке не имеют определённой правильной формы, их средний размер варьируется в пределах от 5 до 50 см. Форма и размеры сегментов не повторяются и не коррелируют с видом вырабатываемого сыра. Смещение сегментов молочного сгустка в сыродельной ванне относительно друг друга по высоте составляет от 0,5 до 2 мм. Ширина граничного слоя между сегментами сгустка увеличивается в процессе вторичной фазы гелеобразования от 3 до 10 мм. В результате проведенных экспериментальных исследований показано, что самосегментация молочного геля вызывается термогравитационной конвекцией, образующей циркуляционные ячейки Бенара. Предложено описание возможного механизма самосегментации молочного геля в сыродельных ваннах открытого типа. Отмечена действенная роль жировых шариков в механизме самосегментации молочного сгустка. Высказано предположение, что самосегментация молочного сгустка в сыродельной ванне может вызвать некоторые органолептические дефекты в готовом сыре, в частности неравномерность текстуры и неравномерность цвета.

FOR CITATION: Tlay, R. H., Abdul-Abbas, S. J., El-Maksoud, A. A. A., Altemimi, A. B., Abdelmaksoud, T. G. (2023). Functional biscuits enriched with potato peel powder: Physical, chemical, rheological, and antioxidant properties. *Food Systems*, 6(1), 53-63. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-53-63>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Тлей, Р. Х., Абдул-Аббас, С. Дж., Эль-Максуд, А. А. А., Алтемими, А. Б., Абедельмаксуд, Т. Г. (2023). Функциональное печенье, обогащенное порошком картофельной кожуры: физические, химические, реологические и антиоксидантные свойства. *Пищевые системы*, 6(1), 53-63. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-53-63>

1. Introduction

The potato (*Solanum tuberosum* L.) belongs to the Solanaceae family, originated in South America circa 500 B.C [1], and is the fourth most widely grown crop in the world [2]. Global potato production reached 367.75 million tones [3].

On an industrial scale, potato products (e.g., potato fries, potato chips, mashed sweet potatoes) generate between 3 and 5% of waste (peel) [1]. Arapoglou et al. [4] reported that the losses (%) caused by potato peeling ranged between 15 and 40%, depending on the peeling method (i.e., steam peeling, alkali peeling, or abrasion). Typical potato processing plant generate from 6 to 10% of potato peel waste during the peeling process, and 15% of waste are caused by defect removal, trimming, and cutting. Potato peels contain fiber between 9.7 and 68% of its total weight [5]. Potato peel has a protein content of 18%, ash content of 6% on a dry weight basis, and produce 63% of fiber on a dry weight basis by manual peeling [6]. Additionally, potato peel waste contains high concentrations of minerals (potassium, calcium, magnesium, iron, and zinc), as the potassium content reaches 15.7 g/kg, calcium 3.05 g/kg, magnesium 1.09 g/kg, iron 388 mg/kg, zinc 18.65 mg/kg, copper 12.05 mg/kg, manganese 14 mg/kg, chromium less than 5 mg/kg, lead less than 5 mg/kg [7].

Potato peels are an excellent source of numerous important functional components, such as phenolic compounds. For example, Sabeena Farvin et al. [8] found that potato peel extracts are rich in their content of phenolic acids. The ethanolic extract of potato peel contained gallic acid (0.9 mg/g dry weight), protocatechuic acid (7.38 mg/g dry weight), gentisic acid (15.42 mg/g dry weight), chlorogenic acid (0.43 mg/g dry weight), vanillic acid (1.10 mg/g dry weight), syringic acid (0.64 mg/g dry weight), caffeic acid (2.79 mg/g dry weight), salicylic acid (0.11 mg/g dry weight), p-coumaric acid (0.58 mg/g dry weight). Joly et al. [9] stated that potato peels contain several important phenolic antioxidants that can be used as natural antioxidants. The content of polyphenols in potato peels is around 10 times higher than in flesh [10]. The antioxidant potency of the freeze-dried extract of potato peel was also found by Singh et al. [11]. Potato peel is an important source of dietary fiber, which accounts for about 40–45% of its dry weight [12].

Dietary fiber is an indigestible component that makes up the plant cell wall. The botanists define fiber as part of the plant organs, consumers as a substance with beneficial effects on human health, while dietary fiber from a manufacturing point of view is an object of marketing. Fiber consists of hemicellulose, cellulose, lignin, oligosaccharides, pectins, gums, and waxes. The diets with a high content of dietary fiber have a positive effect on human health [13]. Dietary fibers act as a protective agent against several diseases, including cardiovascular diseases, diverticulosis, constipation, irritable colon, colon cancer and diabetes [14,15]. It is recommended for healthy adults to intake 20–35 g of dietary fiber per day [16].

Thus, many studies aimed to create new applications of potato peel in a wide range of food products. For example, the addition of fiber in the bread industry contributed to an increase in the values

of hydration of flour with water. It was also noted that replacing wheat bran with potato peels led to the superiority of bread in terms of its content of minerals and total dietary fibers [17]. Also, the cake prepared using 25% of apple pomace and wheat flour was of acceptable high quality [18]. Toma et al. [17] reached the best results when the levels of replacing wheat flour with potato peel powder ranged between 10 and 15%. The resulting bread was darker and tougher compared to the control. No significant sensory changes were observed at the 10% replacement rate compared to the control. Han et al. [19] reported that when wheat flour was replaced with 10, 15, and 20% of potato peel powder in the cookies, the glycoalkaloid content was 6.27, 9.40, and 12.54 mg, respectively. These values are considered safe for the human body and sufficient for the production of functional cookies according to USDA guidelines. Replacing wheat flour in the cookie samples with 10% potato peel powder gave the highest scores in sensory evaluation. Shagufta et al. [1] showed the physical properties (width, thickness, and spread ratio) of biscuits reinforced with potato peel powder. The mean values ranged from 40.81 to 45.22 for width, from 9.74 to 10.97 for thickness and from 37.20 to 46.43 for spread ratio during 90 days of storage.

Therefore, due to the fact that potato peels contain many components beneficial for health, large amounts of potato peels produced in the form of waste, and the lack of local studies on the possibility of converting potato waste (peels) into food products with added value containing antioxidants, proteins, and dietary fibers, the research objectives were as follows: 1) studying quality characteristics of wheat flour and potato peel powder produced; 2) studying quality characteristics, sensory characteristics, and color indicators of the resulting biscuit samples; 3) studying an effect of replacing wheat flour with potato peel powder in different proportions on the rheological properties of the resulting dough.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Potatoes were purchased from the local market of Damascus, and the peels were obtained by peeling the potatoes of the Spunta variety (*Solanum tuberosum* var. *spunta*). The materials needed to manufacture the biscuits (wheat flour, butter, sodium bicarbonate, sodium chloride, sugar) were purchased from the local market of Damascus.

2.1.1. Preparation of potato peel powder

Potato peel powder was prepared according to the method described earlier [20]. Potato tubers were washed with plain water and peeled manually. The percentage of peels obtained was on average 13% of the tuber weight. The peels were dried using a hot air-drying oven (Köttermann, 2717, 2701, Gemini bv, Dutch company, found in the Faculty of Agriculture Laboratories, Department of Food Sciences at Damascus University) at 60 °C for 12 hours to constant moisture. After drying, the dried peels were ground using a mill (Moulinex, Y44, Moulinex, France) until fine (Figure 1), then sieved through a fine sieve (60 mesh) to obtain a



Figure 1. Potato peel powder
Рисунок 1. Порошок картофельной кожуры

fine homogeneous powder and stored in opaque sealed containers in a cool dry place until the time of manufacture and testing.

2.2. Methods

2.2.1. Preparation of biscuits

The control biscuits were prepared from wheat flour according to the method described by Dhingra et al. [16] and Tyagi et al. [21] with some modifications. The components of the control biscuits were as follows: 100 g of wheat flour (72% extraction), 55 g sucrose sugar, 50 g butter, 0.50 g sodium chloride, 1 g sodium bicarbonate, 1 g baking powder, 8.9 g glucose sugar and 150 ml of water. The sugar and butter were mixed using a mixer for 3 minutes, then sodium bicarbonate and sodium chloride were dissolved in water at room temperature, then they were mixed well for 5–6 minutes to obtain a homogeneous mixture (Moulinex, QA311127, France). All ingredients were mixed using a mixer (Moulinex, QA311127, France) with baking powder and sifted flour for 3 minutes. The dough was cut into pieces of suitable sizes, shaped using special molds and baked at 180 °C for 11–12 minutes (WattarB9050S,

Wattar, Syria). After baking, the biscuits were cooled to room temperature (28 to 30 °C), then the biscuits were packed in airtight containers until the analyses were carried out.

The other biscuit samples were prepared by replacing wheat flour with different percentages of potato peel powder (3, 5, 7, 10, 30, 50%) according to the aforementioned method (Figure 2).

2.2.2. Chemical analysis

Moisture was estimated according to the method given in AACC [22] No. (44–15.02) by drying at 105 °C until constant weight using a hot air oven (Köttermann, model 2701), and ash content was estimated according to the method mentioned in AACC [22] No. (08–01) by burning the sample at a temperature of 550 °C until all the organic matter was burned using a Wise-Therm incinerator. The total protein was determined by the Kjeldahl method [23]. Total sugars in the samples were estimated using the reactions of the reversibility (Fehling's test), whereby sucrose is hydrolyzed into monosaccharides (glucose and fructose) to be measured [23].

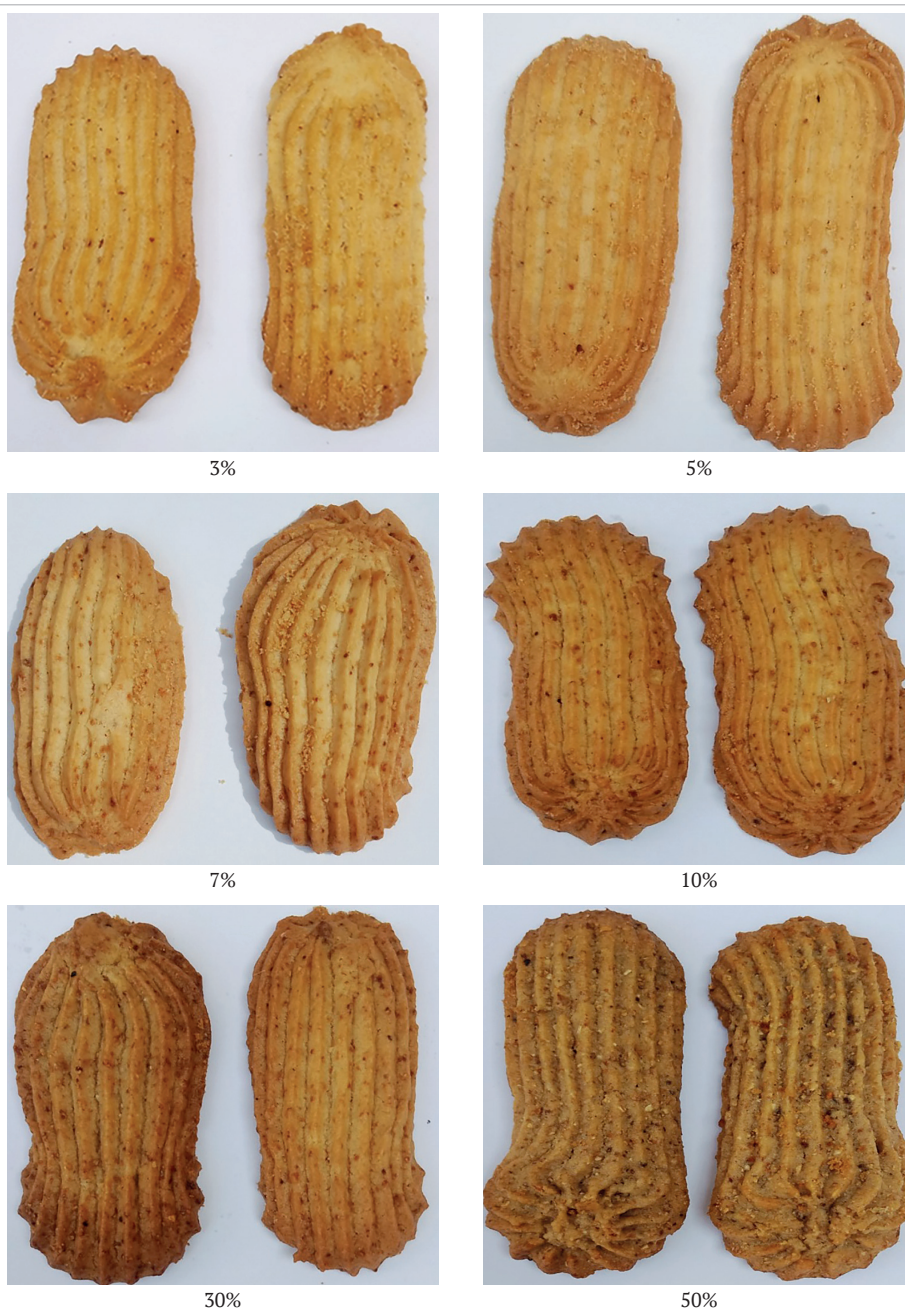


Figure 2. Wheat flour with different percentages of potato peel powder (3, 5, 7, 10, 30, 50%)
Рисунок 2. Пшеничная мука с различными процентами порошка картофельной кожуры (3, 5, 7, 10, 30, 50%)

2.2.3. Color analysis

Mapping of color indices (L^* , a^* , b^*): The color indices (L^* , a^* , b^*) were measured using the Hunter Lab device (Chroma meter CR-410, Japanese) according to Bilgiçli and Levent [24], where the symbols denote: L^* (Lightness), a^* (Redness/Greenness), b^* (yellowness/blueness). The value of the indicators (h and C^*) was calculated according to Wrolstad et al. [25] from the following two relationships:

$$\text{Hue angle } (h) = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (1)$$

$$C^* = \sqrt{((a^*)^2 + (b^*)^2)} \quad (2)$$

The total change in color was calculated according to Saricoban and Yilmaz [26] from the following relationship:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (3)$$

The value of the tan index was calculated according to Mohammadi et al. [27] from the following relationship:

$$\text{Browning Index } (BI) = [100 (X^* - 0.31)] / 0.17 \quad (4)$$

where:

$$X^* = (a^* + 1.75 L^*) / (5.645 L^* + a^* - 3.012 b^*) \quad (5)$$

2.2.4. Texture profile analysis (TPA) of biscuits

Hardness, adhesiveness, resilience, and fracturability of biscuits were measured using the Brookfield Texture Analyzer (CT3, Brookfield, USA) in the Agriculture Research Center, Giza, Egypt [28].

2.2.5. Mixolab and Alveograph experiments

Mixolab and Alveograph experiments were conducted in the Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt.

Rheological analysis of dough, the mixing behavior of doughs obtained from wheat flour and blends were studied using Mixolab (Chopin, Tripette, Renaud, Paris, France). It measures in real-time the torque (expressed in Nm) produced by the passage of dough between the two kneading arms, hence allowing the study of its rheological behavior [29]. For the assays, 50 g of wheat flour was placed into the Mixolab bowl and mixed with the amount of water needed to reach the target consistency (1.1 Nm). When potato peel powder (PPP) was tested, 3, 5, 7, 10% of wheat flour were replaced by PPP. The specific protocol (Mixolab Standard) used for dough testing consisted of 30 min mixing at 30 °C and the mixing speed during the entire assay was 80 rpm. Two batches were made for each sample. Parameters recorded from the Mixolab curve included: water absorption or the amount of water required to reach the consistency of 1.1 Nm (expressed as milliliters per 100g of flour at 14.0% moisture maximum consistency), dough development time or time to reach the maximum consistency, and stability of the dough during mixing that indicates the elapsed time, at which dough retained the maximum consistency.

Rheological properties of wheat flour were determined by a Chopin MA 82 alveograph (according to ICC Standard 55 30–3). Each alveograph chart was analyzed for four factors: P — the maximum overpressure needed to blow the dough bubble — expresses dough elasticity, L — the average abscissa at bubble rupture — expresses dough elasticity, P/L — alveograph ratio and W — the baking strength. The variables represent the average of five curves from five dough patties [30]. The results of analysis were expressed by average, minimum, and maximum values and by the standard deviation in each sample set. Spectra were acquired with a NIRS6500 wavelength scanning instrument (NIR Systems, Inc., USA) using a small annular cup. The range of scanning was from 400 to 2500 nm, and wavelength increments of 2 nm were used. Diffuse reflectance was recorded as log 1/R.

The average spectra from two scans obtained for each sample were utilized for calibration.

2.2.6. Determination of the antioxidant activity

The antioxidant activity was measured by estimating the free radical scavenging activity using the 2,2'-diphenyl 1,1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay according to Younis et al. [31].

2.2.7. Determination of total phenolic compounds

In extracting total phenols, the method of L. Wada and B. Ou [32] was employed, and the total phenols were estimated using the Folin Ciocalteu method according to [33, 34].

2.2.8. Functional properties

Water, emulsion, and oil absorption capacities (WAC, EAC, and OAC) of wheat flour and potato peel powder were determined using the AACC method 56–20 [35].

2.2.9. Sensory evaluation

Sensory tests were conducted by a group of 15 people (professors, students and staff from the Department of Food Science, University of Damascus) using the hedonic scale, identifying seven points (color, taste, smell, texture, melting in the mouth, fracture, and general acceptability) according to Akhtar et al. [36]. Sensory evaluation scores were given as follows: 1 — poor, 2 — acceptable, 3 — good, 4 — very good, 5 — excellent.

2.2.10. Statistical analysis

Experimental results were analyzed by analysis of variance (ANOVA) using XLSTAT software version 2014, 5.03 (Addinsoft, New York, NY, USA) in three replicates and expressed as the mean $\pm$ standard error of the mean. Differences between sample means with a p-value $\leq$ 0.05 were considered to be significant.

3. Results and Discussion

3.1. Chemical composition of wheat flour and potato peel powder

Table 1 presents the results of some chemical indicators for the studied samples (wheat flour and potato peel powder). The results show a lower moisture content in the potato peel powder sample compared with wheat flour (8.35%, 13.09%), respectively. These results are in agreement with [16], where the moisture of potato peel powder was 7.85%, and [37], where wheat flour moisture was 13.90%.

Table 1. Some chemical indicators of wheat flour and potato peel powder samples

Таблица 1. Некоторые химические показатели образцов пшеничной муки и порошка картофельной кожуры

Sample	Moisture%	Total sugar (g/100g) dry base	Protein (g/100g) dry base	Ash%
Wheat flour	13.09 $\pm$ 0.10 ^a	13.09 $\pm$ 0.50 ^b	11.45 $\pm$ 0.89 ^b	0.44 $\pm$ 0.05 ^b
Potato peel powder	8.35 $\pm$ 0.32 ^b	15.68 $\pm$ 0.66 ^a	15.32 $\pm$ 0.77 ^a	9.11 $\pm$ 0.10 ^a

a and, b: small letters refer to significant differences ($p \leq 0.05$) between the means.

It can be seen from Table 1 that the content of total sugars, ash, and protein in the sample of potato peel powder was 15.68 g / 100 g dry weight, 9.11%, and 15.32 g / 100 g dry weight, respectively. These results are in agreement with those in other studies. For example, the ash content was 9.03% in potato peel powder [7] and 0.46% in wheat flour [37], the percentage of protein was 15.71% on a dry weight basis in potato peel powder [38] and 11.32% in wheat flour [37]. Shagufta et al. [1] reported that the proximate composition of wheat flour and potato peel powder was as follows: 3.58 and 11.99% moisture, 6.92 and 0.52%

ash, 2.25 and 1.06% fat, 68.73 and 0.54% fiber, 12.16 and 10.81% protein, 4.97 and 86.06% carbohydrates, respectively. Leo et al. [39] showed that potato peel contained 10.76% protein, 10.56% ash, 4.98% fat, 4.97% carbohydrates, and 68.53% fiber. Sharoba et al. [14] found that wheat flour had 11.98% moisture, 11.85% protein, 1.05% fat, 0.51% ash, 0.54% fiber, 86.04% carbohydrates, while potato peel powder had 3.57% moisture, 6.91% ash, 2.25% fat, 12.17% protein, 73.25% fiber.

3.2. Effect of replacing wheat flour with potato peel powder on chemical indicators of biscuit samples

The results shown in Table 2 indicate that there was a significant effect of replacing wheat flour with potato peel powder at the replacement rate of 3% to 50% on percentages of protein, moisture, ash, and total sugars. The 50% replacement led to the highest content of total sugars, protein, moisture and ash (50.90 g/100 g dry weight, 12.74 g/100 g dry weight, 5.56%, 2.39%, respectively) in the biscuit samples fortified with potato peel powder compared to their content in the control samples (40.62 g/100g dry weight, 7.42 g/100g dry weight, 4.76%, 0.70%, respectively).

Table 2. Effect of replacing wheat flour with potato peel powder on chemical indicators of biscuit samples

Таблица 2. Влияние замены пшеничной муки на порошок картофельной кожуры на химические показатели образцов печенья

Samples	Moisture%	Total sugar (g/100g) dry base	Protein (g/100g) dry base	Ash%
Control	4.76±0.50 ^e	40.62±0.23 ^g	7.42±0.10 ^{ef}	0.70±0.10 ^d
Biscuits fortified with 3% PPP	4.84±0.38 ^{de}	41.42±0.55 ^{ef}	7.50±0.25 ^{ef}	0.75±0.17 ^d
Biscuits fortified with 5% PPP	4.90±0.12 ^d	41.95±0.66 ^e	7.80±0.06 ^e	0.79±0.28 ^d
Biscuits fortified with 7% PPP	4.98±0.52 ^d	42.48±0.55 ^d	8.10±0.14 ^{cd}	0.84±0.18 ^c
Biscuits fortified with 10% PPP	5.03±0.46 ^{bc}	43.28±0.55 ^c	8.60±0.14 ^c	0.89±0.12 ^c
Biscuits fortified with 30% PPP	5.28±0.17 ^b	47.59±0.55 ^b	10.16±0.14 ^b	1.59±0.06 ^b
Biscuits fortified with 50% PPP	5.56±0.23 ^a	50.90±0.55 ^a	12.74±0.14 ^a	2.39±0.10 ^a

The same letters within the same column indicate that there are no significant differences between the means at the confidence level ($p \leq 0.05$). PPP — potato peel powder

This may be due to the high content of proteins, sugars, ash, and fiber in potato peel powder compared with wheat flour. An increase in the moisture content in biscuits with a higher percentage of potato peel powder was attributed to the high water-holding capacity of potato peel as the fiber has a strong water absorption capacity [1] and the corresponding large content of fiber in the biscuit samples with potato peel powder [40]. The high ash percentage is also due to the high fiber content in the samples with a high replacement rate [41].

3.3. Total phenol content and antioxidant activity of biscuit samples

Wheat flour is a good source of calories and various nutrients on its own, but its antioxidant capacity is low because it is refined during processing [42]. Biscuits made with refined wheat flour and other ingredients lack phytochemicals and dietary fiber, so wheat flour must be combined with potato peel powder to increase its antioxidant capacity.

Table 3 demonstrates the effect of replacing wheat flour with different percentages of potato peel powder on the content of total phenols and the antioxidant activity of the studied biscuit samples estimated using the free radical DPPH. The content of

the total phenols and the antioxidant activity were 71.12 mg Gallic acid equivalent /100g dry weight and 68.39%, respectively, in the potato peel powder samples and 3.28 mg Gallic acid equivalent /100g dry weight and 13.37%, respectively, in the samples of wheat flour.

Table 3. Effect of replacing wheat flour with different percentages of potato peel powder on the content of total phenols and the antioxidant activity of the studied biscuit samples

Таблица 3. Влияние замены пшеничной муки различными процентами порошка картофельной кожуры на содержание общих фенолов и антиоксидантную активность исследованных образцов печенья

Samples	TPC (mg/100g dry weight)	Antioxidant activity (%)
Wheat flour	3.28±0.60	13.37±0.52
PPP	71.12±0.87	68.39±0.26
Control biscuits	5.86±0.23 ^e	20.06±0.35 ^e
Biscuits with 3% PPP	7.43 ±0.75 ^f	21.27±0.40 ^f
Biscuits with 5% PPP	10.26±0.42 ^e	25.23±0.65 ^e
Biscuits with 7% PPP	13.86±0.16 ^d	40.43±0.17 ^d
Biscuits with 10% PPP	17.05±0.68 ^c	42.85±0.33 ^c
Biscuits with 30% PPP	33.28±0.64 ^b	54.71±0.44 ^b
Biscuits with 50% PPP	41.71±0.58 ^a	59.72 ±0.61 ^a

The same letters within the same column indicate that there are no significant differences between the means at a confidence level ($p \leq 0.05$). TPC — total phenol content, PPP — potato peel powder

The high antioxidant activity in biscuits fortified with potato peel powder is due to a higher antioxidant content of potato peel powder in comparison with wheat flour. The Maillard reaction is responsible for the development of the brown pigments melanoidins during the baking process. Melanoidins possess the antioxidant properties. So the antioxidant activity of the potato peel biscuits may be enhanced by the Maillard reaction. Abdel-Aal and Rabalski [43] pointed out that free phenolic acids increased after baking, while bound phenolic acids decreased in bread and slightly changed in muffins and cookies. Whole grain products should be considered good sources of phenolic antioxidants, despite the fact that the effect of baking seems to depend on a type of baked product, type of phenolic, recipe, and baking conditions [43]. The dissociation of the bound phenolic moiety, which is followed by polymerization and oxidation reactions, as well as the formation of new phenolic compounds that were not present prior to thermal processing, can be the cause of an increase in the content of free phenolics during the process [44, 45, 46, 47]. The development of Maillard reaction products (MRPs) can also be responsible for an increase in the content of phenolic compounds [47]. It is necessary to note that certain products of the Maillard reaction have the reductone structures and the formation of MRPs can contribute to an increase in the total phenolic compounds in the Folin-Ciocalteu assay [48]. Bressa et al. [49] found that MRPs produced within the first 20 to 30 minutes of cooking had the high antioxidant capacity. An improvement in the antioxidant properties of naturally occurring compounds and formation of Maillard reaction products are probably responsible for an increase in the antioxidant capacity [47].

The results obtained are consistent with what was indicated by Rowayshed et al. [7] as the content of total phenols and the antioxidant activity of ethanolic extracts of potato peels were 75.67 mg Gallic acid equivalent /100g dry weight and 67.65%, respectively. Also, Almasri et al. [50] indicated that potato peels contain a high concentration of antioxidants such as phenolic acids (potato peel extracts had a phenolic content of 96.66 mg of Gallic acid per 100 g), so they have a high nutritional value. The potato peel fractions are considered a value-added ingredient in

other foodstuffs to increase antioxidant intake by humans and have the potential to be used as antioxidant supplements in the pharmaceutical industry.

The addition of potato peel powder in different proportions (3–50%) contributed to a significant increase of 26.79%–611.77% in the total phenolic content and an increase of 6.03%–197.71% in the antioxidant activity compared with the control samples. Higher concentrations of potato peel powder in biscuits led to a higher total phenolic content and a higher antioxidant activity in the studied samples. For example, the addition of 3%, 5%, 7%, 10% and 30% of potato peel powder resulted in an increase of 26.79%, 75.09%, 136.52%, 190.96% and 467.92%, respectively, in total phenols and an increase of 6.03%, 25.77%, 101.55%, 113.61% and 172.73%, respectively, in the antioxidant activity. Biscuit samples fortified with potato peel powder at a 50% replacement rate showed a marked increase of 611.77% in the total phenolic content (41.71 mg Gallic acid equivalent /100g dry weight) and an increase of 197.71% in the antioxidant activity (59.72%) compared with the control biscuit samples (5.86 mg Gallic acid equivalent /100g dry weight and 20.06%, respectively).

3.4. Color indicators of the studied biscuit samples

Table 4. Effect of replacing wheat flour with different percentages of potato peel powder on the color indicators of the studied biscuit samples

Таблица 4. Влияние замены пшеничной муки различными процентами порошка картофельной кожуры на показатели цвета исследованных образцов печенья

Samples	L*	a*	b*	C*	BI	h	ΔE*
Wheat flour	93.91	-1.82	14.49	14.61	14.90	-82.84	—
PPP	51.56	3.03	13.25	13.59	33.48	77.12	—
Control biscuits	67.01 ^a	6.36 ^a	34.83 ^a	35.41 ^d	77.63 ^a	79.65 ^a	—
Biscuits with 3% PPP	66.91 ^b	4.68 ^b	27.96 ^c	28.35 ^a	57.88 ^d	80.50 ^b	7.07 ^f
Biscuits with 5% PPP	63.07 ^c	3.68 ^c	28.33 ^b	28.57 ^b	62.16 ^c	82.60 ^c	8.06 ^e
Biscuits with 7% PPP	62.05 ^d	5.04 ^d	26.78 ^d	27.25 ^c	61.01 ^b	79.34 ^d	9.55 ^d
Biscuits with 10% PPP	53.46 ^e	5.88 ^e	18.44 ^e	19.35 ^d	49.64 ^e	72.31 ^e	21.27 ^c
Biscuits with 30% PPP	46.56 ^f	4.94 ^f	14.19 ^f	15.03 ^a	43.55 ^f	70.80 ^f	29.09 ^b
Biscuits with 50% PPP	43.25 ^g	4.71 ^g	11.64 ^g	12.56 ^b	38.85 ^g	67.97 ^g	33.24 ^a

The same letters within the same column indicate that there are no significant differences between the means at a confidence level ($p \leq 0.05$). L*: Lightness; a*: Redness; b*: Yellowness; C*: Color Intensity; h: Hue Angle; BI: Browning Index; ΔE*: total change in color. PPP — potato peel powder

Table 4 shows an effect of replacing wheat flour with different percentages (3–50%) of potato peel powder on the color indicators of the studied biscuit samples. Adding potato peel powder led to significant changes in all studied color indicators for manufactured biscuit samples compared to the control sample. L*, a*, b*, C*, h and BI values decreased and ΔE* rose with an increase in the proportions of replacing wheat flour with potato peel powder, and this gave the biscuits a darker color compared to the control biscuits, while the control samples had higher L*, a*, b* and C* values. Additionally, the yellowness and brightness of the biscuits decreased due to the enzymatic browning. Brown pigments that occur during the browning and caramelization reaction, as well as temperature and cooking time, influence the color of biscuits.

The potato peel powder sample was characterized by higher values of a*, BI and h and lower values of b*, L* and C* compared with the wheat flour sample. Rowayshed et al. [7] reported that the L*, a* and b* values in the control biscuit samples were 63.58, 14.04 and 25.41, respectively. The addition of potato peel extract to the biscuits with concentrations ranging from 0.5% to 3% led to a reduction in the values of color indices compared to the control biscuits. The L*, a* and b* values were 62.96, 8.99 and 24.7, respectively, in biscuits enriched with the potato peel

extract in a concentration of 0.5% and 53.33, 10.31 and 21.98, respectively, in biscuits enriched with the potato peel extract in a concentration of 3%. A decrease in the values of yellowness (b*) and brightness (L*) was due to browning [51]. Han et al. [19] indicated that replacement of wheat flour with potato peel in different proportions led to higher brightness (L*) values (90.97, 89.24 and 90.04) and lower a* (4.69, 5.13 and 3.85) and b* values (−9.49, −7.68 and −10.66) in the biscuit samples with the 10%, 15% and 20% replacement ratio, respectively, compared to the corresponding values of color indices in the control biscuits (83.88, 8.92 and 1.25, respectively).

3.5. Sensory properties of the studied biscuit samples

The results of studying the effect of replacing wheat flour with different percentages (3–50%) of potato peel powder on the sensory characteristics of the studied biscuit samples are presented in Table 5. As can be seen from the table, there was a significant effect of replacing wheat flour with potato peel powder on the sensory characteristics of the studied biscuit samples. The biscuit samples enriched with potato peel powder in different proportions were acceptable to the assessors from the sensory point of view as the sensory evaluation scores for all studied traits ranged between 2.1 and 4.7, excluding the samples with the 50% replacement, which were unacceptable for the panelists in terms of color and taste.

The samples with the 3% and 5% replacement rates had better sensory characteristics (general acceptance, color, taste) compared to the samples with the highest studied percentages (30% and 50%), which had poor sensory characteristics as the taste was unpalatable, the color was dark and unacceptable, and the solubility in the mouth was poor in the samples with higher percentages of potato peel powder compared to the control biscuit sample. The reason for a decrease in the color tone in the biscuit samples with the high percentage of potato peel powder maybe the brown color of potato peels, which became dark brown with the high temperature during baking. Similar results were obtained by Srivastava et al. [52], who found that the addition of sweet potato flour imparted the dark brown color to biscuits. Raymundo et al. [53] reported that the biscuits became darker with an increase in the level of added fiber, and this effect can be explained by the non-enzymatic browning when wheat flour was replaced with fiber.

The scores for taste or flavor of the product decreased significantly, especially in the samples with the 30% and 50% replacement rate, probably due to the high content of glycol alkaloids (alpha- chaconine and alpha- solanin) at higher percentages of fortification with potato peels. The biscuits that contained a high amount of potato peel powder showed contradictory results regarding texture. A decrease in the general acceptability of biscuits with an increase in the level of potato peel powder is due to the total effect on taste, color and texture because they are the basic qualities that influence consumer acceptance. Han et al. [19] reported that replacement of wheat flour with potato peels in different proportions (10%, 15% and 20%) led to a decrease in a degree of biscuit hardness in all studies samples. Cohesiveness, springiness and brittleness increased in the samples with the 10% replacement rate and decreased in all other samples compared to the control. Sensory evaluation showed that the highest scores for flavor, taste, appearance, texture and overall acceptability were in the biscuits with 10% of potato peel powder compared to the control and other samples. The scores for color were the same in the samples with the 10% replacement rate and the control. Rowayshed et al. [7] showed that an increase in the proportion of potato peel extracts in biscuits from 0.5% to 3% led to a decrease in the sensory scores for color, odor, taste, texture and overall quality compared to the control samples.

Table 5. Effect of replacing wheat flour with different percentages of potato peel powder on the sensory properties of the studied biscuit samples

Таблица 5. Влияние замены пшеничной муки различными процентами порошка картофельной кожуры на сенсорные свойства исследованных образцов печенья

Samples	Taste	Color	Smell	Texture	Melting in the mouth	Fracture	General Acceptability
Control biscuits	4.6 ± 0.60 ^a	4.7 ± 0.33 ^a	4.4 ± 0.24 ^a	4.3 ± 0.50 ^a	4.3 ± 0.31 ^a	4.5 ± 0.22 ^a	4.5 ± 0.41 ^a
Biscuits with 3% PPP	3.7 ± 0.30 ^b	4.4 ± 0.42 ^a	4.1 ± 0.34 ^a	4.1 ± 0.17 ^a	4.1 ± 0.16 ^a	4 ± 0.34 ^a	4.1 ± 0.21 ^a
Biscuits with 5% PPP	3.3 ± 0.14 ^b	4 ± 0.59 ^{ab}	4.1 ± 0.54 ^a	4 ± 0.26 ^a	3.8 ± 0.61 ^b	4 ± 0.30 ^a	3.8 ± 0.23 ^b
Biscuits with 7% PPP	3.1 ± 0.21 ^b	3.3 ± 0.21 ^c	3.6 ± 0.52 ^b	3.7 ± 0.51 ^b	3.7 ± 0.64 ^b	3.7 ± 0.46 ^b	3.5 ± 0.64 ^b
Biscuits with 10% PPP	3 ± 0.63 ^b	3.1 ± 0.33 ^c	3.5 ± 0.24 ^b	3.7 ± 0.23 ^b	3.1 ± 0.12 ^b	3.5 ± 0.21 ^b	3.3 ± 0.25 ^b
Biscuits with 30% PPP	2.1 ± 0.47 ^c	2.3 ± 0.30 ^d	3 ± 0.62 ^c	3.3 ± 0.36 ^b	2.3 ± 0.46 ^c	3 ± 0.42 ^{bc}	2.7 ± 0.32 ^c
Biscuits with 50% PPP	1.8 ± 0.54 ^d	1.5 ± 0.55 ^e	2.1 ± 0.62 ^d	2.3 ± 0.42 ^c	2.2 ± 0.24 ^c	2.5 ± 0.15 ^d	2.1 ± 0.20 ^{cd}

The same letters within the same column indicate that there are no significant differences between the means at a confidence level ($p \leq 0.05$). PPP — potato peel powder.

3.6. Functional properties of potato peel powder and wheat flour

Table 6. Functional properties of potato peel powder and wheat flour

Таблица 6. Функциональные свойства порошка картофельной кожуры и пшеничной муки

Studied indicators	Wheat flour	Potato peel powder
Water absorption capacity, g/g	0.97	2.58
Oil absorption capacity, g/g	1.14	1.24
Emulsion absorption capacity, g/g	1.24	3.16

The results referred to in Table 6 show that potato peel powder had better water absorption capacity (WAC), oil absorption capacity (OAC) and emulsion absorption capacity (EAC). The WAC, OAC and EAC values were 165.98%, 8.77% and 154.84% higher, respectively, in potato peel powder than in wheat flour. The results obtained are close to what was found by Ben Jeddou et al. [38], who reported that the ability to bind water in potato peel powder of the cultivar Spunta was 3.37 g/g and the ability to bind fat was 2.07 g/g.

3.7. Texture profile analysis

Texture analysis is primarily concerned with the measurement of the mechanical properties of a product, often a food product, as they relate to its sensory properties evaluated by a human. Texture analysis is performed by applying controlled forces to the product and recording its response in the form of force, deformation, and time [54]. Texture measurements are useful for quality control, process optimization, and product development with desirable features.

Data in Table 7 present the textural parameters assessed from the texture profile analysis (TPA) test of the biscuits samples (control, 3%, 5%, 7% and 10%).

As can be seen from the table, hardness of biscuits increased with increasing potato peel powder levels from 3% to 10%. The highest value of hardness was in the sample with the 10% replacement rate. A similar trend was observed for fracturability with its highest value in the samples with the biggest proportion of potato peel powder. The increment in hardness and fracturability may be due to the addition of potato peel powder. On the contrary, a decreasing trend was observed for adhesiveness, which represents the work necessary to pull the compressing plunger away from the sample [55,56], and resilience, which shows how well a product 'fights' to regain its original position [57]. The results in Table 7 show that the biscuit sample with 10% replacement had the lowest values (0.10 mj and 0.00, respectively) of these parameters compared to the control sample (0.30 mj and 0.08, respectively). The increased fiber content contributes to hardness of biscuits influencing gluten network optimal formation and resulting in a solid compact structure [58].

Table 7. Texture properties of biscuits samples

Таблица 7. Текстуальные свойства образцов печенья

Sample	Hardness (N)	Adhesiveness (mj)	Resilience	Fracturability (N)
Control	11.95	0.30	0.08	11.95
3%	15.68	0.30	0.08	14.86
5%	28.08	0.20	0.01	28.08
7%	30.70	0.10	0.00	30.70
10%	41.96	0.10	0.00	41.96

Ben Jeddou et al. [38] stated that when potato powder was utilized in place of wheat flour at replacement rates of 2–10%, the cake cohesion and hardness significantly decreased. Dhingra et al. [16] observed that when the fiber content increased from 5 to 15%, the biscuits' breaking strength increased from 1.96 kg to 3.83 kg. The water-binding properties of potato peel fiber influenced the biscuits' hardness leading to its increase. So the dough did not spread well resulting in greater breaking strength, thick and small biscuits.

3.8. Dough rheological properties

Figure 3 and Table 8 illustrate the data recorded during mixing in the Mixolab. The inclusion of potato peel powder up to 10% affected the rheological behavior of the dough during mixing. While the level of water absorption was the same in the sample with the 3% replacement rate and the control, it increased in the samples containing 5%, 7% and 10% of potato peel powder by 1.24%, 2.83% and 2.83%, respectively. Similarly, an increase of 25.25%, 246.21%, 288.28% and 510.35% was observed in dough development time in the samples with the 3%, 5%, 7% and 10% replacement rate, respectively, but stability decreased in these samples by 3.76%, 5.70%, 4.09% and 5.05%, respectively, compared to the control containing only wheat flour. Dough development time and stability value indicate the flour strength. Higher values of these parameters suggest stronger doughs [59].

Table 8. Mixolab values of the control sample and the samples with different replacement levels (3, 5, 7, 10%)

Таблица 8. Уровни Mixolab контрольного образца и образцов с различными уровнями замены (3, 5, 7, 10%)

Sample	Water absorption (%)	Dough development time (min)	Stability (min)
Control	56.5	1.45	9.30
3%	56.5	1.82	8.95
5%	57.2	5.02	8.77
7%	58.1	5.63	8.92
10%	58.1	8.85	8.83

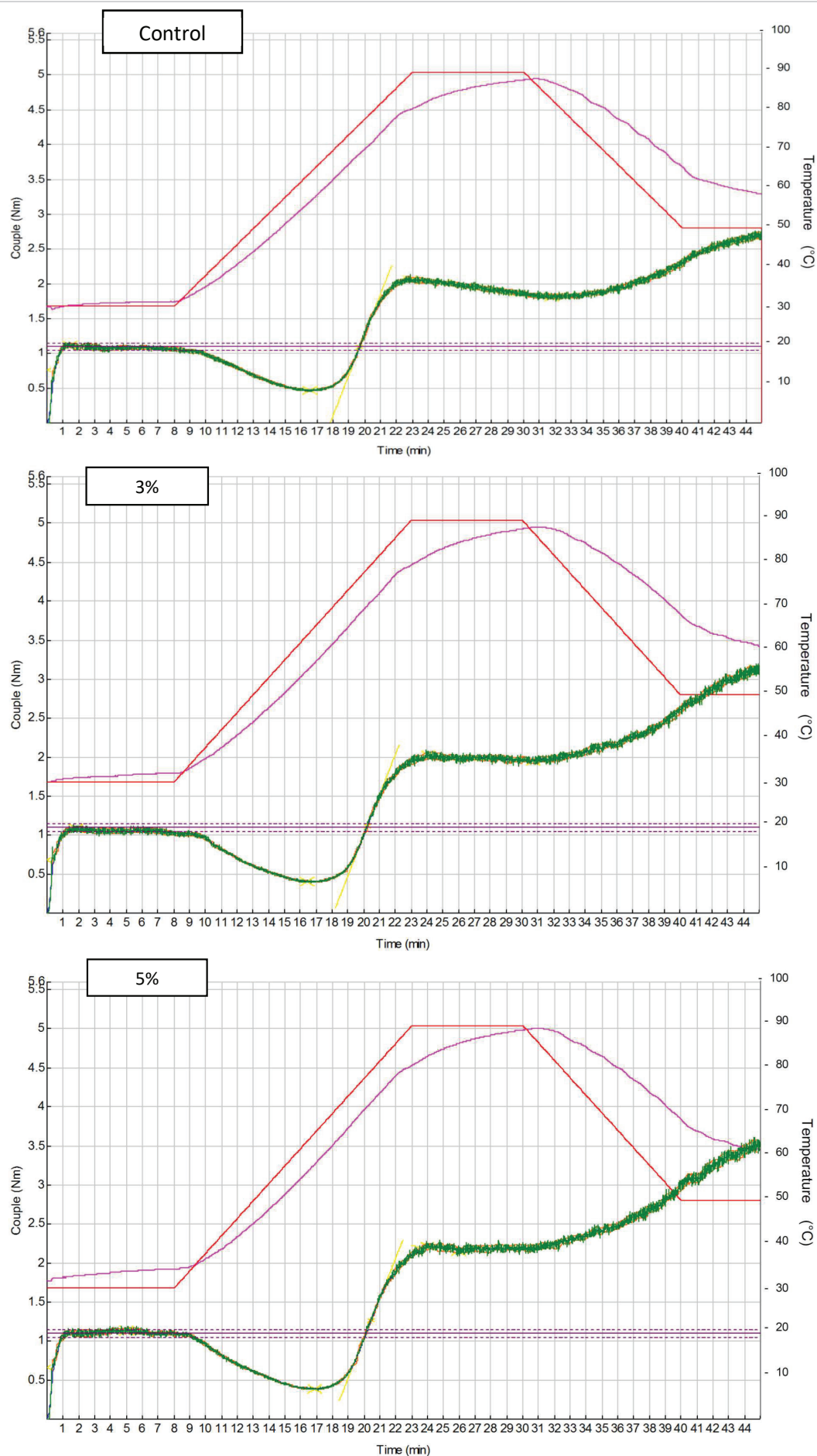
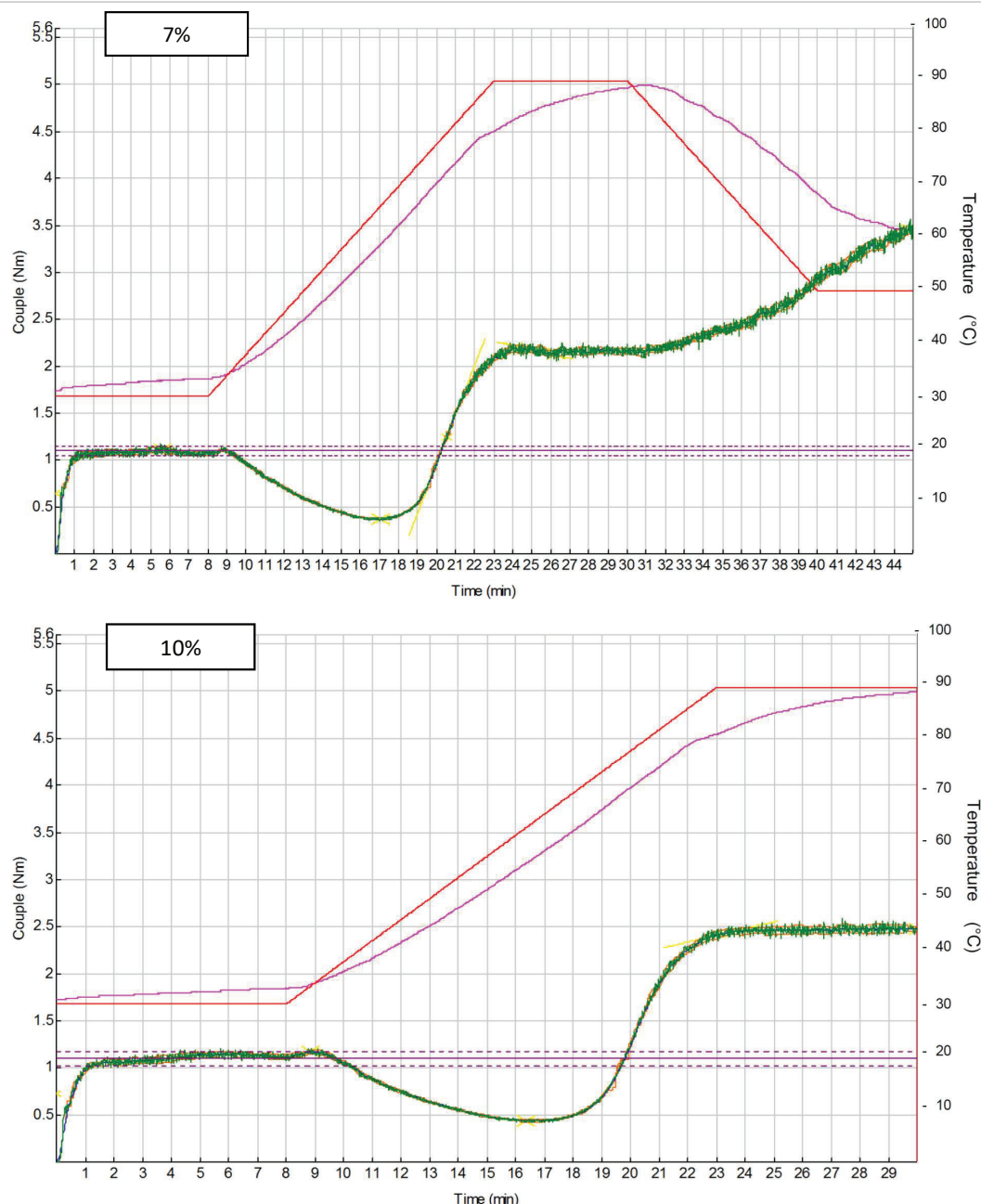


Figure 3. Mixolab curve of the control sample and the samples with different replacement levels
Рисунок 3. Кривая Mixolab для контрольного образца и образцов с различными уровнями замены

End of Figure 3. Mixolab curve of the control sample and the samples with different replacement levels
Окончание рисунка 3. Кривая Mixolab для контрольного образца и образцов с различными уровнями замены



The results obtained from alveographic measurements of dough are shown in Table 9. An increase in the proportion of potato peel powder up to 10% resulted in an increase in P (dough elasticity) compared with the control containing only wheat flour. The P values were 53.68, 54.74, 75.79, and 85.26% higher, respectively, in the samples with 3%, 5%, 7%, and 10% potato

Table 9. Alveographic measurement of doughs with different proportions of potato peel powder

Таблица 9. Альвеографические измерения теста с различными пропорциями порошка картофельной кожуры

Parameter	Control	3%	5%	7%	10%
P (mm)*	95	146	147	167	176
L (mm)*	117	52	48	35	42
P/L*	0.81	2.81	3.06	4.77	4.19
W(10 ⁻⁴ J)*	350	301	286	256	167
Le%*	56.6	52.6	51.2	37.7	14.6

*P: dough tenacity (aptitude to resist deformation), L: dough extensibility (maximum volume of air that the bubble is able to contain), P/L: configuration of the curve, W: dough baking strength (surface under the curve), Le: Flexibility index.

peel powder than in the control. The alveograph ratio (P/L) also increased (by 246.91, 277.78, 488.89, and 417.28%, respectively) in the dough samples with the 3%, 5%, 7%, and 10% replacement rate compared to the control. A decrease in L (dough replacement), W (baking strength) and Le (flexibility index) was observed with an increase in the level of potato peel addition. The L value decreased by 55.56, 58.97, 70.09, 64.10%, W value by 14, 18.29, 26.86, 52.29% and Le value by 7.07, 9.54, 33.39, 74.20%, respectively, in the samples with the 3%, 5%, 7%, and 10% replacement rate compared to the control.

Ben Jeddou et al. [38] indicated that the potato peel powder significantly improved the Alveograph profile and texture of dough, and technologically, the addition of potato peel powder at a concentration of 5% boosts the dough strength and elasticity-to-extensibility ratio (P/L). Iskander et al. [58] studied an effect of addition of alcohol insoluble residue from potato processing by-product (AIR-PPB) in wheat flour bread at different particle sizes. As the particle size increased, the results revealed an improvement in the AIR-PPB functional properties in terms of water holding capacity (WHC), swelling capacity (SC), and water solubility index (WSI). The total dietary fiber content, water

absorption (WA), and dough development time (DDT) also increased with an increase in the percentage of AIR-PPB and particle size. Higher particle size gave more stability to the dough structure, but the opposite effect was exerted on dough weakening (DW) [58].

4. Conclusion

Potato peels of the Spunta variety are an important and rich source of phenolic compounds and natural antioxidants, as well as an important cheap source of protein and dietary fiber, which

are important components of a healthy diet. Replacing wheat flour with different percentages of potato peel powder has contributed to making functional biscuits, reducing the economic cost and raising the nutritional value of the biscuits. Therefore, we recommend taking advantage of the secondary wastes resulting from the potato manufacturing process to obtain compounds useful in nutritional aspects instead of industrial materials, and it is proposed to develop this work in the future to obtain phenols, proteins and fibers as commercial preparations that can be used in many food industries.

REFERENCES

- Shagufta, Aziz, Y., Rehman, Z.U., Rehman, S.U. (2019). Evaluation of physico-chemical and organoleptic constituents of potato peel fortified biscuits. *FUUAST Journal of Biology*, 9(2), 195–202.
- Ahmadu, T., Abdullahi, A., Ahmad, K. (2021). The role of crop protection in sustainable potato (*Solanum Tuberosum* L.) production to alleviate global starvation problem: An overview. Chapter in a book: *Solanum Tuberosum-A promising crop for starvation problem*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.100058>
- McGuire, S. (2015). FAO, IFAD and WFP. The state of food insecurity in the world, meeting the 2015 international hunger targets: taking stock of uneven progress. Rome, FAO. *Advances in Nutrition*, 6(5), 623–624. <https://doi.org/10.3945/an.115.009936>
- Arapoglou, D., Varzakas, Th., Vlyssides, A., Israilides, C. (2010). Ethanol production from potato peel waste (PPW). *Waste Management*, 30(10), 1898–1902. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.04.017>
- Kiran, B., Neetu, S. (2017). Utilization of vegetable waste as a source of dietary fibre rich muffins and biscuits for old age. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2(6), 31–34.
- Javed, A., Ahmad, A., Tahir, A., Shabbir, U., Nouman, M., Hameed, A. (2019). Potato peel waste-its nutraceutical, industrial and biotechnological applications. *AIMS Agriculture and Food*, 4(3), 807–823. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2019.3.807>
- Rowayshed, G., Sharaf, A.M., El-Faham, S.Y., Ashour, M., Zaky, A.A. (2015). Utilization of potato peels extract as source of phytochemicals in biscuits. *Journal of Basic and Applied Research International*, 8(3), 190–201.
- Sabeena Farvin, K.H., Grejsen, H.D., Jacobsen, C. (2012). Potato peel extract as a natural antioxidant in chilled storage of minced horse mackerel (*Trachurus Trachurus*): Effect on lipid and protein oxidation. *Food Chemistry*, 131(3), 843–851. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.056>
- Joly, N., Souidi, K., Depraetere, D., Wils, D., Martin, P. (2021). Potato by-products as a source of natural chlorogenic acids and phenolic compounds: Extraction, characterization, and antioxidant capacity. *Molecules*, 26, Article 177. <https://doi.org/10.3390/molecules26010177>
- Friedman, M. (1997). Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1523–1540. <https://doi.org/10.1021/jf960900s>
- Singh, N., Rajini, P.S. (2004). Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food Chemistry*, 85(4), 611–616. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.003>
- Rodríguez-Martínez, B., Gullón, B., Remedios Yáñez, R. (2021). Identification and recovery of valuable bioactive compounds from potato peels: A Comprehensive review. *Antioxidants*, 10, Article 1630. <https://doi.org/10.3390/antiox10101630>
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R.T. (2012). Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255–266. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>
- Sharoba, A.M., Farrag, M.A., Abd El-Salam, A.M. (2013). Utilization of some fruits and vegetables waste as a source of dietary fiber and its effect on the cake making and its quality attributes. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 19(4), 429–444.
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 17(1), 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.002>
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H. (2012). Physico-chemical characteristics of dietary fibre from potato peel and its effect on organoleptic characteristics of biscuits. *Journal of Agricultural Engineering*, 49(4), 25–32.
- Toma, R.B., Orr, P.H., D'Appolonia, B., Dintzis, F.R., Tabekhia, M.M. (1979). Physical and chemical properties of potato peel as a source of dietary fiber in bread. *Journal of Food Science*, 44(5), 1403–1407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb06448.x>
- Sudha, M.L., Baskaran, V., Leelavathi, K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, 104(2), 686–692. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.016>
- Han, J.-S., Kim, J.-A., Han, G.-P., Kim, D.-S., Kozukue, N., Lee, K.-R. (2004). Quality characteristics of functional cookies with added potato peel. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 20(6)84, 607–613. (In Korean)
- Khalifa, I., Barakat, H., El-Mansy, H.A., Soliman, S.A. (2015). Physico-chemical, organoleptic and microbiological characteristics of substituted cupcake by potato processing residues. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 6(1), 83–100. <https://doi.org/10.4236/fns.2015.61010>
- Tyagi, S. K., Manikantan, M.R., Oberoi, H. S., Kaur, G. (2007). Effect of mustard flour incorporation on nutritional, textural and organoleptic characteristics of biscuits. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1043–1050. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.08.016>
- AACC (2010). Approved methods of American Association of Cereal Chemists. Published by American Association of Cereal Chemists, Ins. Saint Paul, Minnesota, 2010, USA.
- AOAC (2008). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. AOAC International, 2008.
- Bilgiçli, N., Levent, H. (2014). Utilization of lupin (*Lupinus Albus* L.) flour and bran with xylanase enzyme in cookie production. *Legume Research*, 37(3), 264–271. <https://doi.org/10.5958/j.0976-0571.37.3.040>
- Wrolstad, R.E., Smith, D.E. (2010). Colour analysis. Chapter in a book: *Food analysis*. Springer Science + Business Media, LLC2010. New York, USA, 2010.
- Saricoban, C., Yilmaz, M.T. (2010). Modelling the effects of processing factors on the changes in colour parameters of cooked meatballs using response surface methodology. *World Applied Sciences Journal*, 9(1), 14–22.
- Mohammadi, A., Rafiee, S., Emam-Djomeh, Z., Keyhani, A. (2008). Kinetic models for colour changes in kiwi fruit slices during hot air drying. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 376–383.
- Sallam, Y. I., Abd El-Salam, E. A., Abaza, A. G. (2021). Green pea waste flour as a wheat flour partial replacer in pound cake: Batter rheology behavior and cake quality properties. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(1), 67–78. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2021.0838>
- Rosell, M.C., Collar, C., Haros, M. (2007). Assessment of hydrocolloid effects on the mechanical properties of wheat using the Mixolab. *Food Hydrocolloids*, 21, 452–462. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.05.004>
- Faridi, H.A., Rasper, V.F. (1987). *The Alveograph Handbook*. Am. Assoc. Cereal Chemistry. St. Paul, MN. 1987.
- Younis, M.I., Ren, X., Alzubaidi, A.K., Mahmoud, K.F., Altemimi, A.B., Cacciola, F. et al. (2022). Optimized green extraction of polyphenols from *Cassia javanica* L. petals for their application in sunflower oil: Anticancer and antioxidant properties. *Molecules*, 27(14), Article 4329. <https://doi.org/10.3390/molecules27144329>
- Wada, L., Ou, B. (2002). Antioxidant activity and phenolic content of Oregon Caneberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3495–3500. <https://doi.org/10.1021/jf0114051>
- Abohadra, A. A., Tlay, R. H. (2021). The effect of tomato pomace powder addition on the biscuit content of bioactive compounds and antioxidant activity during storage. *Journal of Agricultural, Environmental and Veterinary Sciences*, 5(4), 9–21. <https://doi.org/10.26389/AJSRP.D120621> (In Arabic)
- Elsayed, N., Marrez, D. A., Ali, M. A., El-Maksoud, A. A. A., Cheng, W., Abdelmaksoud, T. G. (2022). Phenolic profiling and in-vitro bioactivities of corn (*Zea mays* L.) tassel extracts by combining enzyme-assisted extraction. *Foods*, 11(14), Article 2145. <https://doi.org/10.3390/foods11142145>
- AACC. (2002). Approved methods of American Association of Cereal Chemists, 10th Ed. 56–20. AACC International, St. Paul, Minnesota. U.S.A.
- Akhtar, S., Anjum, F.M., Rehman, S.-U., Sheikh, M.A., Farzana, K. (2008). Effect of fortification on physico chemical and microbiological stability of whole wheat flour. *Food Chemistry*, 110, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.065>
- Kohajdová, Z., Karovičová, J., Jurasová, M., Kukurová, K. (2011). Effect of the addition of commercial apple fibre powder on the baking and sensory properties of cookies. *Acta Chimica Slovaca*, 4(2), 88–97.
- Ben Jeddou, K., Bouaziz, F., Zouari-Ellouzi, S., Chaari, F., Ellouz-Chaabouti, S., Ellouz-Ghorbel, R. (2017). Improvement of texture and sensory properties of cakes by addition of potato peel powder with high level of dietary fiber and protein. *Food Chemistry*, 217, 668–677. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.081>
- Leo, L., Leone, A., Longo, C., Lombardi, D.A., Raimo, F., Zacheo, G. (2008). Antioxidant compounds and antioxidant activity in “early potatoes”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(11), 4154–4163.

40. Uysal, H., Bilgiçli, N., Elgün, A., İbanoğlu, Ş., Herken, E.N., Kürşat Demir, M. (2007). Effect of dietary fibre and xylanase enzyme addition on the selected properties of wire-cut cookies. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1074–1078. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.019>
41. Hussain, S., Anjum, F.M., Alamri, M.S. (2011). Fortification of pan bread with healthy flaxseed. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(11), 978–983.
42. Mahloko, L.M., Silungwe, H., Mashau, M.E., Kgatla, T.E. (2019). Bioactive compounds, antioxidant activity and physical characteristics of wheat-prickly pear and banana biscuits. *Heliyon*, 5, Article e02479. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02479>
43. Abdel-Aal, E. S. M., Rabalski, I. (2013). Effect of baking on free and bound phenolic acids in wholegrain bakery products. *Journal of Cereal Science*, 57(3), 312–318. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.12.001>
44. Dewanto, V., Wu, X., Liu, R. H. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4959–4964. <http://doi.org/10.1021/jf0255937>. PMID:12166989
45. Ifie, I., Marshall, L. J. (2018). Food processing and its impact on phenolic constituents in food. *Cogent Food and Agriculture*, 4(1), Article 1507782. <http://doi.org/10.1080/23311932.2018.1507782>
46. Ragaei, S., Seetharaman, K., Abdel-Aal, E. S. M. (2014). The impact of milling and thermal processing on phenolic compounds in cereal grains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(7), 837–849. <http://doi.org/10.1080/10408398.2011.610906>
47. Mitrović, J., Nikolić, N., Karabegović, I., Lazić, M., Nikolić, L., Savić, S. et al. (2022). The effect of thermal processing on the content and antioxidant capacity of free and bound phenolics of cookies enriched by nettle (*Urtica dioica* L.) seed flour and extract. *Food Science and Technology*, 42, Article e62420. <https://doi.org/10.1590/fst.62420>
48. Zilic, S., Kocadagli, T., Vancetovic, J., Gokmen, V. (2016). Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability antioxidant capacity and color of cookies made from anthocyanin-rich corn flour. *LWT – Food Science and Technology*, 65, 597–603. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.057>
49. Bressa, F., Tesson, N., Dalla Rosa, M., Sensidoni, A., Tubaro, F. (1996). Antioxidant effect of Maillard reaction products: application to a butter cookie of a competition kinetics analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), 692–695. <http://doi.org/10.1021/jf950436b>
50. Almasri, A., Azizieh, A., Tlay, R. (2019). Potato and tomato peel extract — A natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in lamb meat (Awassi) refrigerator storage. *Journal of Food, Nutrition and Agriculture*, 2(1), 1–5. <http://doi.org/10.21839/jfna.2019.v2i1.179>
51. Ajila, C.M., Leelavathi, K., Prasada Rao, U.J.S. (2008). Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *Journal of Cereal Science*, 48, 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.10.001>
52. Srivastava, S., Genitha, T.R., Yadav, V. (2012). Preparation and quality evaluation of flour and biscuit from sweet potato. *Journal of Food Processing and Technology*, 3(12), Article 1000192. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000192>
53. Raymundo, A., Fradinho, P., Nunes, M.C. (2014). Effect of psylliumfibre content on the textural and rheological characteristics of biscuit and biscuit dough. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3(2), 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.03.001>
54. Gaikwad, K.Y., Athmaselvi, K.A. (2016). Effect of soaking pre-treatments on different characteristics of fried potato chips. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13(2), 1133–1136. <http://doi.org/10.13005/bbra/2142>
55. Bourne M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 7, 62–66.
56. Sangthawan, S., Anprung, P. (2014). Enzymatically depolymerized mangosteen aril pectin as a stabilizer for low cholesterol mayonnaise. *International Food Research Journal*, 21(3), 999–1009.
57. Giuggioli, N.R., Briano, R., Alvariza, P., Peano, C. (2018). Preliminary evaluation of day- neutral strawberry cultivars cultivated in Italy using a qualitative integrated approach. *Horticultural Science*, 45(1), 29–36. <https://doi.org/10.17221/106/2016-HORTSCI>
58. Iskander, A.A., Elsayh K. M., Namir, M. (2021). Rheological, chemical and functional impacts of alcohol insoluble residue from potato processing by-product enriched bread using response surface methodology. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 48(4), 1055–1067.
59. Wang, J., Rosell, C.M., Benedito de Barber, C. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79(2), 221–226. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00135-8)

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Rawaa H. Tlay , Associate Professor, Department of Food Science, College of Agriculture, Damascus University PO Box 30621, Damascus, Damaskus, Syria Tel.: +963-99-272-76-70 E-mail: rawaa.tlay@damascusuniversity.edu.sy ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8140-0473		Тлей Р. Х. — ассистент профессора, Департамент пищевых наук, Колледж сельского хозяйства, Дамасского университета Почтовый ящик 30621, Дамаск, Сирия Тел.: +963-99-272-76-70 E-mail: rawaa.tlay@damascusuniversity.edu.sy ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8140-0473	
Sinan J. Abdul-Abbas , Lecturer, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basrah Basrah 61004, Iraq Tel.: +964-770-560-65-51 E-mail: sinan.jawdet@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4141-4763		Абдул-Аббас, С. Дж. — преподаватель, Факультет пищевых наук, Колледж сельского хозяйства, Университет Басры Почтовый ящик 61004, Басра, Ирак Тел.: +96-4770-560-65-51 E-mail: sinan.jawdet@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4141-4763	
Ahmed A. A. El-Maksoud , Assistant Professor, Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0111-701-16-41 E-mail: ahmed_ali@cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6631-5900		Эль-Максуд, А. А. А. — ассистент профессора, Кафедра науки о молоке, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0111-701-16-41 E-mail: ahmed_ali@cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6631-5900	
Ammar B. Altemimi , Associate Professor, College of Agriculture, University of Basrah Karbala 61004, Iraq Tel.: +964-773-564-00-90 E-mail: ammar.ramddan@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7750-5988		Алтемими А. Б. — ассистент профессора, Медицинский колледж, Университет Варит Аль-Анбия, Университет Басры Почтовый ящик 56001, Кербела, Ирак Тел.: +964-773-564-00-90 E-mail: ammar.ramddan@uobasrah.edu.iq ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7750-5988	
Tarek G. Abedelmaksoud , Assistant Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0110-144-12-80 Email: tareekgamal_88@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7012-6667 * corresponding author		Абедельмаксуд Т. Г. — ассистент профессора, Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0110-144-12-80 Email: tareekgamal_88@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7012-6667 * автор для контактов	
Contribution		Критерии авторства	
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.		Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-64-71>

Поступила 12.02.2023

Поступила после рецензирования 11.03.2023

Принята в печать 14.03.2023

© Лисицын А. Б., Чернуха И. М., Никитина М. А., 2023



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

Научная статья

Open access

ФОРМИРОВАНИЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОГО РАЦИОНА ПИТАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА СТРУКТУРНОЙ ОПТИМИЗАЦИИ

Лисицын А. Б., Чернуха И. М., Никитина М. А.*

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

цифровая нутрициология, параметрическое описание, системный анализ, математические методы, база знаний, база данных, структурная матричная модель

АННОТАЦИЯ

Конструирование персонализированного рациона питания человека с учетом многообразия различных факторов связано с системным анализом и формализацией накопленных данных и знаний, а также с развитием цифровых технологий. В работе представлена методология оптимизации и формирования персонализированных рационов питания на основе структурно-параметрического моделирования. Предлагаемый подход позволяет решать следующие задачи: 1) анализировать суточный рацион или отдельные приемы пищи (завтрак, обед, полдник, ужин, дополнительные приемы пищи (перекус)) с известным количественным набором готовых продуктов по энергетической ценности и химическому составу с целью выявления диетических нарушений; 2) рассчитывать оптимальное для приема пищи количество продуктов из фиксированного перечня, тем самым составляя индивидуальный эталонный рацион с учетом умственной и физической нагрузки, нутритивного статуса потребителя, а также экономических аспектов; 3) оптимизировать рацион в зависимости от поставленной задачи путем подбора группы готовых продуктов из полного или избранного перечня архивных данных, равнозначно учитывая при этом все необходимые параметры; 4) корректировать рацион питания с учетом диетических отклонений по отдельным параметрам химического состава и энергетической ценности за счет дополнительного введения продуктов повышенной биологической ценности специального назначения, поливитаминных и поливитаминно-минеральных препаратов, а также природных биологически активных веществ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья опубликована в рамках выполнения темы НИР № FNEN-2019–0008 государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 12.02.2023

Accepted in revised 11.03.2023

Accepted for publication 14.03.2023

© Lisitsyn A. B., Chernukha I. M., Nikitina M. A., 2023

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

Original scientific article

Open access

DEVELOPMENT OF A PERSONALIZED DIET USING STRUCTURAL OPTIMIZATION METHOD

Andrey B. Lisitsyn, Irina M. Chernukha, Marina A. Nikitina*

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

KEY WORDS:

digital Nutrition, parametric description, system analysis, mathematical methods, knowledge base, database, structural matrix model

ABSTRACT

The design of a human personalized diet considering a variety of different factors is associated with system analysis and formalization of data and knowledge, as well as with the development of digital technologies. The paper presents the methodology of optimization and formation of personalized diets based on structural-parametric modeling. The proposed approach allows solving the following tasks: 1) to analyze the daily diet or individual meals (breakfast, lunch, afternoon snack, dinner, additional meals or snacks) with a known quantitative set of finished products in terms of energy value and chemical composition in order to reveal dietary disorders; 2) to calculate quantity of products optimal for a meal from the fixed list, thereby composing an individual reference diet with regard to the mental and physical activities, nutritive status of a consumer and economic aspects; 3) to optimize a diet depending on the task at hand by selecting a group of finished products from a complete or selected list of archival data, equally taking into account all the necessary parameters; 4) to adjust the diet taking into account dietary deviations in certain parameters of the chemical composition and energy value by additional introduction of special purpose products with the increased biological value, multivitamin and multivitamin-mineral supplements, as well as natural bioactive substances.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNEN-2019–0008 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Лисицын, А. Б., Чернуха, И. М., Никитина, М. А. (2023). Формирование персонализированного рациона питания с использованием структурной оптимизации. *Пищевые системы*, 6(1), 64-71. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-64-71>

FOR CITATION: Lisitsyn, A. B., Chernukha I. M., Nikitina M. A. (2023). Development of a personalized diet using the structural optimization method. *Food Systems*, 6(1), 64-71. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-64-71>

1. Введение

Рацион является основным фактором здоровья человека, и правильный выбор продуктов питания может значительно способствовать улучшению качества жизни потребителя [1].

Это обуславливает требования к рациону и режиму питания с учетом ассортимента и количества потребляемых продуктов, что позволяет регулировать поступление в организм калорий и питательных веществ. В исследованиях [2,3] показано, что несбалансированное питание увеличивает риск развития неинфекционных заболеваний, таких как ожирение, сахарный диабет и др.

Подходы к автоматизации процесса планирования рецептуры, производства и подбора рациона в первую очередь связаны с математическими методами: линейной оптимизацией, метаэвристикой, рассуждениям по прецедентам, нечеткой логикой.

В 1945 году американский экономист G. J. Stigler предложил математическую модель для составления рациона потребителя [4]. В рамках его подхода был составлен список неструктурированных пищевых продуктов, отвечающих стандартным требованиям к диете при оптимизации цен на продукты питания.

За последние два десятилетия «модель Stigler» была принята и расширена с использованием различных вариаций парадигмы линейного программирования [5], целочисленного программирования [6], смешанного целочисленно-линейного программирования [7] и целевого программирования [8]. В решении проблем планирования диеты были проведены следующие исследования [9–11]. Foytik J. [10] изучал различные режимы питания в Калифорнийском университете осенью 1975 года. В эксперименте участвовало 60 человек из 36 семей. Все участники исследования в течение двух недель придерживались определенного рациона питания, разработанного на ЭВМ с использованием методов линейного программирования. При составлении диеты вводились четкие рамки: 1) цены на продукты, рассматриваемые для включения в рацион; 2) содержание питательных веществ в продуктах; 3) цели в области питания, которые должны быть достигнуты; 4) дополнительные ограничения, основанные на вкусовых качествах продуктов и на их разнообразии. Полученные в результате исследования данные были необходимы для выявления некоторых проблем, которые могут возникнуть при использовании на практике дешевых диет с низким содержанием питательных веществ. Авторы в работе [11] используют систему обмена для планирования меню. Вариант замены продуктов предлагают из той же группы (например, заменив 1/2 чашки макарон на 1/3 чашки белого риса, поскольку оба продукта находятся в категории крахмалосодержащих). Тем не менее в работе не учитывается совместимость продуктов из разных категорий, а также размеры порций. В работе [12] авторы уделяют внимание пищевым предпочтениям человека при рассмотрении потребностей в питании, но игнорируют совместимость между отдельными компонентами рациона. Данный метод представляет подбор рекомендуемых продуктов в виде неструктурированного списка, но не способствует составлению режима питания на завтрак, обед и ужин. Проблема в применении линейной оптимизации связана в первую очередь с тем, что из-за большого количества ограничений снижается разрешимость задачи [7]. Поэтому рассмотреть множество факторов, таких как потребность в пищевых нутриентах, предпочтения в еде, разнообразие и совместимость, невозможно.

Для создания персонализированных программ питания в работах [13–17] задействован метаэвристический подход с использованием генетических алгоритмов. Исследования

[14] связано с применением генетического алгоритма и метода роя частиц для конструирования рациона питания спортсмена с целью повысить его производительность с учетом индивидуального комплекса упражнений. Самоадаптирующийся гибридный генетический алгоритм для составления меню малазийских школьников в возрасте от 13 до 18 лет описан в работе [15]. Функция цели считается достигнутой, если удовлетворены все рекомендуемые нормы потребления питательных веществ и не превышена установленная экономическая составляющая. В работе отмечается, что составленные рационы питания не были оценены эмпирически экспертами в области питания (нутрициологии). Seljak B. K. [16] применяет многоуровневый генетический алгоритм «разделяй и властвуй» (декомпозиции) для конструирования рациона питания на N дней. В качестве ограничений: 1) экономические затраты; 2) эстетические параметры (вкус, цвет, температура и способ приготовления). Для получения решения требуется не менее 250 итераций, которые занимают от нескольких минут до нескольких часов. Все зависит от количества продуктов и блюд в рационе питания. В работе [17] авторы используют популярный генетический алгоритм сортировки без доминирования (Non-dominated Sorting Genetic Algorithm III или NSGA-III). В своем исследовании ученые подвергают рассмотрению: 1) стоимость продуктов; 2) предпочтения потребителей; 3) способ приготовления блюда; при этом учитывают ежедневные ограничения питательных веществ для каждого приема пищи (диапазон минимум — максимум). Детальный обзор данных исследований представлен в статье [18]. С другой стороны, Bianchi L. et al. [19] и El-Ghazi T. [20] отмечают, что метаэвристический подход не гарантирует глобального оптимального решения, а скорее обеспечивает «хорошее» решение задачи.

В работах [21–24] использованы методы рассуждений по прецедентам. Ученые и исследователи пытаются рекомендовать программы питания путем определения наилучшей из набора существующих, а затем адаптируют их для удовлетворения потребностей целевого пациента, пересматривая меню. Husain W. с соавторами [21] в своем исследовании предлагают персонализированную систему рекомендаций по диете для больных раком. В ней объединены методы интеллектуального анализа данных, основанные на прецедентном рассуждении, рассуждении на основе продукционных правил «Если..., то...» и на генетическом алгоритме. Продукционные правила необходимы для фильтрации нерелевантных вариантов меню из системы и для выбора наиболее подходящего. Использование генетического алгоритма на конечном этапе составления рациона питания гарантирует, что предлагаемая диета будет адаптирована в соответствии с личным состоянием здоровья конкретного пациента. В работе [22] для создания меню питания сочетают рассуждения с механизмом обратной связи. На основе индивидуальных потребностей в питательных веществах происходит ранжирование шаблона меню с привлечением врача-диетолога или нутрициолога. Для корректной работы системы эксперт добавил в нее 330 изменений, которые базировались на правиле «Если..., то...» [23]. Petot G. J. с соавторами [24] для выбора лучших блюд используют шаблон и ограничения: 1) по нижнему и верхнему пределу в пищевых веществах; 2) предпочтения пользователя по продуктам. Однако авторы в своем исследовании отмечают, что некоторые из сгенерированных меню содержат «странные» комбинации продуктов питания и лишены здравого смысла.

Нечеткая логика при составлении меню с учетом профиля пациента представлена в работах [25–29]. В исследовании

[27] в качестве исходных данных используют результаты семантического анализа о составе диеты, выбранной пользователем. В результате потребитель получает полезную информацию о своей диете и может изменить ее, сделав более полезной для здоровья. В работах [25,26] авторы представляют решение, которое направлено на пациентов, страдающих сахарным диабетом. В качестве входных данных указываются продукты, потребляемые на завтрак и обед. В результате формируется рекомендуемый размер порции и калорийность для ужина. Используя нечеткие онтологии пищевых и личных профилей, авторы в работе [28] представили решение, которое предлагает несколько вариантов блюд из каждой категории продуктов, соответствующих требованиям к порциям на ужин. Данный метод помогает подобрать варианты продуктов, но не способствует приготовлению полноценного ужина.

Существуют различные мобильные и веб-приложения, связанные с питанием и здоровьем. Как правило, это счетчики калорий, например, MyFitnessPal [30], MyPlate [31], MyNetDiary [32] и др. Они помогают пациентам контролировать ежедневное потребление калорий и нутриентов. В качестве входных данных приложения принимают потребляемые пациентом пищевые продукты, а также производят расчет количества калорий и нутриентов.

Инструменты планирования питания, например, Eat-ThisMuch [33], Fitness Meal Planner [34], MakeMyPlate [35], Yu-me [36] помогают создавать ежедневные рационы на основе необходимой калорийности, предоставленной пациентом. Одним из таких инструментов является MakeMyPlate [35], мобильное приложение, которое предоставляет заранее оптимально сбалансированные в соответствии с рекомендациями экспертов ежедневные рационы питания, соответствующие заданным пользователем уровням калорийности. Каждый план питания позволяет находить альтернативные варианты, сохраняя баланс нутриентов в тарелке. Вместе с тем в качестве недостатка можно отметить, что альтернативный вариант питания пациент берет из имеющейся базы данных без проверки калорийности замещающего продукта (что может привести к превышению или снижению рекомендуемого уровня калорийности и количества пищевых нутриентов). Кроме того, мобильное приложение MakeMyPlate не учитывает предпочтения пациента в еде.

Другое решение — EatThisMuch [33] — принимает в качестве входных данных основную информацию о пользователе (пол, возраст, рост, вес и уровень активности) в дополнение к процентному содержанию телесного жира. Наряду с этим заносится текстовая информация: 1) «что вы хотите сделать с весом» — поддержание веса, снижение веса, набор веса и набор мышечной массы); 2) предпочтительный тип диеты — средиземноморская, вегетарианская и др.; 3) есть ли предпочтения в еде и как часто вы хотите «видеть свое предпочтение» в еженедельном рационе питания. В результате приложение выдает пользователю в качестве вывода ежедневные рационы питания. Мобильное приложение EatThisMuch имеет несколько ограничений. Во-первых, пользователь может создавать планы питания только на текущий день. Планирование рациона на два дня и более требует дополнительной подписки, «Премиум». Во-вторых, нет учета предпочтений пользователя в том или ином блюде в виде градиентной оценки, например, от «нежелательно» до «весьма предпочтительно», что было бы более полезно при составлении адаптированных планов питания.

Еще одно онлайн-приложение для фитнеса Fitness Meal Planner [34] повторяет большую часть функций и ограничений приложения EatThisMuch [33].

Во всех исследованиях и мобильных приложениях, как правило, используется критерий энергетической ценности. Сложность принятия оптимальных решений заключается в персонализированном подходе, подборе продуктов и блюд в рационе питания с учетом генетики и медико-биологических требований, структурных соотношений и ограничений на компонентном, элементном и моноструктурном уровнях.

В связи со всем вышесказанным цель данной работы заключается в формировании методологии оптимизации персонализированных рационов питания.

2. Материалы и методы

При составлении и оценки рациона питания использовалась база данных «Кулинарные изделия и блюда» (Свидетельство Роспатент RU2021621286 от 17.06.2021 г.).

Структурная оптимизация рациона питания, связанная с изменением соотношений и пропорций потребляемых продуктов, осуществляется с применением квадратичных критериев минимального отклонения от эталонной структуры множества показателей нутриентной адекватности [39].

Создание знание-ориентированной компьютерной системы поддержки принятия решений осуществлялась в программной среде Embarcadero Delphi на языке объектно-ориентированного программирования Delphi.

3. Результаты и обсуждение

Программная реализация оптимизации персонализированных рационов питания основана на базе знаний в виде структурно-параметрического описания [37] множества факторов генотипа и переменных физиологического состояния живой системы. Генетические и физиологические характеристики организма человека, его углеводного, липидного и белкового обмена практически могут быть определены в процессе генетической экспертизы и медицинского обследования, в частности на основе биохимического анализа крови. Структурно-параметрическая модель (СПМ) персонализированного адекватного питания человека составляется на основе знаний, содержащихся в параметрическом описании человека, и его предпочтений в рационе питания. СПМ представляет собой клеточную матрицу [38,39] (Рисунок 1) и отражает все многообразие существующих известных и неизвестных связей между генотипом человека, переменными физиологического состояния человека и параметрами рациона и режима питания.

В Таблице 1 представлена часть обобщенных данных и знаний о часто встречаемых генотипах, которые ассоциируются с проявлением болезненных состояний [40,41].

Для составления адекватного сбалансированного рациона питания с учетом «паспорта здоровья» человека, риска заболеваний и статуса желудочно-кишечного тракта используется диалоговый алгоритм (Рисунок 2). По описаниям медико-биологического состояния человека, а также по биомаркерам формируется параметрическая модель его адекватного питания в виде конкретных параметров, норм и соотношений требуемых пищевых веществ и компонентов в сутки [42,43].

При построении параметрической модели человека необходимо учитывать следующие группы свойств: 1) анкетные данные (возраст, пол, физическая активность, регион проживания, вид деятельности, психоэмоциональное состояние и т.д.); 2) критические параметры (индекс массы тела, артериальное давление, уровень глюкозы, индекс атерогенности и т.д.); 3) второстепенные показатели (пищевые пред-

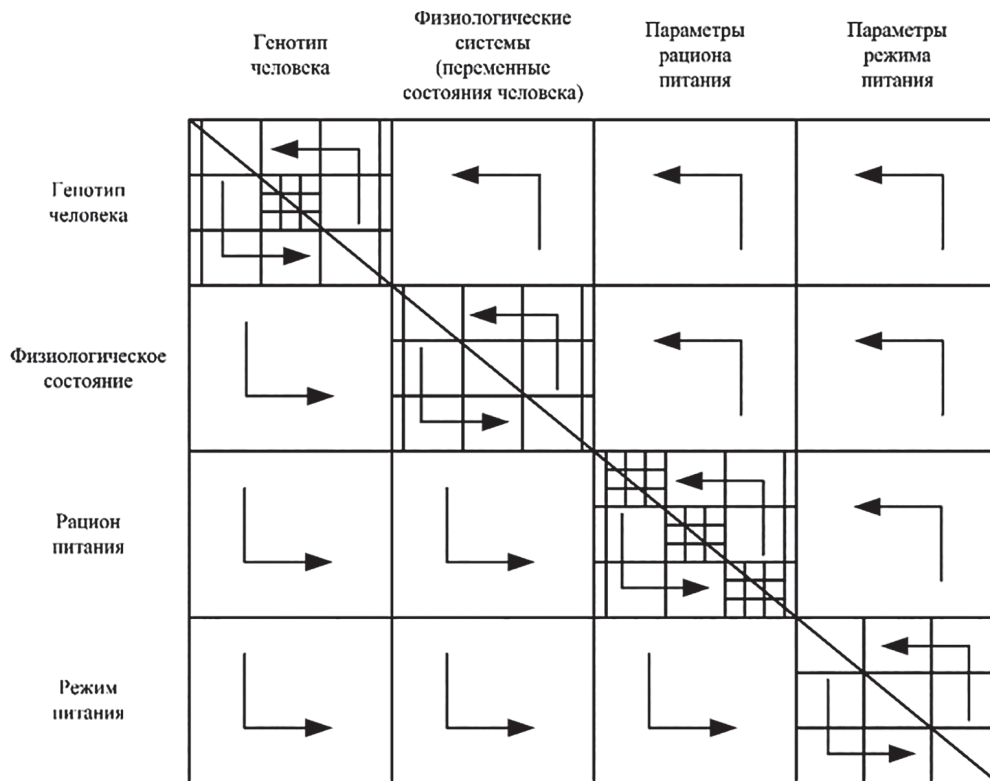


Рисунок 1. Структурная матричная модель персонализированного питания человека
Figure 1. Structural matrix model of personalized human nutrition

Таблица 1. Характеристики генотипов [40,41]

Table 1. Characteristics of genotypes [40,41]

Ген/SNP	Генотип	Патология	Режим питания / предпочтительный тип диеты
Особенности жирового и углеводного обмена			
PPARG rs180128	(Pro/Pro)	Ожирение Сахарный диабет	Диета с низким содержанием жиров
ADRB2 rs1042714	(Gln/Glu или Glu/Glu)	Ожирение Сахарный диабет	Диета с низким содержанием углеводов
ADRB2 rs1042713	(Arg/Gly или Gly/Gly)	Ожирение	Диета с низким содержанием углеводов Мобилизация жиров при физической нагрузке
ADRB3	Кодирует белок, вырабатывающийся в висцеральном жире и жировых депо.	Ожирение	Физические нагрузки. Низкоуглеводная и низкожировая диеты
SR (HTR2A) rs6313	(T/C или C/C)	Повышенная склонность к импульсивному питанию, повышению аппетита и тенденции «заесть стресс». Увеличение Индекса массы тела («средняя» предрасположенность к избыточной массе тела)	Диета с низким содержанием углеводов
KCTD10 rs10850219	(G/G)	Ожирение	Диета с низким содержанием углеводов
MMAB rs2241201	(C/C)	Ожирение	Диета с низким содержанием углеводов
LIPC rs1800588	(C/C)	Ожирение	Диета с низким содержанием углеводов
FTO rs9939609	(T/T)	Ожирение	Диета с низким содержанием углеводов

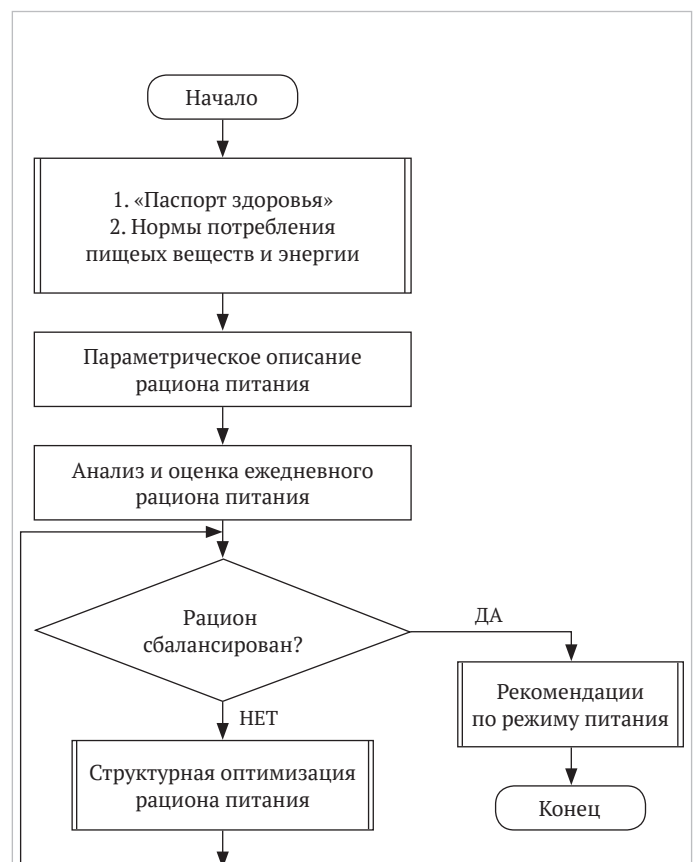


Рисунок 2. Блок-схема диалогового алгоритма анализа, оценки и оптимизации рациона питания

Figure 2. Block diagram of the dialogue algorithm for the analysis, evaluation and optimization of a diet

почтения, углеводный обмен, обмен белков, обмен липидов и т.д.). Шаблон параметрической модели человека представлен в Таблице 2.

Таблица 2. Параметрическая модель человека

Table 2. Parametric model of a person

Группа свойств	Наименование параметра		
Анкетные данные	Возраст	Регион проживания (географическое, климатическое, социально-культурные условия)	
	Пол	Вид деятельности	Психоэмоциональное состояние
Критические параметры	Масса тела (антропометрические данные)	Рост	Физическое развитие
Второстепенные свойства	Пищевые предпочтения	Углеводный обмен	Минеральный обмен
	...	...	...
	Обмен белков	Обмен аминокислот	Обмен жиров

Структурная оптимизация рациона питания осуществляется с использованием квадратичного критерия минимального отклонения от эталонной структуры нутриентных показателей пищевой и энергетической ценности для конкретной детерминированной группы людей. Эталонные показатели существуют в усредненном виде для различных детерминированных групп людей. Персонализированных рекомендаций нет.

Работа алгоритма заключается в последовательном определении дисбаланса по k -му элементу при ограничениях по общему объему суточного рациона и по допустимым пределам изменения массовой доли (объема) j -го продукта в рационе питания. В случае дефицита k -элемента происходит минимизация путем увеличения до верхнего предела массовой доли одного продукта y_i с максимальным удельным содержанием b_{kl}^{max} дефицитного элемента. Сокращение массовой доли возникает также за счет соответствующего уменьшения до минимума массовой доли другого продукта

y_r с минимальным удельным содержанием b_{kr}^{min} k -го элемента. В случае избытка структурный сдвиг следует в противоположном направлении. В результате перераспределения массовых долей выбранной пары продуктов до y_l^{max} и y_r^{min} получаем новое улучшенное значение критерия оптимизации. Величина перераспределения массовых долей компонентов выбирается, исходя из ограничения по заданным пределам y_l^{max} и y_r^{min} , а также из ограничения по общему объему рациона:

$$\delta = \min \{ \Delta y_k, \Delta y_{kmax}, \Delta y_{kmin} \},$$

где $\Delta y_{kmax} = y_l^{max} - y_l$ — допустимое увеличение массовой доли l -го продукта;

$\Delta y_{kmin} = y_p - y_p^{min}$ — допустимое уменьшение массовой доли p -го продукта.

Новые значения массовых долей определяются как $y_l' = y_l + \delta$; $y_p' = y_p - \delta$.

Процедура повторяется со следующей парой продуктов для перераспределения их массовых долей до локального минимума по k -му элементу. Процесс продолжается до исчерпания всех возможностей перераспределения массовых долей компонентов с получением в итоге альтернативного варианта рациона с минимальным отклонением k -го элемента от заданного нормативного значения в структуре асортимента адекватного питания.

При практическом апробировании алгоритма осуществлено конструирование рациона питания для студентов с проблемами желудочно-кишечного тракта на основе конкретизированных медико-биологических требований. С учетом этой информации проведена кластеризация в базе данных «Пищевые продукты» и получен список продуктов и блюд по категориям (салаты, первые, вторые блюда, гарнир и др.), которые были использованы при составлении рациона питания.

В результате структурной оптимизации были получены варианты рационов для профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта у молодежи. На Рисунке 3 представлена одна из программ питания.

Завтрак	Выход, г.	Белки, г.	Жиры, г.	Углеводы, г.	Эн.цен., ккал	Витамины					Минеральные вещества			
						С мг.	В2 мг.	В1 мг.	РР мг.	Е мг.	Са мг.	Fe мг.	Р мг.	Mg мг.
1. Каша из хлопьев "Геркулес"	125	3,00	5,00	18,50	131,25	0,00	0,03	0,09	0,25	1,38	23,75	1,00	87,50	36,25
с маслом сливочным	5	0,03	4,13	0,47	37,40	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	1,10	0,01	0,95	0,15
2. Булочка "Студенческая"	1/30	2,20	1,50	16,10	86,70	0,00	0,06	0,09	1,62	0,00	24,42	0,99	0,00	0,00
витаминизированная														
3. Сырок плавленый "Родничок"	1/20	4,60	3,80	0,00	52,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	152,00	0,16	90,00	8,00
4. Какао с молоком	200	3,92	0,65	68,74	129,22	0,52	0,17	0,04	0,13	0,07	140,00	0,61	117,29	29,05
Итого:		13,75	15,08	103,81	437,17	0,52	0,27	0,22	2,01	1,46	341,27	2,77	295,74	73,45

Обед	Выход, г.	Белки, г.	Жиры, г.	Углеводы, г.	Эн.цен., ккал	Витамины					Минеральные вещества			
						С мг.	В2 мг.	В1 мг.	РР мг.	Е мг.	Са мг.	Fe мг.	Р мг.	Mg мг.
1. Салат мясной	100	5,30	15,80	7,90	219,00	7,70	0,10	0,07	0,00	7,10	28,00	1,10	78,00	21,00
2. Суп рисовый на отваре овощном с фрикадельками мясными	300	6,6	6,6	17,1	153	16,40	0,10	0,10	1,97	1,38	24,06	1,35	100,75	31,55
3. Рыба, запеченная с картофелем, по-русски	250	17,25	10,25	12	230	12,42	0,19	0,17	2,63	1,91	127,14	1,32	264,71	43,99
4. Хлебобулочное изделие "Тонус"	60	7,20	0,54	25,20	129,60	0,00	0,30	0,50	4,30	0,00	26,40	7,02	342,00	87,60
5. Компот из вишни	200	1,20	0,60	47,40	202,00	4,00	0,04	0,04	0,40	0,40	20,00	0,80	34,00	16,00
Итого:		37,55	33,79	109,60	933,60	40,52	0,73	0,88	9,30	10,79	225,60	11,59	819,46	200,14
ВСЕГО:		51,30	48,87	213,41	1370,77	41,04	1,00	1,10	11,31	12,25	566,87	14,36	1115,20	273,59

белок	жир	углеводы
1,05	1,00	4,37

Рисунок 3. Рацион питания для профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта, рекомендуемый для школьной или студенческой столовой

Figure 3. Diet to prevent gastrointestinal tract diseases, recommended for a school or student canteen

4. Выводы

Возможность составления персонализированного рациона питания человека напрямую связана с развитием цифровых технологий. Только они позволяют учесть все необходимое разнообразие факторов: индивидуальные физиологические характеристики (группа крови, уровень глюкозы в крови, микробиота, среда ЖКТ и т.д.), морфометрические параметры человека, анкетные данные (возраст, пол, рост, вес, индекс массы тела и т.д.), уровень

и характер трансформации нутриентов под действием ферментной системы ЖКТ и их усвояемость.

Алгоритм формирования персонализированного пищевого рациона разработан и апробирован с применением метода структурной оптимизации комплекса параметров, включающих социокультурный и физиологический статус потенциального потребителя, результаты семантического анализа предпочтений и другие показатели.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Lichtenstein, A. H., Appel, L. J., Vadiveloo, M., Hu, F. B., Kris-Etherton, P. M., Rebholz, C. M. et al (2021). Dietary guidance to improve cardiovascular health: a scientific statement from the American heart association. *Circulation*, 144(23), e472–e477. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001031>
- Ayoub, J. J., Samra, M. J. A., Hlais, S. A., Bassil, M. S., Obeid, O. A. (2015). Effect of phosphorus supplementation on weight gain and waist circumference of overweight/obese adults: a randomized clinical trial. *Nutrition and Diabetes*, 5(12), Article e189. <https://doi.org/10.1038/nutd.2015.38>
- Mattar, L., Zeeni, N., Bassil, M. (2015). Effect of movie violence on mood, stress, appetite perception and food preferences in a random population. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(8), 972–973. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.262>
- Stigler, G. (1945). The cost of subsistence. *Journal of Farm Economics*, 27(2), 303–314. <http://doi.org/10.2307/1231810>
- Lancaster, L. M. (1992). The history of the application of mathematical programming to menu planning. *European Journal of Operational Research*, 57(3), 339–347. [https://doi.org/10.1016/0377-2217\(92\)90345-A](https://doi.org/10.1016/0377-2217(92)90345-A)
- Lenstra, H. W. (1983). Integer programming with a fixed number of variables. *Mathematics of Operations Research*, 8(4), 538–548.
- Schniederjans, M. (1995). Goal programming: methodology and applications. 1st edn. New York: Springer, 1995. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2229-4>
- McCann-Rugg, M., White, G. P., Endres, J. M. (1983). Using goal programming to improve the calculation of diabetic diets. *Computers and Operations Research*, 10(4), 365–373. [https://doi.org/10.1016/0305-0548\(83\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0305-0548(83)90011-4)
- Bassi, L. J. (1976). The diet problem revisited. *The American Economist*, 20(2), 35–39. <https://doi.org/10.1177/056943457602000206>
- Foytik, J. (1981). Devising and using a computerized diet: An exploratory study. *The Journal of Consumer Affairs*, 15(1), 158–169. <https://doi.org/10.1111/J.1745-6606.1981.TB00699.X>
- Valdez-Pena, H., Martinez-Alfaro, H. (2003, 08 October). Menu planning using the exchange diet system. Proceedings of the 2003 IEEE International Conference on Systems, Man and Cybernetics (SMC'03). Washington, DC, USA, 3, 3044–3049. <https://doi.org/10.1109/ICSMC.2003.1244355>
- McCann-Rugg, M., White, G. P., Endres, J. M. (1983). Using goal programming to improve the calculation of diabetic diets. *Computers and Operations Research*, 10(4), 365–373. [https://doi.org/10.1016/0305-0548\(83\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0305-0548(83)90011-4)
- Ainsworth, B. E., Haskell, W. L., Herrmann, S. D., Meckes, N., Bassett, D. R. Jr., Tudor-Locke, C., Greer, G. R. et al. (2011). 2011 compendium of physical activities: a second update of codes and MET values. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43(8), 1575–1581. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31821e12e12>
- Fister, D., Fister, R. S. I. (2016, 17–19 November). Generating eating plans for athletes using the particle swarm optimization. Proceedings of the 2016 IEEE17th International Symposium on Computational Intelligence and Informatics (CINTI'2016). Budapest, Hungary. 193–198. <https://doi.org/10.1109/CINTI.2016.7846402>
- Razali, A. N. A. M., Bakar, E. M. N. E. A., Mahamud, K. R. K., Arbin, N., Rusiman, M. R. (2018). Self-adaptive hybrid genetic algorithm (SHGA). *Far East Journal of Mathematical Sciences*, 103(1), 171–190. <http://doi.org/10.17654/MS103010171>
- Seljak, B. K. (2009). Computer-based dietary menu planning. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 414–420. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2009.02.006>
- Türkmenoglu, C., Uyar, A. S. E., Kiraz, B. (2021). Recommending healthy meal plans by optimising nature-inspired many-objective diet problem. *Health Informatics Journal*, 27(1), Article 1460458220976719. <https://doi.org/10.1177/1460458220976719>
- Salloum, G., Tekli, J. (2022). Automated and personalized meal plan generation and relevance scoring using a multi-factor adaptation of the transportation problem. *Soft Computing*, 26, 2561–2585. <https://doi.org/10.1007/s00500-021-06400-1>
- Bianchi, L., Dorigo, M., Gambardella, L. M., Gutjahr, W. J. (2009). A Survey on metaheuristics for stochastic combinatorial optimization. *Natural Computing*, 8, 239–287. <https://doi.org/10.1007/s11047-008-9098-4>
- El-Ghazi, T. (2009). Metaheuristics: from design to implementation. New Jersey: Wiley, 2009.
- Husain, W., Wei, L. J., Cheng, S. L., Zakaria, N. (2011, 05–06 December). Application of data mining techniques in a personalized diet recommendation system for cancer patients. Proceedings of the 2011 IEEE colloquium on humanities, science and engineering, Penang, Malaysia. 239–244. <https://doi.org/10.1109/CHUSER.2011.6163724>
- Khan, A. S., Hoffmann, A. (2003). An advanced artificial intelligence tool for menu design. *Nutrition and Health*, 17(1), 43–53. <https://doi.org/10.1177/026010600301700105>
- Khan, A. S., Hoffmann, A. (2003). Building a case-based diet recommendation system without a knowledge engineer. *Artificial Intelligence in Medicine*, 27(2), 155–179. [https://doi.org/10.1016/s0933-3657\(02\)00113-6](https://doi.org/10.1016/s0933-3657(02)00113-6)
- Petot, G. J., Marling, C., Sterling, L. (1998). An artificial intelligence system for computer-assisted menu planning. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 98(9), 1009–1014. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(98\)00231-4](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(98)00231-4)
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Hsu, C.-Y., Hagra, H. (2009, 15–18 September). A novel type-2 fuzzy ontology and its application to diet assessment. Proceedings of the 2009 IEEE/WIC/ACM International joint conference on web intelligence and intelligent agent technology, Milan, Italy. 3, 417–420. <https://doi.org/10.1109/WI-IAT.2009.315>
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Acampora, G., Hsu, C.-Y., Hagra, H. (2010). Diet assessment based on type-2 fuzzy ontology and fuzzy markup language. *International Journal of Intelligent Systems*, 25(12), 1187–1216. <https://doi.org/10.1002/int.20449>
- Wang, M.-H., Lee, C.-S., Hsieh, K.-L., Hsu, C.-Y., Chang, C.-C. (2009, 20–24 August). Intelligent ontological multi-agent for healthy diet planning. Proceedings of the 2009 IEEE International Conference on Fuzzy Systems, Jeju, Korea (South). Article 10905832. <https://doi.org/10.1109/FUZZY.2009.5277049>
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Habras, H., Chen, Z.-W., Lan, S.-T., Hsu, C.-Y. et al. (2012). A novel genetic fuzzy markup language and its application to healthy diet assessment. *International Journal of Uncertainty, Fuzziness and Knowledge-Based Systems*, 20(suppl02), 247–278. <https://doi.org/10.1142/S0218488512400235>
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Lan, S. T. (2015, October). Adaptive personalized diet linguistics recommendation mechanism based on type-2 fuzzy sets and genetic fuzzy markup language. Proceedings of the 2015 IEEE Transactions on Fuzzy Systems. 23(5), 1777–1802. <https://doi.org/10.1109/TFUZZ.2014.2379256>
- Evans, D. (2017). MyFitnessPal. *British Journal of Sports Medicine*, 51(14), 1101–1102. <http://doi.org/10.1136/bjsports-2015-095538>
- Livestrong Foundation. MyPlate Calorie Counter. Retrieved from: <https://www.livestrong.com/myplate/> Accessed May 25, 2022.
- MyNetDiary, Retrieved from: <https://www.mynetdiary.com/>. Accessed May 25, 2022.
- EatThisMuch Inc. Eat this much. Retrieved from: <https://www.eatthismuch.com/>. Accessed May 25, 2022.
- Fitness Meal Planner. Retrieved from: <http://www.fitnessmealplanner.com/>. Accessed May 25, 2022.
- MakeMyPlate Inc. Make my plate. Retrieved from: <http://www.makemyplate.co/>. Accessed May 25, 2022.
- Yang, L., Hsieh, C.-K., Yang, H., Dell, N., Belongie, S., Cole, C. et al. (2018). Yum-Me: A personalized nutrient-based meal recommender system. *ACM Transactions on Information Systems*, 36(1), Article 7. <https://doi.org/10.1145/3072614>
- Ивашкин, Ю. А., Никитина, М. А. (2018). Концепция биологической совместимости в оптимизации рациона питания человека. *Наукоемкие технологии*, 19(3), 33–44.
- Nikitina, M. (2020, 26–29 May). Structural-parametric modeling in human healthy nutrition system. Proceedings of the 6th International Conference Information Technology and Nanotechnology. Session Data Science, Samara, Russia. 219–224.
- Ивашкин, Ю. А. (2004). Структурно-параметрическое моделирование и идентификация аномальных ситуаций в сложных технологических системах. *Проблемы управления*, 3, 39–45.
- Лисицын А. Б., Иванова В. Н. (2018). Современные технологии функциональных пищевых продуктов. Москва: ДеЛи плюс, 2018.
- Диета и метаболизм (2011). UA, San Diego: Genex, 50 p. Электронный ресурс https://www.lifemedical.ru/netcat_files/File/5678%20FIT%20russian.pdf. Дата доступа 2.01.2023.

42. Nikitina, M. A. (2022). Digital Technology in the Development of Healthy Diet Decision Support System. Chapter in a book: Society 5.0: Human-Centered Society Challenges and Solutions. Heidelberg: Springer, 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-030-95112-2_6

43. Никитина, М. А. (2022). Персонализация в структурной оптимизации рациона индивидуального питания человека. Математические методы в технологиях и технике, 1, 85–88. https://doi.org/10.52348/2712-8873_MMTT_2022_1_85

REFERENCES

- Lichtenstein, A. H., Appel, L. J., Vadiveloo, M., Hu, F. B., Kris-Etherton, P. M., Rebholz, C. M. et al (2021). Dietary guidance to improve cardiovascular health: a scientific statement from the American heart association. *Circulation*, 144(23), e472–e477. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001031>
- Ayoub, J. J., Samra, M. J. A., Hlais, S. A., Bassil, M. S., Obeid, O. A. (2015). Effect of phosphorus supplementation on weight gain and waist circumference of overweight/obese adults: a randomized clinical trial. *Nutrition and Diabetes*, 5(12), Article e189. <https://doi.org/10.1038/nutd.2015.38>
- Mattar, L., Zeeni, N., Bassil, M. (2015). Effect of movie violence on mood, stress, appetite perception and food preferences in a random population. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(8), 972–973. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.262>
- Stigler, G. (1945). The cost of subsistence. *Journal of Farm Economics*, 27(2), 303–314. <http://doi.org/10.2307/1231810>
- Lancaster, L. M. (1992). The history of the application of mathematical programming to menu planning. *European Journal of Operational Research*, 57(3), 339–347. [https://doi.org/10.1016/0377-2217\(92\)90345-A](https://doi.org/10.1016/0377-2217(92)90345-A)
- Lenstra, H. W. (1983). Integer programming with a fixed number of variables. *Mathematics of Operations Research*, 8(4), 538–548.
- Schniederjans, M. (1995). Goal programming: methodology and applications. 1st edn. New York: Springer, 1995. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2229-4>
- McCann-Rugg, M., White, G. P., Endres, J. M. (1983). Using goal programming to improve the calculation of diabetic diets. *Computers and Operations Research*, 10(4), 365–373. [https://doi.org/10.1016/0305-0548\(83\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0305-0548(83)90011-4)
- Bassi, L. J. (1976). The diet problem revisited. *The American Economist*, 20(2), 35–39. <https://doi.org/10.1177/056943457602000206>
- Foytik, J. (1981). Devising and using a computerized diet: An exploratory study. *The Journal of Consumer Affairs*, 15(1), 158–169. <https://doi.org/10.1111/J.1745-6606.1981.TB00699.X>
- Valdez-Pena, H., Martinez-Alfaro, H. (2003, 08 October). *Menu planning using the exchange diet system*. Proceedings of the 2003 IEEE International Conference on Systems, Man and Cybernetics (SMC'03). Washington, DC, USA. 3, 3044–3049. <https://doi.org/10.1109/ICSMC.2003.1244355>
- McCann-Rugg, M., White, G. P., Endres, J. M. (1983). Using goal programming to improve the calculation of diabetic diets. *Computers and Operations Research*, 10(4), 365–373. [https://doi.org/10.1016/0305-0548\(83\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0305-0548(83)90011-4)
- Ainsworth, B. E., Haskell, W. L., Herrmann, S. D., Meckes, N., Bassett, D. R. Jr., Tudor-Locke, C., Greer, G.R. et al. (2011). 2011 compendium of physical activities: a second up-date of codes and MET values. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43(8), 1575–1581. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31821e12>
- Fister, D., Fister, R. S. I. (2016, 17–19 November). *Generating eating plans for athletes using the particle swarm optimization*. Proceedings of the 2016 IEEE 17th International Symposium on Computational Intelligence and Informatics (CINTI'2016). Budapest, Hungary. 193–198. <https://doi.org/10.1109/CINTI.2016.7846402>
- Razali, A. N. A. M., Bakar, E. M. N. E. A., Mahamud, K. R. K., Arbin, N., Rusiman, M. R. (2018). Self-adaptive hybrid genetic algorithm (SHGA). *Far East Journal of Mathematical Sciences*, 103(1), 171–190. <http://doi.org/10.17654/MS103010171>
- Seljak, B. K. (2009). Computer-based dietary menu planning. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 414–420. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.02.006>
- Türkmenoglu, C., Uyar, A. S. E., Kiraz, B. (2021). Recommending healthy meal plans by optimising nature-inspired many-objective diet problem. *Health Informatics Journal*, 27(1), Article 1460458220976719. <https://doi.org/10.1177/1460458220976719>
- Salloum, G., Tekli, J. (2022). Automated and personalized meal plan generation and relevance scoring using a multi-factor adaptation of the transportation problem. *Soft Computing*, 26, 2561–2585. <https://doi.org/10.1007/s00500-021-06400-1>
- Bianchi, L., Dorigo, M., Gambardella, L. M., Gutjahr, W. J. (2009). A Survey on metaheuristics for stochastic combinatorial optimization. *Natural Computing*, 8, 239–287. <https://doi.org/10.1007/s11047-008-9098-4>
- El-Ghazi, T. (2009). Metaheuristics: from design to implementation. New Jersey: Wiley, 2009.
- Husain, W., Wei, L. J., Cheng, S. L., Zakaria, N. (2011, 05–06 December). *Application of data mining techniques in a personalized diet recommendation system for cancer patients*. Proceedings of the 2011 IEEE colloquium on humanities, science and engineering, Penang, Malaysia. 239–244. <https://doi.org/10.1109/CHUSER.2011.6163724>
- Khan, A. S., Hoffmann, A. (2003). An advanced artificial intelligence tool for menu design. *Nutrition and Health*, 17(1), 43–53. <https://doi.org/10.1177/026010600301700105>
- Khan, A. S., Hoffmann, A. (2003). Building a case-based diet recommendation system without a knowledge engineer. *Artificial Intelligence in Medicine*, 27(2), 155–179. [https://doi.org/10.1016/s0933-3657\(02\)00113-6](https://doi.org/10.1016/s0933-3657(02)00113-6)
- Petot, G. J., Marling, C., Sterling, L. (1998). An artificial intelligence system for computer-assisted menu planning. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 98(9), 1009–1014. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(98\)00231-4](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(98)00231-4)
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Hsu, C.-Y., Hagra, H. (2009, 15–18 September). *A novel type-2 fuzzy ontology and its application to diet assessment*. Proceedings of the 2009 IEEE/WIC/ACM International joint conference on web intelligence and intelligent agent technology, Milan, Italy. 3, 417–420. <https://doi.org/10.1109/WI-IAT.2009.315>
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Acampora, G., Hsu, C.-Y., Hagra, H. (2010). Diet assessment based on type-2 fuzzy ontology and fuzzy markup language. *International Journal of Intelligent Systems*, 25(12), 1187–1216. <https://doi.org/10.1002/int.20449>
- Wang, M.-H., Lee, C.-S., Hsieh, K.-L., Hsu, C.-Y., Chang, C.-C. (2009, 20–24 August). *Intelligent ontological multi-agent for healthy diet planning*. Proceedings of the 2009 IEEE International Conference on Fuzzy Systems, Jeju, Korea (South). Article 10905832. <https://doi.org/10.1109/FUZZY.2009.5277049>
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Habras, H., Chen, Z.-W., Lan, S.-T., Hsu, C.-Y. et al. (2012). A novel genetic fuzzy markup language and its application to healthy diet assessment. *International Journal of Uncertainty, Fuzziness and Knowledge-Based Systems*, 20(suppl02), 247–278. <https://doi.org/10.1142/S0218488512400235>
- Lee, C.-S., Wang, M.-H., Lan, S. T. (2015, October). *Adaptive personalized diet linguistics recommendation mechanism based on type-2 fuzzy sets and genetic fuzzy markup language*. Proceedings of the 2015 IEEE Transactions on Fuzzy Systems. 23(5), 1777–1802. <https://doi.org/10.1109/TFUZZ.2014.2379256>
- Evans, D. (2017). MyFitnessPal. *British Journal of Sports Medicine*, 51(14), 1101–1102. <http://doi.org/10.1136/bjsports-2015-095558>
- Livingstrong Foundation. MyPlate Calorie Counter. Retrieved from: <https://www.livestrong.com/myplate/> Accessed May 25, 2022.
- MyNetDiary, Retrieved from: <https://www.mynetdiary.com/>. Accessed May 25, 2022.
- EatThisMuch Inc. Eat this much. Retrieved from: <https://www.eatthismuch.com/>. Accessed May 25, 2022.
- Fitness Meal Planner. Retrieved from: <http://www.fitnessmealplanner.com/>. Accessed May 25, 2022.
- MakeMyPlate Inc. Make my plate. Retrieved from: <http://www.makemyplate.co/>. Accessed May 25, 2022.
- Yang, L., Hsieh, C.-K., Yang, H., Dell, N., Belongie, S., Cole, C. et al. (2018). Yum-Me: A personalized nutrient-based meal recommender system. *ACM Transactions on Information Systems*, 36(1), Article 7. <https://doi.org/10.1145/3072614>
- Ivashkin, Yu. A., Nikitina, M. A. (2018). The concept of biological compatibility in optimization of a human diet. *Science Intensive Technologies*, 19(3), 33–45. (In Russian)
- Nikitina, M. (2020, 26–29 May). *Structural-parametric modeling in human healthy nutrition system*. Proceedings of the 6th International Conference Information Technology and Nanotechnology. Session Data Science, Samara, Russia. 219–224.
- Ivashkin Yu. A. (2004). Structural and parametric identification of abnormal situations in complex process systems. *Problemy Upravleniya*, 3, 39–43. (In Russian)
- Lisitsyn, A.B., Ivanova, V.N. (2018). Modern technologies of functional food products. Moscow: ДеЛи плюс DeLi plus, 2018. (In Russian)
- Diet and metabolism (2011). UA, San Diego: Genex, 50p. Retrieved from https://www.lifemedical.ru/netcat_files/File/5678%20FIT%20russian.pdf. Accessed January 02, 2023 (In Russian)
- Nikitina, M. A. (2022). Digital Technology in the Development of Healthy Diet Decision Support System. Chapter in a book: Society 5.0: Human-Centered Society Challenges and Solutions. Heidelberg: Springer, 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-030-95112-2_6
- Nikitina, M. A. (2022). Personalization in the structural optimization of the individual human nutrition diet. *Mathematical Methods in Technologies and Technics*, 1, 85–88. https://doi.org/10.52348/2712-8873_MMTT_2022_1_85 (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Лисицын Андрей Борисович — доктор технических наук, профессор, академик РАН, Научный руководитель, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 E-mail: info@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4079-6950	Andrey B. Lisitsyn, Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Scientific Supervisor, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Tel: +7-495-676-95-11. E-mail: info@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4079-6950
Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, Руководитель Отдела координации инициативных и международных проектов, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (109) E-mail: imcher@inbox.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927	Irina M. Chernukha, Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Principal Researcher, Head of the Department for Coordination of Initiative and International Projects, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems. 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Тел.: +7-495-676-95-11 (109) E-mail: imcher@inbox.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927
Никитина Марина Александровна — доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, руководитель направления Центра экономико-аналитических исследований и информационных технологий, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (297) E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8313-4105 * автор для контактов	Marina A. Nikitina, Doctor of Technical Sciences, Docent, Leading Scientific Worker, Head of the Direction of Information Technologies of the Center of Economic and Analytical Research and Information Technologies, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia. Tel: +7-495-676-95-11 (297) E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8313-4105 * 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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-72-79>

Поступила 20.02.2023

Поступила после рецензирования 20.03.2023

Принята в печать 27.03.2023

© Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухова И. Л., Остроухов Д. В., 2023



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

Научная статья

Open access

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ВЫРАБОТКИ ПОЛУТВЕРДЫХ СЫРОВ ИЗ ЗАМОРОЖЕННОГО КОЗЬЕГО МОЛОКА

Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухова И. Л.*, Остроухов Д. В.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

козье молоко, замораживание, дефростация, сыропригодные свойства, полутвердый сыр, органолептические показатели

АННОТАЦИЯ

В статье представлены результаты исследования показателей качества полутвердых сыров, выработанных из дефростированного козьего молока. В качестве объектов изучения использовали натуральное и дефростированное козье молоко, полутвердые сыры с низкой температурой второго нагревания. Исследования дефростированного козьего молока проводили через 6 ± 1 сут его хранения при температуре минус 18 °C с последующей дефростацией при температуре 37 ± 2 °C в течение 60 мин; состав натурального козьего молока рассматривался после хранения в течение 24 ± 12 ч при температуре 4 ± 2 °C. Установлено, что замораживание молока и последующая его дефростация не оказали влияния на химический состав молока и на общее содержание микроорганизмов, однако количество соматических клеток уменьшилось. Сыры вырабатывали по традиционной технологической схеме полутвердого сыра с использованием производственной мезофильно-термофильной бактериальной закваски. Не было выявлено значимого влияния процесса замораживания козьего молока на его технологические свойства: продолжительность образования сгустка в обоих вариантах составляла (30 ± 1) мин, продолжительность обработки сырного зерна — (90 ± 2) мин. Уровень синерезиса составил в контроле (55 ± 2)%, в опытных вариантах — (55 ± 6)% и находился в пределах погрешности метода. Степень перехода сухих веществ в сыворотку составила: в контроле — (7,26 ± 0,21)%, в опыте — (7,21 ± 0,32)%. Было установлено отсутствие различий в степени протеолиза в сырах при созревании. Значения кислотности жировой фазы в сырах из натурального молока были выше в сравнении с сырами из дефростированного молока в среднем на 15%, но темпы изменения кислотности жировой фазы были идентичны. При этом содержание доступного жира в сырах обоих вариантов было сопоставимо. Органолептические показатели сыров в кондиционном возрасте 60 сут имели схожие характеристики как по степени выраженности сырного вкуса, так и по характерным для сыров из козьего молока вкусовым нотам «острота» и «пикантность». Консистенция сыров обоих вариантов характеризовалась как однородная, умеренно плотная. Установлено, что процесс замораживания козьего молока не снижает его сыропригодные свойства и качественные характеристики выработанного из него полутвердого сыра.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FNEN-2019-0011 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 20.02.2023

Accepted in revised 20.03.2023

Accepted for publication 27.03.2023

© Mordvinova V. A., Sviridenko G. M., Ostroukhova I. L., Ostroukhov D. V., 2023

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

Original scientific article

Open access

STUDY OF THE POSSIBILITY OF PRODUCING SEMI-HARD CHEESES FROM FROZEN GOAT'S MILK

Valentina A. Mordvinova, Galina M. Sviridenko, Irina L. Ostroukhova*, Dmitriy V. Ostroukhov

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

KEY WORDS:

goat's milk, freezing, defrosting, cheese properties, semi-hard cheese, organoleptic indicators

ABSTRACT

The article presents the results of a study of the quality indicators of semi-hard cheeses produced from defrosted goat's milk. Natural and defrosted goat's milk, semi-hard cheeses with a low temperature of the second heating were used as objects of research. Studies of defrosted goat's milk were carried out after 6 ± 1 days of its storage at a temperature of minus 18 °C and subsequent defrosting at a temperature of 37 ± 2 °C for 60 minutes; natural goat's milk — after storage for 24 ± 12 hours at a temperature of 4 ± 2 °C. It was found that milk freezing and its subsequent defrosting did not affect the chemical composition of milk and the total content of microorganisms, but the number of somatic cells decreased. Cheeses were produced according to the traditional technological scheme of semi-hard cheese using a bulk mesophilic-thermophilic bacterial starter culture. There was no significant effect of the freezing process of goat's milk on its technological properties: the duration of curd formation in both variants was (30 ± 1) min, the duration of processing of cheese grain was (90 ± 2) min. The level of syneresis was (55 ± 2)% in the control, (55 ± 6)% — in the test versions and was in the range of error of the method. The degree of transition of dry matter to whey was: in the control — (7.26 ± 0.21)%, in the test — (7.21 ± 0.32)%. It was found that there were no differences in the degree of proteolysis in cheeses during ripening. The values of the acidity of the fat phase in cheeses made from natural milk were higher in comparison with cheeses made from defrosted milk, on average, by 15%, but the rates of change in the acidity of the fat phase were identical. At the same time,

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мордвинова, В. А., Свириденко, Г. М., Остроухова, И. Л., Остроухов, Д. В. (2023). Изучение возможности выработки полутвердых сыров из замороженного козьего молока. *Пищевые системы*, 6(1), 72-79. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-72-79>

FOR CITATION: Mordvinova, V. A., Sviridenko, G. M., Ostroukhova, I. L., Ostroukhov, D. V. (2023). Study of the possibility of producing semi-hard cheeses from frozen goat's milk. *Food Systems*, 6(1), 72-79. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-72-79>

the content of available fat in the cheeses of both variants was comparable. The organoleptic characteristics of cheeses at the standard age of 60 days had similar characteristics, both in terms of the degree of intensity of the cheese taste, and in the taste notes of “zest” and “spice”, typical of goat’s milk cheeses. The cheese texture of both variants was characterized as “homogeneous, moderately dense”. It has been established that the process of freezing goat’s milk does not reduce its cheese properties and the qualitative characteristics of the semi-hard cheese produced from it.

FUNDING: The article was prepared as part of the research under the state assignment No. FNEN-2019-0011 of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

1. Введение

Козье молоко является уникальным продуктом с гипоаллергенными и питательными свойствами, и продукты из него приобретают все большую популярность как за рубежом, так и в РФ. Вырабатывается достаточно большой ассортимент продукции — питьевое молоко, йогурты, мороженое, но больший интерес переработчиков вызывают сыры. В европейском сыроделии популярны марочные сыры категории PDO с защищенными наименованиями по месту происхождения, такие как Сент-Мор, Кроттен де Шавиньоль, Шабишу де Пуато, Валансе, Рокамандур и др. [1].

Однако товарность козьего молока не высока. По данным «Союзмолоко», в РФ на готовую продукцию в год перерабатывается только около 40 тыс. тонн козьего молока, что не превышает 20% от объема его производства, т.к. значительная часть поголовья коз сосредоточена в личных подсобных хозяйствах с небольшими удоями. Накапливание молока для выработки сыра либо его транспортировка на удаленные расстояния с целью реализации или дальнейшей переработки подразумевает его предварительную консервацию, например, замораживанием.

В практике европейского сыроделия консервирование небольших объемов молока замораживанием является достаточно распространенным приемом [2]. Замораживание как альтернатива для консервирования сырого молока в крестьянско-фермерских хозяйствах предлагается для овечьего [3,4], козьего [5,6,7], буйволиного [8], кобыльего и оленьего [9, 10] молока. По данным [11], криоконсервирование молока позволяет сохранить большинство его полезных компонентов.

Замораживание козьего молока может помочь изготовителям преодолеть сезонность производства и не нести убытков из-за относительно низкой продуктивности коз ввиду коротких периодов лактации.

В исследовании [12] сообщается, что замораживание козьего молока при минус 18 °С и хранение до 40 сут не вызывало различий в массовых долях жира, белка, лактозы, общего количества бактерий и бактерий группы кишечной палочки. К такому же выводу пришли и ученые [6]: образцы козьего молока, подвергнутые медленному замораживанию при температуре $(-18 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C})$, хранились до 150 дней без изменения его физико-химических характеристик. Исследователями [13] также было показано, что в образцах замороженного при температуре минус 20 °С и дефростированного после 6 месяцев хранения овечьего молока общее количество бактерий было значительно ($P < 0,05$) ниже, чем в свежем молоке. Температуры замораживания (-15 и $-25 \text{ }^{\circ}\text{C}$) и время замораживания (до 6 мес) не повлияли на содержание общего количества сухих веществ, белка, казеина, небелкового N, истинного белка и лактозы в овечьем молоке, однако процентное содержание жира в молоке снизилось [14].

Сычужные свойства образцов козьего и овечьего молока, замороженных при минус 18 °С и хранящихся в течение 3 мес, были лучше в сравнении с образцами, хранящимися от 1 до 7 сут при положительной температуре 3 и 7 °С [15]. Это может быть связано с тем, что в образцах обоих видов

молока, хранящихся в замороженном виде, содержание коллоидного фосфора, кальция и магния изменилось незначительно. В то время как после хранения в течение 2 сут при температуре 3 °С уровни Ca, Mg и P в плазме молока увеличились на 10,3, 3,1 и 9,4% соответственно. По мере снижения pH молока через 4 дня наблюдалось значительный рост количества этих элементов в растворимой фазе.

Молоко представляет собой сложную полидисперсную систему, в которой при понижении температуры ниже криоскопической структурные элементы претерпевают изменения. Сначала происходит процесс кристаллизации воды с образованием центров кристаллизации и ростом кристаллов, что приводит к расслоению системы на молочный лед и плазму молока. Затем после достижения эвтектической точки¹ раствор замерзает равномерно [16].

В сыром молоке липиды присутствуют в виде эмульсии, стабилизированной мембраной шариков молочного жира, которая состоит из белка и фосфолипидов [17]. Процесс замораживания повреждает мембрану шарика молочного жира, что приводит к отделению свободного жира [18]. На этот процесс влияет скорость охлаждения. Считается, что медленное замораживание с большей вероятностью приведет к образованию свободного жира, что может способствовать появлению окисленного и неприятного привкуса [14].

Проблема выделения свободного жира после замораживания и дефростирования молока может быть минимизирована за счет гомогенизации из-за более высокой стабильности капель жира с уменьшенным размером [19]. Поскольку в козьем молоке размер жировых шариков значительно меньше, это может снизить риски повреждения белково-лецитиновой оболочки и появления пороков в готовом продукте.

Работами [20,21] было показано, что при замораживании казеиновые мицеллы остаются в нативном состоянии. Однако, по сведениям Vandenberg [22], в случае хранения молока более 20 дней возможно частичное выпадение белка в осадок (в количестве 1–2% от общего содержания белка). Полученный эффект объясняется потерей коллоидной устойчивости белка вследствие возникновения дефицита доступной воды, который в свою очередь порождается кристаллизацией воды и связыванием части свободной влаги солями молока. Также было установлено, что при осаждении казеина происходит снижение концентрации Ca^{2+} , PO_4^{2-} и цитрата; не гидролизованная лактоза способствует образованию хлопьев казеина [16].

Исследования зарубежных ученых показывают, что наиболее доступным способом увеличения сроков хранения молочной продукции также является замораживание [23]. Оно применяется для продления срока годности сливочного масла, творога, сливок, натуральных сыров, предназначенных для изготовления плавленого сыра [24], йогурта [25,13], кефира [26].

Park и др. в своей работе [27] пришли к заключению, что процессы замораживания и хранения в замороженном виде при минус 20 °С до 6 мес свежих мягких сыров из козьего молока оказали минимальное влияние на их вкусовые свойства.

¹ Эвтектическая точка — состояние жидкой фазы, находящейся в равновесии с двумя или более твердыми фазами

Был сделан вывод о том, что хранение в замороженном виде мягких козьих сыров может сгладить сезонность их производства.

Сыры из овечьего молока, хранившиеся в замороженном виде в течение 3, 6 и 9 мес, достоверно отличались ($p < 0,05$) от контрольных сыров по массовой доле молочной кислоты и pH. Протеолиз в замороженных сырах продолжался медленно, со значительно более высокими показателями небелкового азота и аминокислотного азота ($p < 0,05$), присутствующего в конце периода хранения [28].

Однако было показано, что замораживание отрицательно влияет на микроструктуру и консистенцию творога и сливок [29], полутвердого сыра [30], что приводит к потере исходных потребительских свойств. Исследованиями с помощью электронной микроскопии были обнаружены повреждения микроструктуры в сырах, замороженных сразу после изготовления и хранившихся в течение 4 месяцев [31]. Это нашло подтверждение и в работах российских ученых. После замораживания, хранения и дефростации сыра «Голландский» и сыров нежирных сортов наблюдалось уменьшение их вязкостных и упругих свойств, что свидетельствовало о частичном разрушении исходной структуры и о появлении несвязной, крошливой, мучнистой консистенции [32]. В крупных блочных сырах с высокой температурой второго нагревания после хранения при минус $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 12 мес основное снижение органолептической оценки произошло из-за ухудшения консистенции [33].

Результаты проведенного мониторинга научной литературы позволяют сделать заключение о недостаточности в открытых источниках сведений о пригодности дефростированного козьего молока для изготовления полутвердых сыров, о нехватке информации об их качестве и хранимостпособности.

Исходя из актуальности проблемы, целью данной работы является исследование технологических свойств дефростированного козьего молока и качественных показателей выработанных из него полутвердых сыров в кондиционном возрасте и в процессе хранения.

2. Объекты и методы

Объектами исследований были полутвердые сыры, выработанные из натурального (контроль) и дефростированного (опыт) козьего молока, а также натуральное козье молоко животных альпийской породы (контроль), замороженное и дефростированное козье молоко (опыт).

Опытную партию молока замораживали при температуре минус 18°C и хранили в течение 6 ± 1 сут. Перед выработкой молоко дефростировали при температуре $37 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 60 мин. Контролем служило козье молоко, охлажденное до температуры $4 \pm 2^\circ\text{C}$, после хранения в течение 24 ± 12 ч.

Сыры выработывали в экспериментальном цехе ВНИИМС из цельного молока по традиционной для полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания технологической схеме. Для их изготовления использовали производственную бактериальную закваску в количестве 0,8%, состоящую из смеси мезофильно-термофильных заквасочных микроорганизмов. Сыры созревали при температуре $11 \pm 1^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха ($80 \pm 2\%$) в течение 60 суток. Далее образцы находились на хранении при температуре $4 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 120 суток.

В молоке определяли физико-химические показатели (массовую долю жира, белка, СОМО, лактозы, минеральных солей, плотность, кислотность и точку замерзания) приборным методом с использованием анализатора молока MilkoScan FT 2 (производство «FossAnalytical A/S» (Дания)), действие которого основано на применении метода инфракрасной Фурье-спектроскопии.

Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (в молоке и сырах) проводили по ГОСТ 32901–2014², соматических клеток — по ГОСТ 23453–2014³.

Массовую долю сухих веществ в сыворотке выявляли методом высушивания по ГОСТ 33957–2016⁴.

В сырах после прессования 0 сут, 15 сут, 30 сут, 60 сут и 120 сут определяли физико-химические показатели (массовую долю влаги и активную кислотность) по ГОСТ Р 55063–2012⁵ и основные органолептические характеристики (вкус и запах, консистенцию и рисунок) с помощью дескрипторно-профильного метода, принимая во внимание выраженность основных характеристик вкуса и запаха, характерных для сыров из козьего молока (сырный, острый, пикантный, сливочный, прогорклый), оцениваемых по условной шкале от 0 до 5 баллов. 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 55063–2012 методиками.

Массовую долю азота определяли методом Кьельдаля по ГОСТ Р 54662–2011⁶. Степень протеолиза — по отношению массовой доли растворимого азота к массовой доле общего азота, выраженному в процентах.

Глубину гидролитического распада молочного жира в сырной массе выявляли косвенным методом по величине кислотности жировой фазы сыра. Сущность методики выполнения измерений (МВИ ВНИИМС, свидетельство № 2–02–12–03) определения кислотности жировой фазы сыра титриметрическим методом заключалась в экстрагировании жировой фазы, растворении жировой фазы в смешанном органическом растворителе и в последующем титровании свободных жирных кислот (СЖК) раствором гидроксида калия. Рассчитывали кислотность жировой фазы сыра как величину, равную массе гидроксида калия (натрия), ммоль, необходимую для нейтрализации СЖК и других, титруемых щелочью сопутствующих триглицеридам веществ, которые содержатся в 100 г жира. Кислотность выражали в ммоль/100 г.

Вкусо-ароматические вещества (ВАВ) в сырах определяли методом паровой хроматографии. Для проведения исследований использовали следующее оборудование: газовый хроматограф «Цвет-800» (ОАО «Цвет», 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°C ; температура испарителя — 90°C ; температура переходной камеры — 90°C ; расход газа-носителя (азота) — $30\text{ см}^3/\text{мин}$, водорода — $30\text{ см}^3/\text{мин}$, воздуха — $300\text{ см}^3/\text{мин}$. Общее содержание летучих ВАВ вычисляли как среднее арифметическое суммы площадей всех пиков на хроматограмме по результатам двух параллельных определений каждого испытуемого

² ГОСТ 32901–2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа». — М.: Стандартинформ, 2015. — 25 с.

³ ГОСТ 23453–2014 «Молоко сырое. Методы определения соматических клеток». — М.: Стандартинформ, 2015. — 14 с.

⁴ ГОСТ 33957–2016 «Сыворотка молочная и напитки на ее основе. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». — М.: Стандартинформ, 2017. — 16 с.

⁵ ГОСТ Р 55063–2012 «Сыры и сыры плавленые. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». — М.: Стандартинформ, 2013. — 28 с.

⁶ ГОСТ Р 54662–2011 «Сыры и сыры плавленые. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля». — М.: Стандартинформ, 2012. — 16 с.

образца. Массовую долю индивидуальных летучих компонентов в процентах рассчитывали 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.

Способ определения массовой доли свободного жира в сырах основан на экстрагировании свободного жира из высушенной в вакууме пробы продукта хлороформом, а также на удалении хлороформа выпариванием и взвешивании сухого остатка.

Микроструктурные исследования сыров проводили на трансмиссионном электронном микроскопе EM-410 PHILIPS (Нидерланды) методом сверхбыстрого замораживания-скалывания-травления (СЗСТ). Исследуемые объекты быстро замораживали при температуре минус 180 °С. Затем замороженный объект раскалывали и протравливали в глубоком вакууме. С целью повышения контраста на обнажившуюся поверхность скола напыляли слой тяжелого металла толщиной 10 нм под углом (15–35)° в направлении испарителя вакуумной установки и перпендикулярно поверхности скола — слой углерода толщиной 60 нм для формирования плотной реплики. Полученную таким образом реплику снимали с поверхности объекта, очищали и исследовали на электронном микроскопе.

Математическую обработку результатов проводили с использованием двухвыборочного t-тест с различными дисперсиями в программе Microsoft Excel 2010.

3. Результаты и обсуждение

Результаты исследований качественных показателей натурального и дефростированного козьего молока представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Физико-химические и микробиологические показатели козьего молока

Table 1. Physicochemical and microbiological indicators of goat's milk

Молоко	Массовая доля, %				Титруемая кислотность, °Т	КМАФАнМ, КОЕ/см ³	*Кол-во соматических клеток, тыс. кл/см ³
	жира	белка	лактозы	СОМО			
Контроль (натуральное)	3,90±0,1	3,16±0,15	4,61±0,01	8,76±0,1	17,0±1,0	3,8·10±0,5·10	1200±100
Опыт (дефростированное)	3,85±0,2	3,15±0,15	4,59±0,02	8,74±0,1	17,0±1,0	4,1·10±0,5·10	800±100

Средние значения в столбцах не имеют значимых различий, кроме столбца со значком «*» $P < 0,05$, число степеней свободы (n) = 4.

Таблица 2. Изменение КМАФАнМ в смеси для выработки сыра и сырах во время выработки и созревания

Table 2. Change of QMAFAnM in cheesemaking mixture and cheeses during manufacture and ripening

Варианты	Время отбора проб			
	смесь	сыр п/п	15 сут	30 сут
	Количество микроорганизмов, КОЕ/г			
Контроль	1,3·10 ⁷ ±0,5·10 ⁷	5,2·10 ⁸ ±0,5·10 ⁸	2,0·10 ⁹ ±0,5·10 ⁹	5,4·10 ⁸ ±0,5·10 ⁸
Опыт	1,0·10 ⁷ ±0,5·10 ⁷	8,2·10 ⁸ ±0,5·10 ⁸	1,8·10 ⁹ ±0,5·10 ⁹	4,8·10 ⁸ ±0,5·10 ⁸

Средние значения в столбцах не имеют значимых различий ($P < 0,05$), число степеней свободы (n) = 4.

Таблица 3. Физико-химические показатели сыров

Table 3. Physicochemical indicators of cheeses

Варианты	Возраст сыра			
	сыр п/п	15 сут	30 сут	60 сут
	Активная кислотность, ед. pH			
Контроль	5,57±0,03	5,18±0,03	5,19±0,03	5,22±0,03
Опыт	5,52±0,03	5,20±0,02	5,27±0,04	5,30±0,02
Варианты	Массовая доля влаги, %			
	сыр п/п	15 сут	30 сут	60 сут
	Массовая доля влаги, %			
Контроль	45,6±0,8	41,0±0,7	39,2±0,5	38,8±0,5
Опыт	46,4±0,9	40,4±0,4	39,2±0,6	38,3±0,7

Средние значения в столбцах не имеют значимых различий ($P < 0,05$), число степеней свободы (n) = 4

Значимых различий между показателями натурального и дефростированного козьего молока не обнаружено. Отмечена разница только по количеству соматических клеток: в дефростированном молоке этот показатель был меньше на 34–37%. Тенденция уменьшения соматических клеток в молоке после размораживания отмечается и в исследованиях зарубежных ученых [34].

Анализ технологических параметров выработки полутвердых сыров показал отсутствие значимого влияния процесса замораживания козьего молока на его технологические свойства. Продолжительность образования сгустка в обоих вариантах составляла (30±1) мин, время обработки сырного зерна — (90±2) мин. Уровень синерезиса (количество сыворотки, выделившейся из сгустка при центрифугировании) составил в контроле 55±2%, в опытных вариантах — 55±6% и находился в пределах погрешности метода. Не было выявлено значимых различий и в степени перехода сухих веществ в сыворотку: в контроле он составил 7,26±0,21%, в опыте — 7,21±0,32%.

Одним из критериев оценки процесса выработки сыра является уровень молочнокислого брожения во время обработки сырного зерна и на этапе начального созревания сыра, оцениваемый по приросту заквасочных молочнокислых микроорганизмов (показатель КМАФАнМ) (Таблица 2).

Данные, приведенные в Таблице 2, показывают, что количество заквасочных микроорганизмов, внесенных в смесь для выработки сыра, в обоих вариантах находилось на высоком уровне, несколько превышая средние значения для данной группы сыров, что предполагает активный молочнокислый процесс во время выработки. Это привело к значительному количеству микрофлоры в сыре после прессования. В процессе созревания максимум микрофлоры был обнаружен к 15 суткам. Затем начинается процесс закономерного снижения количества МАФАнМ. Скорости процессов развития и вымирания микрофлоры не отличаются друг от друга по вариантам. Это согласуется со значениями активной кислотности в сыре после пресса (Таблица 3).

Как следует из Таблицы 3, активная кислотность (pH) и массовая доля влаги в сырах по вариантам значимо не отличались друг от друга. Массовая доля жира в сухом веществе в контрольных и опытных сырах находилась в диапазоне от 53,1% до 54,3%, а массовая доля соли — от 1,2% до 1,3%.

Органолептическая оценка вкуса и запаха сыров из козьего молока в процессе созревания показала, что в возрасте 20–30 сут вкус сыров обоих вариантов был умеренно выраженным сырным с наличием сливочных и ореховых оттенков. Консистенция контрольных и опытных сыров в этом возрасте была эластично-пластичной.

Дальнейшие наблюдения за сырами в процессе созревания (Рисунок 1) показали, что вкус сыров обоих вариантов уже к 60 сут созревания был выраженным сырным, и степень его выраженности сохранилась до 120 суток.

Дополнительными показателями, характеризующими вкус контрольных сыров в 60 сут, были характеристики «острый» и «пикантный». Интенсивность «прогорклой» и «козьей» ноты в контрольных сырах в 60 суток была слабо заметной, но при дальнейшем хранении сыров усилилась до умеренных и сильных оттенков к 120 суткам.

В опытных сырах в возрасте 60 сут во вкусе присутствовали умеренная «сливочность» и слабая «острота». К 120 суткам эти оттенки трансформировались в выражен-

ную пикантность с наличием умеренной острой ноты. Интенсивность «прогорклой» ноты в опытных сырах в 60 суток отсутствовала, в 120 суток она ощущалась, но слабо.

Существенных различий в консистенции сыров по вариантам не было отмечено (Рисунок 1). В возрасте 120 сут консистенция сыров обоих вариантов приобрела умеренную плотность и небольшую ломкость в связи с потерей влаги, т.к. сыры созревали в латексном покрытии.

Результаты биохимических изменений молочного белка (степень протеолиза) и жира (кислотность жировой фазы) приведены на Рисунках 2, 3.

По степени протеолиза (Рисунок 2) достоверных различий между контрольными и опытными сырами не установлено ($P < 0,05$). При этом уровень протеолиза к окончанию созревания был достаточно высокий и составил $40,0 \pm 0,3\%$, что согласуется с результатами зарубежных исследователей по протеолизу сыров из козьего молока [35].

Значения кислотности жировой фазы (Рисунок 3) в сырах из натурального молока были выше в сравнении с сырами из дефростированного молока в среднем на 15% на протяжении всего периода наблюдений. Темпы изменения кислотности жировой фазы были идентичны по вариантам опыта. При этом содержание доступного жира в сырах обоих вариантов было сопоставимо: $94,44 \pm 0,76\%$ в контроле и $94,55 \pm 1,68\%$ в опыте.

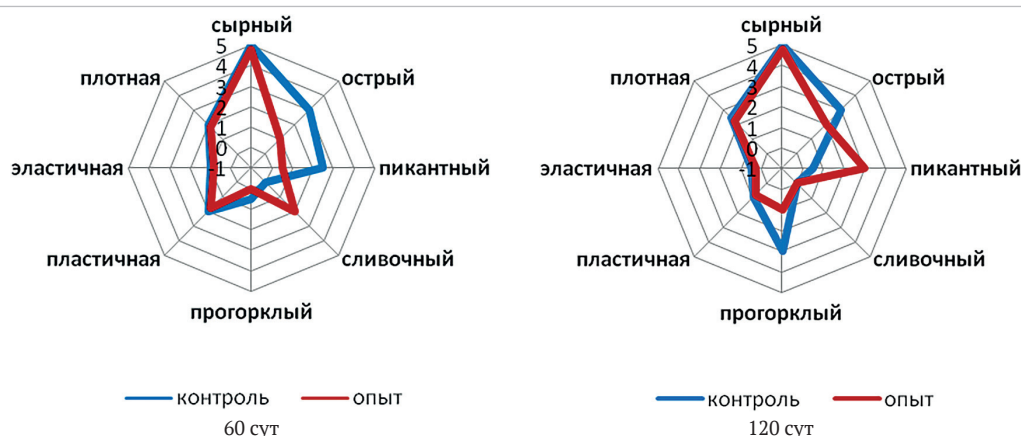


Рисунок 1. Дескрипторные профилограммы вкуса и консистенции сыров в возрасте 60 и 120 суток
Figure 1. Descriptive profilograms of taste and texture of cheeses at the age of 60 and 120 days

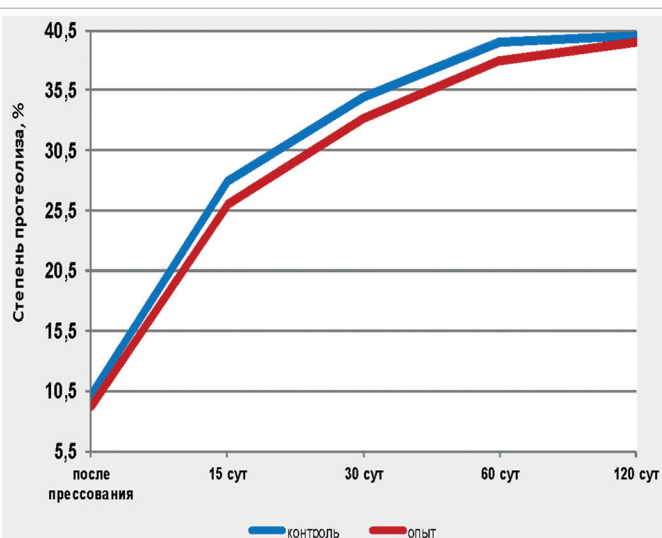


Рисунок 2. Динамика степени протеолиза сыров при созревании

Figure 2. Dynamics of the degree of proteolysis of cheeses during maturation

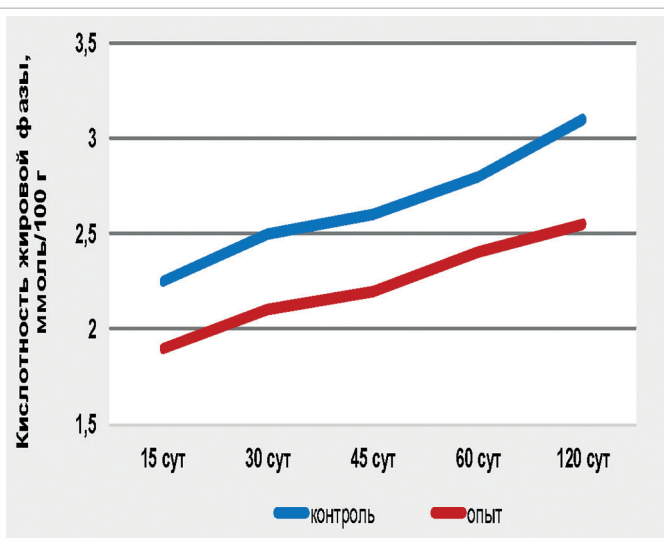
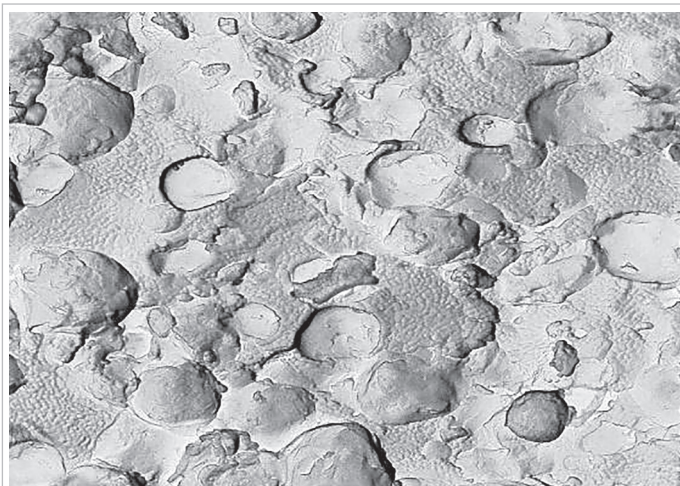
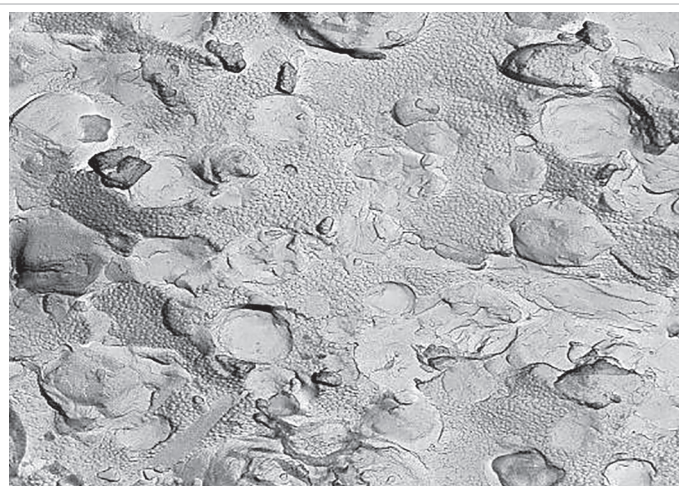


Рисунок 3. Динамика кислотности жировой фазы сыров при созревании

Figure 3. Dynamics of acidity of the fatty phase of cheeses during maturation



А



Б

Рисунок 4. Электронные фотографии зрелого полутвердого сыра из козьего молока
А) натурального, Б) дефростированного

Figure 4. Electronic photographs of ripened semi-hard goat cheese A) natural, B) defrosted

Измеренная кислотность жировой фазы в сырах из козьего молока в среднем в 2 раза выше, чем в полутвердых и твердых сырах из коровьего молока такого же возраста [36]. Установленная более высокая кислотность жировой фазы сырной массы в сырах из натурального молока согласуется с более выраженной «прогорклостью» во вкусе сыров этого варианта.

Не было отмечено принципиальных различий в микроструктуре сыров: размеры жировых глобул и казеиновых частиц не имели принципиальных различий (Рисунок 4).

Во вкусо-ароматическом спектре контрольных и опытных сыров присутствовали идентичные соединения: спирты (метанол), альдегиды (этаналь, гексаналь, гептаналь, бутаналь-2), кетоны (бутанон-2, гептанон-2) и масляная кислота. По общему содержанию вкусо-ароматических веществ ($1,14 \pm 0,41$ нА-с) различий между контрольными и опытными сырами не установлено.

4. Выводы

Проведенные исследования показали, что использованные в условиях эксперимента режимы замораживания и дефростации козьего молока не оказали существенного влияния на его физико-химические показатели, на уровень бактериальной обсемененности и технологические свойства. Полутвердый сыр, выработанный из дефростированного козьего молока, по органолептическим характеристикам существенно не отличался от сыра из натурального козьего молока.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что замораживание и непродолжительное хранение козьего молока может являться способом, позволяющим продлить сроки его хранения перед переработкой на сыр. Для окончательного подтверждения полученных результатов необходимо проведение дополнительных исследований.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Мордвина, В. А., Остроухова, И. Л., Остроухов, Д. В. (2017). Технологические особенности изготовления сыров из козьего молока. *Сыростроение и маслоделие*, 5, 16–18.
- Freeze IT, category Dairy. (2022). Can You Freeze Goat's Milk? Электронный ресурс: <https://www.freezeit.co.uk/can-you-freeze-goats-milk/#How-to-Freeze-Goats-Milk> Дата доступа 20.01.2023
- Tribst, A. A. L., Falcade, L. T. P., de Oliveira, M. M. (2018). Strategies for raw sheep milk storage in smallholdings: Effect of freezing or long-term refrigerated storage on microbial growth. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4960–4971. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15715>
- Wendorff, W. L. (2001). Freezing qualities of raw ovine milk for further processing. *Journal of Dairy Sciences*, 84(Suppl), E74–E78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70200-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70200-7)
- Nurliyani, Suranindyah, Y., Pretiwi, P. (2015). Quality and emulsion stability of milk from ettawah crossed bred goat during frozen storage. *Procedia Food Science*, 3, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.015>
- Lima, L. R. do N., Negreiros, I. F. L., da Silva, E. F., Ramos, L. de S. N. (2021). Physicochemical characteristics of goat's milk submitted to different freezing periods. *Research, Society and Development*, 10(4), Article e23710414089. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14089>
- Yu, Z., Qiao, C., Zhang, X., Yan, L., Li, L., Liu, Y. (2022). Screening of frozen-thawed conditions for keeping nutritive compositions and physicochemical characteristics of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4108–4118. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19238>
- Hassan, Z., Hamzawi, L., el Naga, M. A. (2010). Effect of frozen storage on the microbiological and technological properties of buffalo's milk. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 1(12), 765–779. <https://doi.org/10.21608/jfds.2010.82516>
- Пат. № 2272415. Способ консервирования кобыльего молока холодом / Абрамов, А. Ф., Павлова, А. И. Оpubл. 27.03.2006.
- Степанов, К. М. (2010). Оленье молоко — биологически ценный продукт. *Молочная промышленность*, 2, 79–80.
- Кручинин, А. Г., Туровская, С. Н., Илларионова, Е. Е., Бигаева, А. В. (2020). К вопросу влияния замораживания на технологические свойства молока. *Вестник Международной академии холода*, 3, 58–63. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-3-58-63>
- Prayitno, E., Hartanto, R., Harjanti, D. W. (2021). Physicochemical and microbiological appearance of sapera goat's milk on frozen storage. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(4), 308–314. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.4.308-314>
- Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., Kondyli, E. (2002). Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chemistry*, 77(4), 413–420. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00367-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00367-3)
- Zhang, R. H., Mustafa, A. F., Ng-Kwai-Hang, K. F., Zhao, X. (2006). Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese. *Small Ruminant Research*, 64(3), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.04.025>
- de la Fuente, M. A., Requena, T., Juárez, M. (1997). Salt balance in ewe's and goat's milk during storage at chilling and freezing temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(1), 82–88. <https://doi.org/10.1021/jf960388a>
- Töpel, A. (2007). Chemistry and physics of milk: natural product, raw materials, food products. Behr, Germany, 2007. (In German)
- Truong, T., Palmer, M., Bansal, N., Bhandari, B. (2016). An Overview of Milk Fat Globules. Chapter in a book: Effect of Milk Fat Globule Size on the Physical Functionality of Dairy Products. Springer Cham, 2016. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23877-7_2
- Muir, D. D. (1984). Reviews of the progress of dairy science: Frozen concentrated milk. *Journal Dairy Research*, 51, 649–664. <https://doi.org/10.1017/S0022029900032982>
- Herrera, M. L., Hartel, R. W. (2012). Effect of processing conditions on physical properties of a milk fat model system: Microstructure. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(11), 1197–1205. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0186-2>

20. Jonkman, M. J., Walstra, P., van Boekel, M. A. J. S., Cebula, D. J. (1999). Behaviour of casein micelles at conditions comparable to those in ice cream. *International Dairy Journal*, 9(3–6), 201–205. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00061-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00061-8)
21. Flores, A. A., Goff, H. D. (1999). Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *Journal of Dairy Science*, 82(7), 1399–1407. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75366-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75366-X)
22. Van Den Berg, L. (1961). Changes in pH of milk during freezing and frozen storage. *Journal of Dairy Science*, 44(1), 26–31. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)89694-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89694-X)
23. Alinovi, M., Mukchetti, D., Viking, L., Korredig, M. (2020). Freezing as a solution to preserve the quality of dairy products: the case of milk, curds and cheese. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 3340–3360. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798348>
24. Буянова, И. В., Лупинская, С. М., Лобачева, Е. М. (2018). Технологические аспекты холодильного хранения белковых молочных продуктов. *Техника и технология пищевых производств*, 48(4), 5–11. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-5-11>
25. Nguyen, D. D., Solah, V. A. (2020). Effects of frozen storage on the physical properties and sensory acceptability of goat's milk yoghurt. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 3(1), 487–494. <https://doi.org/10.31817/vjas.2020.3.1.01>
26. Sarica, E., Coşkun, H. (2021). Effect of frozen storage on some characteristics of kefir samples made from cow's and goat's milk. *Food Science and Technology International*, 28(2), 127–168. <https://doi.org/10.1177/10820132211003710>
27. Park, Y. W., Gerard, P. D., Drake, M. A. (2006). Impact of frozen storage on flavor of caprine milk cheeses. *Journal of Sensory Studies*, 21(6), 654–663. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2006.00089.x>
28. Tejada, L., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Fernández-Salguero, J. (2002). Effect of freezing and frozen storage on chemical and microbiological characteristics in sheep milk cheese. *Journal Food Science*, 67, 126–129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11371.x>
29. МакКен, Б. М. (2008). Структура и текстура пищевых продуктов. Продукты эмульсионной природы. СПб.: Профессия, 2008.
30. McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett, D. W. (2017). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. CA: Academic Press, 2017.
31. Fontecha, J., Kaláb, M., Medina, J. A., Peláez, C., Juárez, M. (1996). Effects of freezing and frozen storage on the microstructure and texture of ewe's milk cheese. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 203(3), 245–251. <https://doi.org/10.1007/BF01192872>
32. Кучеренко, С. В., Захарова, Н. П., Лепилкина, О. В., Соколова, Н. Ю. (2002). Замораживание, хранение и дефростация сычужных сыров. *Сыростроение и маслоделие*, 6, 31–32.
33. Буянов, О. Н., Буянова, И. В. (2003). Характеристика консистенции замороженных крупных сыров. *Вестник международной академии холода*, 4, 24–27.
34. Reed Jr., R. B., Reyes, A. L., Bradshaw, J. G. (1969). The effect of freezing milk samples on abnormal milk analysis results. *Journal of Dairy Sciences*, 52(2), 261–262. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(69\)86541-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86541-0)
35. Park, Y. W. (2001). Proteolysis and lipolysis of goat milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 84(Suppl), 84–92. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70202-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70202-0)
36. Мордвинава, В. А., Топникова, Е. В., Данилова, Е. С., Остроухова, И. Л. (2022). Влияние изменений жировой фазы на особенности формирования показателей качества полутвердых и твердых сыров. *Пищевые системы*, 5(4), 361–368. <https://doi.org/10.2123/2618-9771-2022-5-4-361-368>

REFERENCES

1. Mordvinova, V. A., Ostroukhova, I. L., Ostroukhov, D. V. (2017). Technological special features of making cheese from goat milk. *Cheesemaking and Buttermaking*, 5, 16–19. (In Russian)
2. Freeze IT, category Dairy. (2022). Can You Freeze Goat's Milk? Retrieved from <https://www.freezeit.co.uk/can-you-freeze-goats-milk/#How-to-Freeze-Goats-Milk> Дата доступа 20.01.2023 Accessed January 20, 2023
3. Tribst, A. A. L., Falcade, L. T. P., de Oliveira, M. M. (2018). Strategies for raw sheep milk storage in smallholdings: Effect of freezing or long-term refrigerated storage on microbial growth. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4960–4971. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15715>
4. Wendorff, W. L. (2001). Freezing qualities of raw ovine milk for further processing. *Journal of Dairy Sciences*, 84(Suppl), E74–E78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70200-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70200-7)
5. Nurliyani, Suranindiyah, Y., Pretiwi, P. (2015). Quality and emulsion stability of milk from etawah crossed bred goat during frozen storage. *Procedia Food Science*, 3, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.015>
6. Lima, L. R. do N., Negreiros, I. F. L., da Silva, E. F., Ramos, L. de S. N. (2021). Physicochemical characteristics of goat's milk submitted to different freezing periods. *Research, Society and Development*, 10(4), Article e23710414089. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14089>
7. Yu, Z., Qiao, C., Zhang, X., Yan, L., Li, L., Liu, Y. (2022). Screening of frozen-thawed conditions for keeping nutritive compositions and physicochemical characteristics of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4108–4118. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19238>
8. Hassan, Z., Hamzawi, L., el Naga, M. A. (2010). Effect of frozen storage on the microbiological and technological properties of buffalo's milk. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 1(12), 765–779. <https://doi.org/10.21608/jfds.2010.82516>
9. Abramov A. F., Pavlova A. I. Method of preserving mare's milk by cold. Patent RF, no.2272415, 2006. (In Russian)
10. Stepanov, K. M. (2010). Reindeer milk — biological valuable product. *Dairy Industry*, 2, 79–80. (In Russian)
11. Kruchinin, A. G., Turovskaya, S. N., Illarionova, E. E., Bigaeva, A. V. (2020). The effect of freezing on the technological properties of milk. *Journal of International Academy of Refrigeration*, 3, 58–63. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-3-58-63> (In Russian)
12. Prayitno, E., Hartanto, R., Harjanti, D. W. (2021). Physicochemical and microbiological appearance of sapera goat's milk on frozen storage. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(4), 308–314. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.4.308-314>
13. Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., Kondyli, E. (2002). Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chemistry*, 77(4), 413–420. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00367-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00367-3)
14. Zhang, R. H., Mustafa, A. F., Ng-Kwai-Hang, K. F., Zhao, X. (2006). Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese. *Small Ruminant Research*, 64(3), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.04.025>
15. de la Fuente, M. A., Requena, T., Juárez, M. (1997). Salt balance in ewe's and goat's milk during storage at chilling and freezing temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(1), 82–88. <https://doi.org/10.1021/jf960388a>
16. Töpel, A. (2007). Chemistry and physics of milk: natural product, raw materials, food products. Behr, Germany, 2007. (In German)
17. Truong, T., Palmer, M., Bansal, N., Bhandari, B. (2016). An Overview of Milk Fat Globules. Chapter in a book: Effect of Milk Fat Globule Size on the Physical Functionality of Dairy Products. Springer Cham, 2016. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23877-7_2
18. Muir, D. D. (1984). Reviews of the progress of dairy science: Frozen concentrated milk. *Journal Dairy Research*, 51, 649–664. <https://doi.org/10.1017/S0022029900032982>
19. Herrera, M. L., Hartel, R. W. (2012). Effect of processing conditions on physical properties of a milk fat model system: Microstructure. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(11), 1197–1205. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0186-2>
20. Jonkman, M. J., Walstra, P., van Boekel, M. A. J. S., Cebula, D. J. (1999). Behaviour of casein micelles at conditions comparable to those in ice cream. *International Dairy Journal*, 9(3–6), 201–205. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00061-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00061-8)
21. Flores, A. A., Goff, H. D. (1999). Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *Journal of Dairy Science*, 82(7), 1399–1407. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75366-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75366-X)
22. Van Den Berg, L. (1961). Changes in pH of milk during freezing and frozen storage. *Journal of Dairy Science*, 44(1), 26–31. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)89694-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89694-X)
23. Alinovi, M., Mukchetti, D., Viking, L., Korredig, M. (2020). Freezing as a solution to preserve the quality of dairy products: the case of milk, curds and cheese. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 3340–3360. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798348>
24. Buyanova, I. V., Lupinskaya, S. M., Lobacheva, E. M. (2018). Technological aspects of cold storage of protein dairy products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 48(4), 5–11. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-5-11> (In Russian)
25. Nguyen, D. D., Solah, V. A. (2020). Effects of frozen storage on the physical properties and sensory acceptability of goat's milk yoghurt. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 3(1), 487–494. <https://doi.org/10.31817/vjas.2020.3.1.01>
26. Sarica, E., Coşkun, H. (2021). Effect of frozen storage on some characteristics of kefir samples made from cow's and goat's milk. *Food Science and Technology International*, 28(2), 127–168. <https://doi.org/10.1177/10820132211003710>
27. Park, Y. W., Gerard, P. D., Drake, M. A. (2006). Impact of frozen storage on flavor of caprine milk cheeses. *Journal of Sensory Studies*, 21(6), 654–663. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2006.00089.x>
28. Tejada, L., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Fernández-Salguero, J. (2002). Effect of freezing and frozen storage on chemical and microbiological characteristics in sheep milk cheese. *Journal Food Science*, 67, 126–129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11371.x>
29. McCann, B. M. (2008). Structure and texture of food products. Products of an emulsion nature. St. Petersburg: Profession, 2008. (In Russian)
30. McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett, D. W. (2017). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. CA: Academic Press, 2017.
31. Fontecha, J., Kaláb, M., Medina, J. A., Peláez, C., Juárez, M. (1996). Effects of freezing and frozen storage on the microstructure and texture of ewe's milk cheese. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 203(3), 245–251. <https://doi.org/10.1007/BF01192872>
32. Kucherenko, S. V., Zakharova, N. P., Lepilkina, O. V., Sokolova, N. Yu. (2002). Freezing, storage and defrosting of rennet cheeses. *Cheesemaking and Buttermaking*, 6, 31–32. (In Russian)

33. Buyanov, O. N., Buyanova, I. V. (2003). Characteristics of the consistency of frozen large cheeses. *Journal of International Academy of Refrigeration*, 4, 24–27. (In Russian)
34. Reed Jr., R. B., Reyes, A. L., Bradshaw, J. G. (1969). The effect of freezing milk samples on abnormal milk analysis results. *Journal of Dairy Sciences*, 52(2), 261–262. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(69\)86541-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86541-0)
35. Park, Y. W. (2001). Proteolysis and lipolysis of goat milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 84(Suppl), 84–92. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70202-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70202-0)
36. 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>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Мордвинава Валентина Александровна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслосамоделения и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7–915–970–36–38 E-mail: v.mordvinova@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8588-7103	Valentina A. Mordvinova, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of Cheese Making Department, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7–915–970–36–38 E-mail: v.mordvinova@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8588-7103
Свириденко Галина Михайловна — доктор технических наук, главный научный сотрудник, руководитель отдела микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслосамоделения и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7–903–823–56–88 E-mail: g.sviridenko@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9586-3786	Galina M. Sviridenko, Doctor of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of Research Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Krasnoarmeysky Boulevard, 19 Tel.: +7–915–970–36–38 E-mail: g.sviridenko@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9586-3786
Остроухова Ирина Леонидовна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, отдел сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслосамоделения и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7–910–972–91–22 E-mail: i.ostroukhova@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8578-4163 * автор для контактов	Irina L. Ostroukhova, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Department of Cheese Making, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7–910–972–91–22 E-mail: i.ostroukhova@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8578-4163 * corresponding author
Остроухов Дмитрий Вячеславович — научный сотрудник, отдел сыроделия, 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7–999–797–41–43 E-mail: d.ostroukhov@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7131-7887	Dmitry V. Ostroukhov, Researcher, Department of Cheese Making, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7–999–797–41–43 E-mail: d.ostroukhov@fnscps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7131-7887
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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-80-94>

Поступила 11.01.2023

Поступила после рецензирования 09.02.2023

Принята в печать 16.02.2023

© Бурак Л. Ч., Сапач А. Н., 2023

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

Обзорная статья

Open access

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА БУЗИНЫ: СВОЙСТВА, МЕТОДЫ ИЗВЛЕЧЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ

Бурак Л. Ч.*, Сапач А. Н.

Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛРОСАКВА», Минск, Республика Беларусь

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

бузина черная, *Sambucus nigra* L., антиоксидантная активность, антоцианы, полифенолы, биологически активные соединения, экстракция, микрокапсулирование, нанокапсулирование

АННОТАЦИЯ

Антоцианы и полифенолы являются основными биологически активными веществами, содержащимися в ягодах бузины. Методы экстракции оказывают существенное влияние на эффективность извлечения, биодоступность и сохранение биологически активных соединений. Цель данной работы — обзор опубликованных результатов научных исследований бузины и продуктов ее переработки, их воздействия на организм, а также рассмотрение методов извлечения и инкапсуляции биологически активных соединений бузины. В обзор включены статьи на английском и русском языках. Поиск зарубежной научной литературы на английском языке по данной теме проводили в библиографических базах Google Scholar, Scopus, Web of Science, Elsevier, ResearchGate. Для отбора научных статей на русском языке провели поиск по ключевым словам в «Научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU». Обзор научных публикаций показал, что результаты многочисленных исследований подтверждают высокую антиоксидантную активность бузины (*Sambucus nigra* L.), а также дикой бузины (*Sambucus ebulus*), произрастающей на территории Республики Беларусь, а также в других странах Европы, Азии, Северной Африки и Северной Америки. Благодаря наличию в химическом составе бузины (*Sambucus nigra* L.) биоактивных флавоноидов, таких как кверцетин, кемпферол и рутин, а также за счет присутствия других фенольных соединений, это растение используется в традиционной медицине и применяется в качестве сырья в пищевой промышленности для создания продуктов профилактического и функционального назначения. Биоактивные соединения бузины обладают некоторыми уникальными биологическими и фармакологическими свойствами, включая антиоксидантную, противоопухолевую, антидепрессивную, антидиабетическую, противовирусную и антибактериальную активность. Для извлечения биоактивных веществ из ягод бузины используются традиционные методы экстракции, такие как мацерация и экстракция Сокслета, а также современные перспективные «зеленые» технологии: сверхкритические флюиды, импульсное электрическое поле, экстракция жидкой эмульсии, микроволновая и ультразвуковая экстракция. Для сохранения и защиты биологически активных веществ, содержащихся в плодах бузины, применяются методы инкапсуляции, являющиеся наиболее эффективными. Материалы данной статьи могут быть использованы при проведении дальнейших исследований по оптимизации процессов экстракции с целью повышения пищевой ценности и антиоксидантной активности новых функциональных продуктов питания, пищевых добавок, а также продуктов фармацевтической промышленности.

Received 11.01.2023

Accepted in revised 09.02.2023

Accepted for publication 16.02.2023

© Burak L. Ch., Sapach A. N., 2023

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

Review article

Open access

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF ELDER: PROPERTIES, METHODS OF EXTRACTION AND PRESERVATION

Leonid Ch. Burak*, Alexander N. Sapach

BELROSAKVA Limited Liability Company, Minsk, Republic of Belarus

KEY WORDS:

elderberry, *Sambucus nigra* L., antioxidant activity, anthocyanins, polyphenols, biologically active compounds, extraction, microencapsulation, nanoencapsulation

ABSTRACT

Anthocyanins and polyphenols are the main biologically active substances in elderberry. Extraction methods exert a significant effect on the extraction effectiveness, bioavailability and preservation of biologically active compounds. The aim of this work was a review of the published results of scientific studies of elderberry and products of its processing, their effect on the body, as well as examination of methods for extraction and encapsulation of biologically active substances of elderberry. The review includes papers in English and Russian. A search for foreign literature in English on this theme was carried out in the bibliographic databases Google Scholar, Scopus, Web of Science, Elsevier, ResearchGate. To select scientific papers in Russian, a search was done in the scientific electronic library eLIBRARY.RU by keywords. The review of the scientific publications shows that the results of numerous studies confirm the high antioxidant activity of elderberry (*Sambucus nigra* L.), as well as wild elderberry (*Sambucus ebulus*), growing on the territory of the Belarus Republic and in other countries of Europe, Asia, North Africa and North America. This plant is applied in the traditional medicine and is used in the food industry as raw materials for creation of prophylactic and functional products due to the presence in the chemical composition of elderberry (*Sambucus nigra* L.) of bioactive flavonoids such as quercetin, kempferol and rutin, and other phenolic compounds. Bioactive compounds of elderberry possess several unique biological and pharmacological properties including the antioxidant, anti-tumor, anti-depressive, anti-diabetic, antiviral

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Бурак, Л. Ч., Сапач, А. Н. (2023). Биологически активные вещества бузины: свойства, методы извлечения и сохранения. *Пищевые системы*, 6(1), 80-94. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-80-94>

Burak, L. Ch., Sapach, A. N. (2023). Biologically active substances of elder: Properties, methods of extraction and preservation. *Food Systems*, 6(1), 80-94. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-80-94>

and antibacterial activities. To extract bioactive substances from elderberry, traditional extraction methods are used, such as maceration and Soxhlet extraction, as well as modern promising “green” technologies (for example, supercritical fluids, pulsed electric field, emulsion liquid extraction, microwave-assisted and ultrasound-assisted extraction). To preserve and protect biologically active substances in elderberry, encapsulation methods that are most effective are employed. The materials of this paper can be used in future studies on optimization of extraction processes to increase the nutritional value and antioxidant activity of new functional foods, food additives and products of pharmaceutical industry.

1. Введение

Бузина черная (*Sambucus nigra* L.) принадлежит к семейству *Adoxaceae*, которое довольно широко распространено в умеренных регионах Европы и других континентах северного полушария.

Кустарники бузины произрастают в дикой природе, и это растение имеет множество разных сортов. Наиболее популярными считаются «Сампо», «Самил», «Алесо», «Корсор» и «Хашберг». Вид *Sambucus nigra* L. известна как «европейская бузина», «европейская черная бузина», «черная бузина», «бузина». Эта культура предполагает минимальные требования к условиям выращивания. Благодаря неприхотливости *Sambucus nigra* L., а также ввиду ее химического состава ягод и высокой доступности растений в дикой флоре, в последние десятилетия возрос интерес к употреблению бузины [1,2].

Ягоды бузины черной известны как сырье с высоким содержанием биологически активных химических веществ, которые обладают антидиабетическим и противовирусным действием, а также мочегонными свойствами и профилактикой атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и рака [3].

Согласно исследованиям Młynarczyk, Walkowiak-Tomczak и Łysiak [4], установлено, что биологически активные соединения бузины обладают многими биологическими и фармакологическими свойствами, включая антиоксидантную, противоопухолевую, антидепрессивную, антидиабетическую, противовирусную и антибактериальную активность. Из ягод бузины в основном изготавливаются экстракты и соки, которые могут использоваться в производстве безалкогольных и алкогольных напитков, кондитерских изделий и красителей. Бузина содержит полифенолы, такие как цианидин-3-самбубиозид-5-глюкозид, цианидин-3,5-диглюкозид, цианидин-3-самбубиозид, цианидин-3-глюкозид и цианидин-3-рутинозид [4,5,6]. И плоды, и цветки бузины содержат полифенольные соединения. Белые или кремово-белые цветки не имеют в своем составе антоцианов, но в них много фенольных кислот, которые включают производные кверцетина, изорамнетина и кемпферола, а также нарингенин, эпикатехин и катехин.

Альфа-токоферол (витамин Е) и гамма-токоферол содержатся в большом количестве в муке из семян *Sambucus nigra* L., тогда как аскорбиновая кислота (от 6 до 25 мг/100 г) присутствует в ягодах бузины. Магний, натрий, кальций, фосфор и калий, а также различные микроэлементы, включая марганец, медь, железо и цинк, в изобилии содержатся в ягодах и цветках бузины. Установлено, что в некоторых регионах выращивания *Sambucus nigra* L. содержит тяжелые металлы, такие как свинец и кадмий [4,5]. Проводимые ранее нами исследования бузины садовой и дикой, произрастающей на территории Республики Беларусь, подтвердили безопасность ягод бузины [6,7]. Считается, что полифенолы предотвращают многие болезни, в том числе сердечно-сосудистые заболевания и рак, а микро- и макроэлементы необходимы для сбалансированного питания [8]. Содержание в ягодах и цветках бузины большого количества биологически активных веществ и антоциановых красителей вызывает повышенное

внимание к бузине как потребителей, так и специалистов пищевой промышленности [5,6].

Эффективное извлечение из растений биологически активных соединений зависит от методов экстракции и очистки. Наиболее приемлемый метод биологической экстракции должен соответствовать следующим критериям: безопасность, экологичность, эффективность и экономичность. Экстракция биологически активных соединений также является важным этапом выделения и фракционирования этих веществ. Метод экстракции существенно влияет на качество и количество биологически активных компонентов бузины [9]. Для выделения биологически активных соединений растительного происхождения, и из бузины в том числе, использовались методы экстракции и очистки, начиная от конвекционных (мацерация и экстракция растворителем) и заканчивая современными способами (обработка ультразвуком, экстракция эмульсионной жидкостью, сверхкритические жидкости, микроволновой) [10]. Качество и безопасность экстрагированных биологически активных соединений можно максимально обеспечить с помощью методов инкапсуляции. Методы инкапсуляции защищают ключевые биологически активные мишени, такие как микроэлементы, и в то же время обеспечивают регулируемое высвобождение в желудочно-кишечном тракте [11]. Для защиты летучих соединений и других биологически активных веществ бузины от окисления и разложения используются различные методы инкапсуляции, от конвекционных, таких как распылительная сушка и лиофилизация, до дополнительных современных методов (эмульсионные системы, липосомы, коацервация и сверхкритические жидкости) [12]. Таким образом, целью обзорной статьи является анализ научных исследований бузины и продуктов ее переработки, методов извлечения, сохранения и защиты биологически активных веществ, содержащихся в ее плодах, а также выработка рекомендаций для проведения дальнейших исследований и направлений применения.

2. Объекты и методы

Материалами для исследования послужили научные и аналитические данные зарубежных и отечественных источников информации (Scopus и Web of Science, Elsevier, ResearchGate). В качестве методов исследования применялись мониторинг и анализ источников информации, а также их систематизация и обобщение для подведения итогов исследовательской работы. Также был выполнен обзор научных журналов по тематике исследования. При отборе публикаций для обзора приоритет отдавали высокоцитируемым источникам. Были просмотрены списки литературы отобранных статей для выявления дополнительных релевантных источников информации. В качестве временных рамок для обзора научных публикаций был принят период 2010–2021 гг. Более ранние научные статьи изучали только при отсутствии новых публикаций по конкретным аспектам исследуемой темы.

3. Биологически активные соединения бузины

Химический состав плодов *Sambucus nigra* L. может сильно различаться в зависимости от сорта, климатических условий, места произрастания и стадии созревания.

Антоцианы и полифенолы являются основными биоактивными химическими веществами, содержащимися в ягодах бузины. Обзор научных исследований химического состава плодов *Sambucus nigra* L. и содержания в них основных полифенольных соединений подробно рассмотрен в недавно опубликованной обзорной научной статье [6]. По сравнению с другими фруктами, бузина имеет высокую концентрацию полифенолов. Наиболее часто в составе ягод бузины встречаются кверцетин-3-рутинозид (рутин), кверцетин, кверцетин-3-глюкозид (изокверцитрин), неохлорогеновая кислота, криптохлорогеновая кислота, хлорогеновая кислота, кемпферол-3-рутинозид, изорамнетин-3-глюкозид (астрагалин) и изорамнетин-3-глюкозид. В плодах *Sambucus nigra* L. преобладает рутин, в меньшем количестве содержатся другие астрагалины, флавонолы и изокверцитрин. Антоцианы, ацилгликозиды антоцианидинов или водорастворимые гликозиды, представляющие собой оксигенированные производные солей флавилия, являются фенольными веществами. Это хорошо известные пищевые красители, которые уменьшают окислительный стресс, удаляя свободные радикалы, что делает их возможными для применения в качестве профилактических средств [13, 14]. На разных фазах созревания ягод концентрация полифенолов колеблется, и каждый компонент имеет свой характер изменения. В процессе созревания в ягодах повышается концентрация антоцианов, особенно цианидин-3-глюкозида, цианидин-3-самбубиозид-5-глюкозида и цианидин-3-самбубиозид-5-глюкозида. Бузина является актуальной темой для научных исследований из-за содержания в этой культуре биологически активных соединений, оказывающих оздоровительный эффект на организм человека, поэтому она была выбрана нами в качестве объекта данного исследования [15].

Следует отметить, что ягоды бузины содержат цианогенные гликозиды, которые являются токсичными биологически активными соединениями из растений, полученными из аминокислот. Наиболее распространенными из них являются самбунигрин (0,08–0,77 мкг/г FW) и пруназин. Было установлено, что высота, на которой растут плоды, может влиять на содержание в них самбунигрина, поскольку низкая температура и высокий уровень солнечной радиации стимулируют биосинтез этого соединения. Кроме того, незрелые ягоды бузины содержат зирин и голокалин (м-гидроксизамещенные гликозиды), которые могут быть преобразованы в цианид путем гидролиза. Применение термической обработки способствует процессу разложения этих соединений [16]. Кроме того, для промышленной переработки необходимо использовать зрелые ягоды, в которых наличие данных соединений незначительно и которые полностью разлагаются в процессе переработки.

4. Антиоксидантная активность, антибактериальные и противовирусные свойства бузины

Биологическая активность, которую могут оказывать фенольные соединения, обладает антиоксидантными, иммуностимулирующими, противовоспалительными, противоаллергическими, противораковыми, антибактериальными и противовирусными свойствами [17]. Полезные свойства фенольных соединений могут снижаться, если они разлагаются после воздействия кислорода, света, ферментативной активности, неблагоприятных условий температуры и pH, ионов металлов и воды [18, 19].

Чрезмерное накопление в организме человека некоторых продуктов, полученных в результате реакций кислорода с азотом, может вызвать окислительный стресс, влияющий на ДНК, стенки кровеносных сосудов, белки и липиды.

В результате этих процессов могут появиться опасные заболевания, такие как нейродегенеративные (Альцгеймер и Паркинсон), сахарный диабет или преждевременное старение. На развитие клеток может влиять расщепление молекул ДНК, приводящее к образованию раковых клеток и к появлению сердечно-сосудистых заболеваний [20].

Окислительные реакции в организме человека могут быть уменьшены антиоксидантами, которые действуют как защитные агенты. Наличие фенольных соединений в растительных экстрактах придает им антиоксидантные и фармакологические свойства [21, 22]. Реакции окисления инициируются свободными радикалами, и флавоноиды могут взаимодействовать с ними, предотвращая возникновение окисления. Они также могут взаимодействовать с активными формами кислорода (АФК), которые образуются в ходе цепных реакций. В нормальных гомеостатических условиях АФК играют важную роль во многих физиологических процессах, обладая способностью регулировать ключевые клеточные функции, такие как пролиферация, дифференцировка и апоптоз, будучи также участвующими в защите от патогенов [23].

Бузина может модулировать концентрацию АФК в кишечном содержимом, а также в эпителиальных клетках кишечника за счет повышенного содержания биологически активных соединений с антиоксидантным потенциалом [24]. Многочисленные тесты на антирадикальную активность *in vitro* подтвердили антиоксидантную способность плодов *Sambucus nigra* L. [25]. Гидролиз и деградация антоцианов в тонкой и толстой кишке могут быть вызваны активностью микрофлоры в толстой кишке и их нестабильностью в щелочной среде [26]. Кроме того, они переходят от кислого pH (на уровне желудка) к практически нейтральному pH (на кишечном уровне) [26, 27]. Установлено, что в тонком кишечнике антиоксидантная активность экстракта бузины снижалась с $15,71 \pm 1,09$ мкМ Тролокса/мл/50 мг (в переваренном экстракте бузины, высушенном лиофилизацией) до $9,89 \pm 0,39$ мкМ Тролокса/мл. Снижение было связано с трансформацией основных полифенольных соединений, включая антоцианы, которые оказывают основную антиоксидантную активность. Поэтому полученные результаты показали, что при прохождении через желудочно-кишечный тракт экстракт бузины достигает компартментов тонкой кишки в измененной, но все же активной форме [28]. После имитации пищеварения в искусственной пищеварительной трубке (желудок, тонкая кишка и толстая кишка) наблюдалось снижение содержания цианидина-3-О-самбубиозид-5-глюкозида и цианидина-3-О-глюкозида на 88,4%. Были также соединения, более устойчивые к процессу кишечного пищеварения (цианидин-3,5-О-диглюкозид и цианидин-3-О-самбубиозид-5-О-глюкозид). В толстой кишке потеря антоцианов экстракта *Sambucus nigra* L. составила 44%. Небольшое количество производных пеларгонидина и неонидина присутствовало в переваренном экстракте бузины и отсутствовало в переваренном экстракте толстой кишки. Фенольные соединения (кроме антоцианов) были относительно стабильны в верхней части кишечника. Увеличение количества хиновой кислоты подтвердило гидролиз хлорогеновой кислоты. Дополнительно наблюдалась деградация танинов бузины, вероятно, из-за активности микрофлоры толстой кишки. Тем не менее было замечено, что переваренный толстой кишкой экстракт бузины содержал продукт распада рутина и изокверцетина, называемый кверцетин. Моделирование желудочно-кишечного пищеварения на уровне желудка и тонкой и толстой кишки показало потерю 80,5% от общего количества фенольных соединений, количественно определенных в экстракте бузины [28]. Переваренный экстракт

европейской бузины содержит достаточное количество антиоксидантов, чтобы оказывать положительное действие на клетки слизистой оболочки кишечника, защищая их от окислителей, вызывающих мутагенез, и от окислительного стресса ДНК и ограничивая гиперпродукцию внутриклеточной АФК. Использование ягод бузины в качестве функциональных пищевых компонентов может быть обусловлено негенотоксическим, нецитотоксическим и немутагенным воздействием, которое фруктовый экстракт оказывает на организм [24].

Установлена противовоспалительная эффективность экстракта бузины, где в качестве возбудителя использовалась бактерия *Escherichia coli* для стимуляции дендритных клеток, полученных из костного мозга [29]. Также было установлено, что антиоксидантная активность возрастает прямо пропорционально концентрации антоцианов в экстрактах бузины, но только до определенного уровня, поскольку выше этого уровня антиоксидантная активность начинает снижаться [30].

4.1. Антибактериальные свойства экстракта бузины

Антибактериальную активность экстрактов бузины многие авторы объясняют содержанием фенольных кислот и флавоноидов. Наибольшее влияние на антибактериальную активность оказывают соединения: кемпферол, апигенин, феруловая кислота, протокатехуиновая и кумаровая кислоты. Бактериями, которые наиболее чувствительны к экстракту фенольных соединений из бузины, являются *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas fragi* и *Escherichia coli*.

Проведенные исследования показали, что только отдельные танины, полученные из гидроксикоричной, галловой и кофейной кислот, и тритерпены (олеановая кислота; α - и β -амарин) считались антимикробными веществами. Установлено, что отдельные фенольные соединения и их сложные эфиры ингибируют рост бактерий следующих родов: *Yersinia*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Escherichia* и *Pseudomonas* [31–33]. Бактерии *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus* вызывают пищевое отравление. Их рост был ингибирован кофейной, феруловой и протокатеховой кислотами, которые содержат экстракт бузины. Рост *Yersinia enterocolitica* также ингибировался фенольными кислотами.

Ученые Hearst et al. [34] использовали водно-спиртовой экстракт, полученный из концентратов бузины, высушенных путем лиофилизации, для изучения антибактериального воздействия на 13 внутрибольничных патогенов, включая метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA). Большинство проанализированных бактерий были ингибированы экстрактом бузины, включая *Staphylococcus* sp или *Bacillus cereus* (грамположительный), *Salmonella poona* и *Pseudomonas aeruginosa* (грамотрицательный). Группа авторов Chatterjee et al. [35] установили, что бузина обладает 30% ингибирующей активностью в отношении *Helicobacter pylori*. Чтобы продемонстрировать антибактериальное действие экстракта бузины на бактерии, поражающие дыхательные пути, авторы Krawitz et al. [36] использовали 10% стандартизированный жидкий экстракт бузины для бактериальных культур. Результаты показали 70% ингибирование (по сравнению с контрольными образцами) развития бактериальных штаммов *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus Group C* и *G* (грамположительные бактерии) и *Branhamella catarrhalis* (грамотрицательные бактерии). Более того, процент ингибирования 99% был получен путем добавления экстракта бузины с концентрацией 20%.

4.2. Противовирусные свойства

Установлено, что соединения кемпферол 3-рутин, изорамнетин 3-рутин, изорамнетин 3-глюкозид и производные цианидина являются противовирусными химическими веществами [37]. Было изучено влияние экстракта бузины на вирус гриппа человека А (H1N1), применяемый для заражения клеток NBL-2 собачьей почки Мадина-Дарби (MDCK), и было обнаружено, что при использовании концентрации 252 мкг/мл 50% можно получить ингибирование (IC)₅₀. После применения концентрации 1000 мкг/мл получено стопроцентное ингибирование вирусной инфекции [38].

После добавления экстракта бузины вирионы H1N1 потеряли способность инфицировать клетки-хозяева, потому что фенольные соединения экстракта оказывали воздействие на вирионы. Полифенольными соединениями, связанными с вирионами H1N1, являются 5,7,3,4-тетра-О-метилкверцетин и 5,7-дигидрокси-4-оксо-2-(3,4,5-тригидроксифенил)-хроман-3-ил-3,4,5-тригидроксициклогексанкарбоксилат [39]. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали способность экстракта бузины ингибировать развитие вирусов гриппа А и В [40,41]. Более того, после некоторых экспериментов, проведенных *in vivo*, было установлено, что бузина стимулирует иммунный ответ и эффективно подавляет репликацию вируса [42].

Помимо фенольных соединений, в экстракте бузины содержатся лектины, которые также являются еще одним классом соединений, обычно встречающихся в растительных экстрактах. Они могут обладать противовирусной активностью, связываясь с рецепторами хозяина или с вирусными белками, предотвращая их взаимодействие [43]. Антоцианы, присутствующие в составе бузины, также способны проявлять противовирусную активность. Экстракты бузины также характеризуются высоким содержанием кверцетина, известного *in vitro* ингибитора бычьего коронавируса [44]. Экстракты бузины, полученные методом экстракции этанолом фруктовых соединений, ингибируют IBV (вирус птичьего инфекционного бронхита, гамма-коронавирус, поражающий дыхательные пути кур) на несколько порядков. Ингибирование вируса уменьшалось прямо пропорционально снижению концентрации экстракта бузины и увеличивалось с сокращением концентрации вируса. С целью ингибирования развития вируса перед заражением применялось лечение экстрактами из бузины. Однако этого воздействия было недостаточно для полного ингибирования вируса. Электронная микроскопия вирионов, обработанных экстрактами бузины, показала появление мембранных везикул и компрометацию вирусных оболочек. Полученные результаты свидетельствуют, что экстракт бузины может ингибировать IBV на ранней стадии инфекции [37]. Рецепторы клеток-хозяев, используемые IBV, были заблокированы лектинами бузины. Существует вероятность того, что лектины будут связываться непосредственно с вирусными белками, тем самым ингибируя инфекцию. Альфа-коронавирусные и бета-коронавирусные вирионы ингибировались прямым связыванием лектинов. С другой стороны, белки IBV, такие как спайковый белок, содержат несколько последовательностей, которые сигнализируют о добавлении N-связанных олигосахаридов [45]. Влияние экстракта *Sambucus nigra* L. на структуру вириона IBV может быть обусловлено либо веществом, которое еще не было обнаружено в нем, либо синергетическим эффектом соединений в экстракте. Более того, еще одним вариантом может стать наличие хелаторов холестерина. Установлена также эффективность снижения инфекционности других вирусов, действующих на вирусную мембрану [46]. Ингибирующая активность, обусловленная синергетическим действием веществ, была выявлена при

различных комбинациях воздействия экстрактом бузины. Когда предварительное лечение вируса сочеталось с постинфекционным лечением происходило полное ингибирование вируса [37].

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) относится к роду Лентивирус в семействе *Retroviridae*. Вирусное ингибирование экстрактом бузины анализировали с использованием экстракта, приготовленного в двух разных разведениях, которые инкубировали с вирусом перед добавлением в испытываемые клетки. Наблюдалось значительное снижение инфекционности вируса, и наличие вируса не было обнаружено после четырех и девяти дней инкубации. Другие исследования показали, что вирусная нагрузка у пациентов с ВИЧ может быть снижена комбинацией экстракта бузины и экстракта тимуса, но для подтверждения этому необходимо дальнейшее изучение. Флавоноиды являются основными соединениями в экстракте бузины, которые ингибируют ВИЧ-инфекцию. Это может быть новым альтернативным способом, используемым в терапии ВИЧ-1/СПИДа (синдром приобретенного иммунодефицита), особенно для одновременного применения с существующими методами лечения [47,48].

Учитывая эффективность продуктов из бузины в лечении симптомов простуды и гриппа, недавние исследования показали, что они могут быть потенциальным вспомогательным средством для лечения вируса COVID-19. Такие выводы основывались на рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях и мета-анализах [49–51]. Было проанализировано ингибирование вируса с использованием экстракта плодов дикой бузины, а также экстрактов, полученных из плодов бузины сорта «Хашберг». Первый из них показал более высокую ингибирующую способность к связыванию ACE2 и SARS-CoV2 RBD, чем экстракт, полученный из культивируемых плодов бузины. Установленные результаты эффективности экстрактов бузины дают основания для проведения дальнейших исследований новых серийных применений *Sambucus nigra L.* против SARS-CoV2 [32].

4.3. Антидиабетические свойства

Было установлено, что поглощение глюкозы в клетках скелетных мышц человека может быть увеличено антоцианами, которые содержатся в экстрактах бузины, в основном цианидин-3-глюкозидом и цианидин-3-самбубиозидом, процианидинами и их метаболитами. Ингибирование всасывания жира и сахара из кишечного тракта может представлять собой антидиабетическое действие для организма человека, являясь средством от метаболических дисфункций и профилактикой ожирения [4,52]. Повышенное содержание пищевых липидов может стать причиной появления окислительного стресса, который участвует в возникновении сопутствующих проблем со здоровьем, таких как онкологические и сердечно-сосудистые [заболевания], включая ожирение, инсулинорезистентность и сахарный диабет [53]. Во время избытка питательных веществ (у склонных к полноте) людей) макрофаги и адипоциты генерируют большое количество АФК на уровне висцеральной жировой ткани, которая накапливается в виде жировой ткани в организме. Никотинамидадениндинуклеотидфосфатоксидазы (NADPH оксидазы, NOX) активируются после высвобождения большого количества жирных кислот из липидов жировой ткани. Они могут индуцировать или стимулировать выработку АФК. Кроме того, хроническое воспаление, гиперлипидемия и низкая антиоксидантная защита способствуют ожирению и окислительному стрессу [54]. Генерация АФК может быть уменьшена после употребления экстракта бузины за счет снижения экспрессии NOX4, основной изо-

формы NOX в адипоцитах. После использования экстракта бузины для лечения гипертрофированных адипоцитов 3T3-L1 наблюдалось значительное снижение экспрессии мессенджерной РНК (мРНК) NOX4. Кроме того, повышение эффективности антиоксидантной защиты адипоцитов может быть достигнуто путем регуляции мРНК экспрессии антиоксидантных ферментов, таких как SOD (супероксиддисмутаза) и GPx (глутатионпероксидаза) [55].

Введение экстракта бузины мышам с ожирением, которых кормили пищей с высоким содержанием жиров, способствовало сокращению количества метаболических нарушений за счет снижения триглицеридов и уменьшения системного воспаления и резистентности к инсулину. Экстракт бузины также продуцировал снижение сывороточного моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1) и фактора некроза опухоли- α (TNF- α), которые являются провоспалительными маркерами гнойного хронического воспаления [56]. Доказано, что полифенольные соединения и тритерпеновые кислоты из экстракта бузины ответственны за снижение резистентности к инсулину у крыс, больных диабетом. Коррекция гипергликемии и, соответственно, снижение секреции инсулина представляют собой механизмы, с помощью которых экстракты модулируют метаболизм глюкозы [57]. Прогрессирование атеросклероза было ослаблено у мышей, которых кормили экстрактом бузины, поскольку он содержит большое количество антоцианов, способных снижать общий холестерин аорты [58].

Ученые Opriz et al. [59] в своем исследовании установили, что уровень глюкозы в крови может быть снижен с помощью фотосинтезированных наночастиц золота (NPs) с использованием экстракта бузины (вводимого в дозах 0,3 мг/кг массы тела), а наиболее важным эффектом является уменьшение воспаления и окислительного стресса, индуцированных гипергликемией. Это нашло подтверждение в работе Karthick et al. [60], где установлено, что NP золота, биосинтезированные с использованием натуральных экстрактов, проявляют антидиабетические свойства, а также уменьшают воспаление в дозе 0,5 мг/кг массы тела.

Исследования *in vitro* показали, что водные экстракты бузины оказывают инсулиноподобное действие на всасывание глюкозы. Кроме того, природные фенольные соединения, извлеченные из бузины, оказывали положительное влияние на регрессию остеопороза у самцов крыс с диабетом путем улучшения минеральной плотности костной ткани, которая крайне низка у крыс с диабетом. У крыс с данным заболеванием установлен низкий процент жира в организме, а введение фенольных соединений привело к улучшению состояния их здоровья. После полученных в ходе экспериментов данных был сделан вывод о том, что при диетическом потреблении экстрактов бузины, богатых природными фенольными соединениями, возможна регрессия осложнений диабета и остеопороза у людей [61].

Наряду с другими ягодами, бузину *Sambucus nigra L.* можно считать эффективным ингибитором активности панкреатической липазы, α -амилазы и α -глюкозидазы. Ожирение и связанные с ним расстройства, сопровождающиеся окислительным стрессом, воспалением и резистентностью к инсулину, можно предотвратить или лечить экстрактом бузины. Кроме того, лечение ожирения и сопутствующих метаболических заболеваний может быть достигнуто благодаря способности экстракта бузины уменьшать кишечное всасывание пищевых липидов и углеводов путем ингибирования активности пищеварительных ферментов. После исследований *in vitro* и *in vivo* ученые обнаружили, что экстракт плодов *Sambucus nigra L.* может быть использован для нутрицевтических применений [55].

Следует отметить, что проведенные многочисленные исследования не являются исчерпывающими с точки зрения влияния бузины на здоровье человека. Поэтому необходимо проводить дальнейшие изучения и эксперименты с целью подтверждения ранее полученных результатов, а также для определения действия экстракта бузины в отношении других патогенных штаммов и новых видов вирусов.

5. Экстракция биологически активных соединений

Для извлечения биоактивных соединений из природных источников используют многочисленные методы экстракции, поскольку стадия экстракции очень важна. Выбор метода экстракции зависит от необходимого выхода экстракта и желаемой чистоты фенольных соединений, поскольку каждый метод имеет свои преимущества и ограничения. В целом экстракция включает последовательное и систематическое высвобождение полифенолов из растительного материала. Растворимые соединения экстрагируют с использованием водно-органического растворителя. Однако существуют также нерастворимые связанные полифенольные комплексы, которые не экстрагируются органическими растворителями. Эти фенольные соединения связаны с полимерами клеточной стенки эфирными, сложными эфирными и гликозидными связями. Что касается связанных фенольных кислот, то они обычно высвобождаются путем кислотного гидролиза, щелочного гидролиза или того и другого [62,63].

Экстракцию антоцианов из бузины проводят слегка подкисленным (обычно HCl) спиртовым растворителем с последующим концентрированием под вакуумом, очисткой и выделением пигментов. Желательно экстрагировать соединения до появления химических изменений. Поскольку антоцианы чувствительны к высоким температурам и свету, необходимо проводить экстракцию при температуре не выше 40 °C.

5.1. Традиционная экстракция растворителем

Экстракцию растворителем можно использовать для извлечения масел из растительного сырья [10,64]. Данный метод долгое время был наиболее приемлемым и экономически выгодным способом получения основных биоактивных компонентов и эфирных масел.

Для извлечения биоактивных компонентов бузины применяют различные растворители, такие как вода, этанол или водно-спиртовые растворы с концентрацией спирта 35–50%, а также органические растворители и их комбинации. Биологически активные вещества из бузины экстрагировали также с использованием таких растворителей, как ацетон. В исследовании группы ученых Kowalska et al. [65] рассмотрена возможность получения антоциановых соединений из плодов черноплодной рябины и бузины с использованием системы глицерин-вода. Согласно полученным данным, максимальное содержание антоцианов было достигнуто для 50%-го раствора глицерина при температурах экстракции в ходе мацерации 20, 50 и 80 °C. Наиболее эффективным способом экстракции был метод, который проводили при температуре 80 °C и с концентрацией глицерина 65%. Исследование показало, что глицерин также можно использовать в качестве альтернативного растворителя для экстракции антоцианов вместо этанола, который не всегда можно использовать в пищевых продуктах [65].

Для экстракции фенольных соединений можно применять несколько растворителей: этанол (наиболее часто используемый), метанол, изопропанол, ацетон, диэтиловый эфир, этилацетат и их смеси с водой, которые повышают эффективность экстракции за счет увеличения поверхности

контакта между растворителем и экстрагированными фенольными соединениями (растворенными). Для получения высокого выхода экстракции при использовании обычной экстракции требуется большое количество растворителя. Традиционный метод экстракции проводят при высокой температуре с целью получения более быстрой кинетики. Это достигается за счет снижения вязкости экстракционной среды, процесса, который способствует проникновению растворителя в матрикс растения [66].

Полученные результаты показали, что используемый растворитель может влиять на эффективность процесса экстракции (поскольку тип растворителя и его полярность влияют на растворимость фенольных соединений). Кроме того, другими важными факторами являются концентрация растворителя, соотношение между образцом и растворителем, используемая температура, pH раствора, время экстракции, степень полимеризации фенольных соединений и взаимодействие фенольных соединений с другими составляющими растительной матрицы [67,68]. При использовании различных параметров экстракции образцов бузины общий выход экстракта был получен в пределах от 38,21 до 45,25%. Варьируя процентное содержание этанола и температуру, ученые получили обратную корреляцию с концентрацией этанольного растворителя. Наибольший выход (> 44%) был получен при низкой концентрации этанола, а температура экстракции не влияла на процесс. Корректировка значения pH улучшала выход экстракта на 45% [67]. В некоторых исследованиях были получены результаты, которые показали, что экстракция суммарных фенолов из ягод бузины более эффективна при использовании в качестве растворителей 50% растворов этанол-вода и ацетон-вода с повышением температуры до 60 °C. Таким образом, результаты противоречивы, поэтому и необходимы дополнительные исследования с целью оптимизации методов экстракции.

5.2. Экстракция Сокслета

Экстракция по Сокслету была широко используемой и общепринятой стандартной методикой экстракции различных биологически активных соединений из твердых материалов всевозможных природных источников. Немецкий ученый Франц Риттер фон Сокслет первым предложил экстрактор в 1879 году, поэтому данный прибор назван его именем. Он был создан в первую очередь для экстракции липидов, хотя этим его функциональность не ограничивается. Метод экстракции Сокслета используется для извлечения важных биоактивных химических веществ из широкого спектра природных источников. Он применяется также в качестве сравнительной модели при использовании новых способов экстракции.

Экстрактор Сокслета применяли для экстракции липофильных компонентов из ягод бузины с использованием дихлорметана в качестве растворителя. Ученые Salvador, Rocha и Silvestre [69] рассмотрели химический состав липофильных соединений из разных сортов бузины с помощью газовой хроматографии и масс-спектрометрии. Авторы установили, что тритерпеноиды и жирные кислоты составляют 84,9–93,8% и 4,3–11,4% соответственно от общего количества липофильных компонентов и являются основным химическим классом в этих фракциях. Соединения урсоловой и олеаноловой кислот были наиболее распространенными химическими веществами, идентифицированными как компоненты ягод бузины, за ними следуют длинноцепочечные алифатические спирты и стеролы в более низких концентрациях [69].

Продолжительность процесса экстракции, высокое потребление растворителя и энергии, загрязнение экстракта,

низкая безопасность и низкая эффективность экстракции являются основными недостатками экстрактора Сокслета по сравнению с инновационными или дополнительными методами экстракции [10]. Модификация метода Сокслета и его сочетание с более эффективными способами экстракции будут способствовать более широкому его применению для извлечения биоактивных химических веществ из растительного сырья.

5.3. Гидродистилляция

Биоактивные и эфирные масла могут быть получены из растительных тканей методом гидродистилляции. Компоненты установки монтируют в перегонной камере, в колбу добавляют необходимое количество воды и доводят до кипения. Горячая вода и пар часто используются как наиболее эффективные растворители для высвобождения биоактивных соединений из тканей растений. Следует учитывать, что высокие температуры экстракции приводят к потере некоторых биологически активных веществ, поэтому данный способ не позволяет широко использовать его для извлечения термочувствительных биоактивных химических веществ [10]. Кроме этого, данный метод имеет ряд других недостатков: длительное время обработки и возникновение таких химических изменений в терпеновых соединениях, как разрушение полярных молекул из-за перегрева, а также циклизация и гидролиз, вызванные длительным взаимодействием с кипящей водой. Колонна с тарелками используется для извлечения биоактивных химических веществ, присутствующих в паре. Гидродистилляция уже давно считается эффективным процессом экстракции для промышленных и полупромышленных применений из-за ее низкой стоимости, простоты подхода и качественной селективности [70].

Для получения экстракта, богатого летучими соединениями и имеющего в содержании эфирное масло цветков бузины турецкой, был использован метод микроэкстракции в твердой фазе для сбора летучих компонентов в гексановом экстракте дегидратированных цветков бузины. Летучие компоненты эфирного масла бузины были выделены методом гидродистилляции. Эфирное масло содержало пятнадцать летучих компонентов, что составляет 90,4% от общего количества масла. Основными компонентами масла были генэйкозан (18,8%), трикозан (17,3%), нонадекан (13%) и пентакозан (10,3%) [71].

6. «Зеленые» технологии извлечения биоактивных веществ бузины

«Зеленая» технология извлечения биологически активных веществ направлена на уменьшение количества органических растворителей во время процессов подготовки проб, экстракции, очистки и обнаружения. Сведение к минимуму использования органических растворителей, независимо от экономических и экологических аспектов, может значительно сократить количество побочных продуктов в процессах экстракции и анализа, влияющих на качество готового продукта [72].

Научным сообществом применяется несколько различных концепций «зеленой» химии, включая предотвращение образования отходов, применение экологически чистых и «зеленых» растворителей, повышение энергоэффективности. Кроме этого, уделяется особое внимание высокому уровню безопасности лабораторных работ — практикуется использование минимального размера пробы, экологически чистых аналитических методов исследования, применяются автоматические сенсоры, проводятся безопасные с точки зрения экологии онлайн-процедуры дистанционного зондирования и обработки изображений. Соответственно, метод

сверхкритической флюидной экстракции (SFE), экстракция с помощью ультразвука (UAE) или обработка ультразвуком, экстракция с помощью микроволн (MAE) и экстракция импульсным электрическим полем (PEF) являются примерами «зеленых» методов экстракции, которые показали высокую эффективность в процессе извлечения биоактивных соединений растительного сырья. Как правило, успешное проведение экстракции зависит от выбора подходящих растворителей с учетом их совместимости с растворяемым веществом и в случае использования дополнительных или совместных методов экстракции.

В результате анализа экологических аспектов появилось несколько методов, но экстракции MAE и UAE занимают наиболее значимое место в научных исследованиях процесса выделения биоактивных химических веществ из растений [73]. С помощью данных методов повышается эффективность экстракции за счет использования специфических явлений, которые происходят во всех процессах в UAE; так, например, возникает кавитация. При проведении экстракции MAE микроволны взаимодействуют с полярными молекулами в среде. В процессе проведения обоих видов экстракции происходит эффективное извлечение биологически активных компонентов, таких как полифенолы, в результате чего получают экстракты с более высокой концентрацией активных химических веществ и с превосходной биологической активностью [73].

Ученые Vujanović et al. в своем исследовании использовали метод экстракции с применением «зеленых» растворителей для выделения полифенолов из ягод бузины [2]. Mota et al. задействовали сверхкритическую флюидную экстракцию в качестве селективного, экономичного и экологически чистого способа извлечения биоактивных соединений бузины [74].

6.1. Экстракция с помощью микроволн MAE

Экстракция с помощью микроволн MAE рассматривается как новая технология извлечения растворимых соединений из различных материалов с использованием микроволнового излучения. Микроволны — это электромагнитные поля с частотой от 300 МГц до 300 ГГц. Они состоят из двух перпендикулярных колеблющихся полей, таких как электрическое и магнитное. Концепция микроволнового нагрева основана на прямом воздействии на полярные материалы. Процессы вращения диполя и ионная проводимость преобразуют электромагнитную энергию в тепло. Ученые Milena et al. [73] применяли метод MAE, используя 50%-ный водно-спиртовой раствор или воду (H_2O) в качестве экстрагирующего растворителя для получения цветочных экстрактов *Sambucus nigra* L. Хроматографические (такие как LC-MS/MS) и спектрофотометрические методы анализа использовали для определения фитохимических профилей полученных экстрактов. Основными химическими веществами, идентифицированными во всех экстрактах, были рутин и 5-О-кофеилхинная кислота. Наиболее распространенными компонентами были прокатеховая и хлорогеновая кислоты, а также флавоноиды кверцетин-3-О-гексозид и кверцетин. Проведенный анализ сока бузины показал значительное содержание общих фенольных компонентов (1945 мг GAE/см³ сока) и высокую концентрацию антоцианов (30,85 мг цианидин-3-глюкозида/см³ сока). Кроме того, исследуемый сок бузины обладал высокими нейтропротекторными свойствами. Концентрация некоторых минералов, особенно калия и железа, была значительно выше в соке бузины, поэтому он потенциально является хорошим источником микронутриентов и подходит для ежедневного потребления [73]. Согласно результатам, экстракт, приготовленный с 50%-м этанолом,

обладал наибольшей антиоксидантной активностью, что хорошо согласовывалось с высоким содержанием фенолов. В этом экстракте также была обнаружена наибольшая активность ингибирования тирозиназы [2].

6.2. Ультразвуковая экстракция (UAE)

В последние десятилетия широко изучалось применение метода UAE в качестве чистой, экологичной и экономически эффективной альтернативы традиционно используемым методам экстракции [75]. Экстракция трех цианогенных соединений (амигдалина, пруназина и самбунигина) из листьев, цветов, ветвей и плодов *Sambucus nigra* L. была оптимизирована Rodríguez Madrera и Suárez Valles [76]. В качестве метода экстракции использовался ультразвук высокой мощности, экстрагентом являлась подкисленная вода. Было исследовано влияние времени экстракции, импульса и амплитуды на выход экстракта. На основании полученных данных были определены оптимальные условия экстракции: амплитуда обработки ультразвуком 80%, время экстракции 55 с, рабочий цикл 70%, масса образца 0,1 г и 10 мл подкисленной воды, содержащей 0,1% хлорной кислоты. Было доказано, что соотношение пробы и экстрагирующего растворителя является существенным фактором, влияющим на выход цианогенных гликозидов с β -глюкозидазной активностью. По сравнению с используемыми ранее параметрами экстракции, время экстракции в этом исследовании было значительно сокращено, что особенно важно для сведения к минимуму деградации амигдалина на этапе экстракции. Ультразвук распространяется через любые среды, производя циклы расширения и сжатия в виде механической волны с частотой от 20 кГц до 100 МГц. Когда акустическая мощность достаточно высока, она может вызвать создание, рост и схлопывание кавитационных пузырьков в жидкой среде, что широко используется для улучшения многих пищевых процессов [77,78].

6.3. Сверхкритическая флюидная экстракция SFE

SFE представляет собой метод экстракции, в котором в качестве экстракционных растворителей используются сверхкритические флюиды. Углекислый газ (CO_2) является типичным сверхкритическим растворителем для SFE, и это экологически чистый растворитель без токсичности или побочных эффектов. CO_2 является выбранным флюидом в SFE из-за его плотности, сравнимой с жидкостями, а также ввиду низкой вязкости и высокой диффузионной способности. Температура, давление, плотность частиц и содержание воды в исходном материале, продолжительность экстракции, расход CO_2 и соотношение растворителя и исходного сырья являются ключевыми факторами, определяющими эффективность экстракции. Моделирование и оптимизация SFE- CO_2 для выделения важных липофильных соединений из побочных продуктов переработки сока *Sambucus nigra* L. были целью исследования ученых Kitryte et al. [79]. Авторы использовали сверхкритическую экстракцию диоксидом углерода (SFE- CO_2) и скорректировали ее свойства (температуру, продолжительность и давление) для извлечения важных неполярных компонентов из сока бузины. Из 100 г жмыха было извлечено 14,05 г липофильной фракции при оптимальных условиях SFE- CO_2 (53 °C, 35 МПа, 45 мин), в том числе полезных для здоровья полиненасыщенных линолевых (42,0%) и линоленовых (34,1%) жирных кислот. С точки зрения выходов и времени экстракции SFE- CO_2 обычно более эффективен, чем традиционные методы Сокслета и SLE, но менее эффективен, чем PLE и UAE. По сравнению с PLE и UAE, основанными на экстракции гексаном, SFE- CO_2 имеет преимущество использования раство-

рителя GRAS CO_2 и позволяет избежать операции удаления растворителя. После липидорастворимой сепарации сверхкритическим CO_2 или гексаном из выжимок бузины был получен незначительный процент антиоксидантов, в то время как обезжиренные выжимки из ягод бузины сохранили значительное количество (> 60%) среди этих биоактивных компонентов. Таким образом, многоступенчатое фракционирование выжимок бузины под высоким давлением и/или ультразвуком можно использовать для разделения ценных молекул более высокой полярности с универсальным применением в пищевой, фармацевтической и нутрицевтической промышленности [80].

6.4. Ферментативная экстракция (EAE)

Экстракция биомолекул из растений с помощью ферментов набирает популярность как альтернатива традиционным методам экстракции растворителем благодаря своим характеристикам, безопасности, устойчивости и эффективности. Фундаментальной предпосылкой для проведения ферментативной экстракции является гидролиз клеточной стенки растения ферментом в качестве катализатора в идеальных экспериментальных условиях для высвобождения внутренних компонентов. Стенка растительной клетки связывает активную область фермента и позволяет ферменту изменять форму, чтобы субстрат помещался в его активный центр, что приводит к эффективному взаимодействию между ними. Изменения в структуре фермента вызывают растворение связей клеточной стенки, что позволяет активным компонентам выйти наружу [72]. Эти экологически безопасные процедуры экстракции не только не сокращают количество токсичных растворителей при использовании, но и уменьшают продолжительность процесса.

Кроме того, поскольку эта экстракция происходит при регулируемой температуре, она идеально подходит для термочувствительных соединений, таких как ароматизаторы, пигменты и масла [81]. EAE имеет не только множество преимуществ в биоактивной химической экстракции, но и ряд недостатков. Во-первых, как известно, невозможно полностью гидролизовать клеточные стенки матрикса с помощью доступных в настоящее время ферментных препаратов, что ограничивает выход экстракции фитобιοактивных компонентов. Кроме того, ферменты могут быть более дорогими при крупномасштабном или промышленном производстве, если обрабатываются с высоким соотношением фермента и субстрата. Наконец, поскольку ферменты по-разному реагируют на различные условия окружающей среды ввиду возможного колебания pH и температуры внутри экстрактора промышленного масштаба, EAE может быть трудно масштабировать в промышленности. Если предыдущие недостатки удастся устранить, EAE может быть эффективным способом повысить выход экстракции, минимизировать время экстракции и улучшить качество экстрактов за счет использования более щадящих условий экстракции, в частности более низких температур [75]. Авторы Flores et.al. анализировали, как ферменты, ультразвук, микроволны и мацерация могут способствовать извлечению большего количества антиоксидантов из ягод бузины путем определения антиоксидантной способности, содержания антоцианов и общего количества фенолов. Микроволны, ферменты и ультразвук использовались для улучшения антиоксидантных свойств с последующей мацерацией при 70 °C в течение 20 минут, применялись несколько видов фермента, комбинации ферментов и была задействована микроволновая печь. Более высокие выходы экстракта в объеме сока стали возможны благодаря применению ферментов. Напиток из бузины с высокими антиоксидантными и сенсорными свойствами был приготовлен

с использованием сока, полученного путем мацерации [82]. Ученые Mattson et al. [3] недавно провели исследование, применяя различные температуры (40, 50 и 60 °C) и концентрации ферментов (80, 120 и 160 ppm) для получения оптимального экстракта бузины с высоким общим содержанием полифенолов (TPC), содержанием мономерных антоцианов (ACY) и антиоксидантной активности (AA). Согласно полученным данным, экстракция с помощью ферментов рекомендуется как первая экологически чистая процедура. Температура 45,3 °C и концентрация фермента 160 частей на миллион были оптимальными условиями тестирования, дающими значения TPC 656 мг галловой кислоты/100 г, значения ACY 326 мг цин-3-глу/100 г и значения AA 353 мг галловой кислоты/100 г. Выход сока во всех случаях был одинаковым, как результат, этот метод эффективно высвобождает биологически активные компоненты фруктов [3].

6.5. Жидкостная экстракция под давлением PLE

Жидкостная экстракция под давлением PLE, также известная как ускоренная экстракция растворителем (ASE), основана на способности удерживать растворители с низкой температурой кипения в жидком состоянии под высоким давлением при одновременном повышении диффузионной способности аналита из твердой матрицы [83]. Во многих случаях PLE оптимизирует количество растворителя, температуру, время статической экстракции и количество циклов прохождения растворителя через матрицу. Данный метод экстракции PLE использовался для извлечения термочувствительных фитохимических веществ из различных растительных источников с высокой эффективностью, таких как малина, облепиха, арония, черная смородина и ежевика.

7. Сохранение биоактивных веществ бузины методами микрокапсулирования

Фенольные соединения могут разлагаться и терять эффективность при воздействии света, кислорода, переменных температур и pH, ионов металлов и ферментативной активности. Соответственно, воздействие этих факторов может повлиять на качество и биодоступность, а также на срок годности продуктов из бузины. Поэтому для сохранения качества, пищевой ценности и лечебных свойств продуктов из бузины необходимо обеспечить их сохранность и не допустить деградации биоактивных соединений деструктивными факторами от производства до потребления.

Технику микрокапсулирования с защитой биоактивных соединений рассматривают как практичное и эффективное решение этой проблемы. В последние годы этот метод быстро развивается в различных отраслях промышленности, таких как производство продуктов питания, фармацевтика и сельское хозяйство. Во время процесса инкапсуляции целевые соединения улавливаются в твердой или жидкой матрице и закрываются материалом покрытия [84]. В зависимости от размера, капсулы подразделяют на три вида: макрокапсулы (> 5000 мкм), микрокапсулы (1–5000 мкм) и нанокapsулы (> 1 мкм) [20]. Выбор подходящего метода микрокапсулирования биоактивных соединений зависит от различных факторов, таких как физические и химические свойства ядра и инкапсулирующего агента, свойства высвобождения инкапсулированных биоактивных соединений, а также эффективность процесса [85].

7.1. Инкапсуляция с распылительной сушкой

Распылительная сушка — это хорошо известный физико-механический способ микрокапсулирования биоактивных соединений [84]. Он является наиболее распространенным,

хотя существует несколько других методов, таких как сушка вымораживанием, экструзия, сверхкритический CO₂, двойная эмульсия и эмульгирование для инкапсулирования биоактивных соединений в ягодных растениях. Инкапсуляция распылительной сушкой является основным способом инкапсуляции антоцианов [86]. Его применяли для микроинкапсуляции биоактивных соединений черники с использованием ультразвуковой насадки.

Распылительная сушка является эффективным методом улавливания биоактивных соединений и особенно соединений, чувствительных к температуре. Инкапсуляция распылительной сушкой имеет много преимуществ, включая гибкость, высокую эффективность и быстрое использование, низкую стоимость, возможность инкапсуляции в больших масштабах и приемлемую стабильность конечных микрокапсул. В целом микрокапсулированные соединения, полученные методом распылительной сушки, относятся к матричному типу с однородным материалом сердцевинки, распределенным по всему материалу стенки и размером от микрон до нескольких десятков микрон.

7.2. Эмульсионные системы

В качестве коллоидных систем доставки эмульсии представляют собой смесь двух несмешивающихся жидкостей (воды и масла), где частицы дисперсной фазы распределяются в виде небольших сферических капель внутри фазы диспергатора. В зависимости от размера частиц, эмульсионные системы можно разделить на наноэмульсии, микроэмульсии и макроэмульсии. Существует несколько различных простых или множественных эмульсий для микроинкапсулирования биоактивных соединений, таких как вода в масле (в/м), масло в воде (м/в), вода в масле в воде (в/м/в), масло в воде в масле (м/в/м), вода в масле в масле (в/м/м) или даже вода в масле в масле в воде (в/м/м/в) [87]. Comunian et al. разработали метод микрокапсулирования для защиты антоцианов из экстрактов бузины с использованием эмульсионной системы вода-в-масле-в-воде и сообщили об эффективности инкапсуляции антоцианов на уровне 47–54% [88].

7.3. Сублимационная сушка

Сушка вымораживанием является подходящим методом инкапсуляции чувствительных к температуре биоактивных соединений с меньшей стабильностью в водных растворах. Замораживание, сублимация, десорбция и окончательное хранение являются основными выделенными стадиями этого метода. Физические свойства целевого соединения, включая форму, цвет, вкус, текстуру и аромат, могут быть сохранены во время этого процесса. Часто используемые инкапсулирующие агенты в методе лиофилизации включают гурамиарабик, крахмалы, сывороточный белок и мальтодекстрин. Авторы Kanha et al. [88] исследовали метод лиофилизированной двойной эмульсии для микроинкапсулирования антоцианов и фенольных соединений с применением желатин-арабийской камеди и хитозан-карбоксиметилцеллюлозы в качестве инкапсулирующих агентов. По сравнению с другими методами инкапсуляции, высокие затраты энергии и длительное время обработки являются двумя нежелательными факторами, связанными с процедурой лиофилизации [88]. Ученые Casati, Baeza и Sánchez [89] оценили эффективность метода лиофилизации для инкапсуляции антоцианов, полученных из ягод. Они использовали мальтодекстрин и арабийскую камедь в качестве инкапсулирующих агентов и получили в результате 84,35 и 71,69% общего количества фенолов и содержания общего мономерного антоциана в экстрактах бузины соответственно [89].

8. Выводы

Проведенные многочисленные исследования бузины *Sambucus nigra* L. и продуктов ее переработки подтверждают их высокую антиоксидантную активность, а также антибактериальные и противовирусные свойства, благодаря наличию антоцианов, фенольных кислот и флавоноидов. Бузина содержит различные биологически активные соединения и широко используется во многих отраслях промышленности, включая продукты питания, косметику и фармацевтику. К сожалению, в Республике Беларусь бузина не получила должного применения в пищевой промышленности и используется в основном в качестве красителя. Биологически активные соединения бузины относительно чувствительны ко многим различным факторам, включая pH, температуру, кислород, активность ферментов, солнечный свет и ионы металлов. Поэтому следует ответственно подходить к выбору и использованию соответствующих методов экстракции, основанных на новых технологиях, для повышения эффективности экстракции и сохранения биоактивных соединений бузины от разрушающего воздействия. Кроме того, методы экстракции и анализа биологически активных соединений, использованные в многочисленных исследованиях, показали противоречивые результаты. В основном это связано с тем, что, в зависимости от многих факторов, химический состав плодов может сильно варьироваться. В связи с этим оптимизация метода экстракции биологически активных

соединений необходима для максимального извлечения из плодов с целью их использования в качестве дополнительного источника фенольных соединений. Анализ опубликованных результатов научных исследований подтверждает, что методы микрокапсулирования сохраняют биологически активные соединения ягод бузины, увеличивая срок годности продукта и профиль замедленного высвобождения. Таким образом, инкапсулирование можно считать перспективным подходом к сохранению качества биологически активных соединений бузины. Тем не менее необходимо проводить дальнейшие исследования для достижения оптимальных и инновационных методов для систем инкапсуляции.

Оптимизация методов может стать основой для разработки новых пищевых продуктов, функциональных продуктов питания, пищевых добавок, а также для фармацевтических и косметических продуктов. Кроме того, важно проводить дальнейшие дополнительные исследования, чтобы определить, какие соединения играют наиболее важную роль как в профилактике, так и в борьбе с определенными заболеваниями, а также с целью выявления их синергетического эффекта. Сок и экстракты из бузины необходимо более широко использовать для разработки продуктов профилактического и функционального назначения, предназначенных для определенных категорий населения (дети, спортсмены, пожилые люди, а также лица, пострадавшие от неблагоприятного воздействия окружающей среды).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ważbińska, J. (2002). *Sambucus* for growers. *Szkółkarstwo*, 6, 29–30. (In Polish)
2. Vujanović, M., Majkić, T., Zengin, G., Beara, I., Cvetanović, A., Mahomodally, F. M. et al. (2019). Advantages of contemporary extraction techniques for the extraction of bioactive constituents from black elderberry (*Sambucus nigra* L.) flowers. *Industrial Crops and Products*, 136, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.058>
3. Gomez Mattson, M. L., Corfield, R., Bajda, L., Pérez, O.E., Schebor, C., Salvatori, D. (2021). Potential bioactive ingredient from elderberry fruit: Process optimization for a maximum phenolic recovery, physicochemical characterization, and bioaccessibility. *Journal of Berry Research*, 11(1), 51–68. <https://doi.org/10.3233/JBR-200629>
4. Młynarczyk, K., Walkowiak-Tomczak, D., Łysiak, G.P. (2018). Bioactive properties of *Sambucus nigra* L. As a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. *Journal of Functional Foods*, 40, 377–390. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.025>
5. Młynarczyk, K., Walkowiak-Tomczak, D., Staniek, H., Kidoń, M., Łysiak, G.P. (2020). The Content of selected minerals, bioactive compounds, and the antioxidant properties of the flowers and fruit of selected cultivars and wild growing plants of *Sambucus nigra* L. *Molecules*, 25, Article 876. <https://doi.org/10.3390/molecules25040876>
6. Бурак, Л. Ч. (2022). Использование бузины (*Sambucus nigra* L.) в пищевой промышленности: состояние и дальнейшие перспективы (Обзор). *Химия растительного сырья*, 3, 49–69. <https://doi.org/10.14258/jcrpm.20220310937>
7. Бурак, Л. Ч., Завалей, А.П. (2021). Технологический процесс производства и оценка качества сока прямого отжима и концентрированного из плодов бузины произрастающей в Республике Беларусь. *Пищевая промышленность*, 11, 83–87. <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.11.11.001>
8. Abdel-Moneim, A.-M. E., Shehata, A.M., Alzahrani, S.O., Shafi, M.E., Mesalam, N.M., Taha, A.E. et al. (2020). The role of polyphenols in poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1851–1866. <https://doi.org/10.1111/jpn.13455>
9. Garavand, F., Madadlou, A., Moini, S. (2017). Determination of phenolic profile and antioxidant activity of pistachio hull using high-performance liquid chromatography-diode array detectorelectro-spray ionization — mass spectrometry as affected by ultrasound and microwave. *International Journal of Food Properties*, 20(1), 19–29. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1099045>
10. Garavand, F., Rahae, S., Vahedikia, N., Jafari, S.M. (2019). Different techniques for extraction and micro/nanoencapsulation of saffron bioactive ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 89, 26–44. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.005>
11. Sobieralska, M., Kurek, M.A. (2019). Beta-glucan as wall material in encapsulation of elderberry (*Sambucus nigra*) extract. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(3), 334–341. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00741-x>
12. Paz, R., Fredes, C. (2015). The encapsulation of anthocyanins from berry-type fruits. *Trends in foods. Molecules*, 20(4), 5875–5888. <https://doi.org/10.3390/molecules20045875>
13. Moghaddam, M. H., Bayat, A.-H., Eskandari, N., Abdollahifar, M.-A., Fotouhi, F., Forouzannia, A. et al. (2021). Elderberry diet ameliorates motor function and prevents oxidative stress-induced cell death in rat models of Huntington disease. *Brain Research*, 1762, Article 147444. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147444>
14. Mesalam, N.M., Aldhumri, S.A., Gabr, S.A., Ibrahim, M.A., Al-Mokaddem, A.K., Abdel-Moneim, A.-M.E. (2021). Putative abrogation impacts of Ajwa seeds on oxidative damage, liver dysfunction and associated complications in rats exposed to carbon tetrachloride. *Molecular Biology Reports*, 48(6), 5305–5318. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06544-1>
15. Vujanović, M., Majkić, T., Zengin, G., Beara, I., Tomović, V., Šojić, B. et al. (2020). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice as a novel functional product rich in health-promoting compounds. *RSC Advances*, 10, 44805–44814. <https://doi.org/10.1039/d0ra09129d>
16. Senica, M., Stampar, F., Veberic, R., Mikulic-Petkovsek, M. (2017). The higher the better? Differences in phenolics and cyanogenic glycosides in *Sambucus nigra* leaves, flowers and berries from different altitudes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2623–2632. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8085>
17. Aliakbarian, B., Paini, M., Casazza, A.A., Perego, P. (2015). Effect of encapsulating agent on physical-chemical characteristics of olive pomace polyphenols-rich extracts. *Chemical Engineering Transactions*, 43, 97–102. <https://doi.org/10.3303/cet1543017>
18. Dorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A. et al. (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 452–490. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9106-7>
19. Bakowska-Barczak, A. M., Kolodziejczyk, P. P. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1301–1309. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.002>
20. Aguiar, J., Estevinho, B. N., Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application — The specific case of coffee antioxidants — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 58, 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
21. Wahab, N. A., Rahman, R.A., Ismail, A., Mustafa, S., Hashim, P. (2014). Assessment of antioxidant capacity, anti-collagenase and anti-elastase assays of Malaysian unfermented cocoa bean for cosmetic application. *Natural Products Chemistry and Research*, 2(3), Article 1000132. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000132>
22. Ghimeray, A. K., Jung, U., Lee, H., Kim, Y., Ryu, E., Chang, M. (2015). In vitro antioxidant, collagenase inhibition, and in vivo anti-wrinkle effects of combined formulation containing *Punica granatum*, *Ginkgo biloba*, *Ficus*

- carica, and Morus alba fruits extract. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 8, 389–396. <https://doi.org/10.2147/CCID.S80906>
23. Perse, M. (2013). Oxidative stress in the pathogenesis of colorectal cancer: cause or consequence? *BioMed Research International*, 2013, Article 725710. <https://doi.org/10.1155/2013/725710>
 24. Olejnik, A., Olkiewicz, M., Kowalska, K., Rychlik, J., Dembczyński, R., Myszk, K. et al. (2016). Gastrointestinal digested Sambucus nigra L. fruit extract protects in vitro cultured human colon cells against oxidative stress. *Food Chemistry*, 197(Part A), 648–657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.017>
 25. Sidor, A., Gramza-Michałowska, A. (2015). Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (Sambucus nigra) in food—a review. *Journal of Functional Foods*, 18(Part B), 941–958. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.012>
 26. Hidalgo, M., Oruna-Concha, M.J., Kolida, S., Walton, G.E., Kallithraka, S., Jeremy P. E. Spencer, J.P.E. et al. (2012). Metabolism of anthocyanins by human gut microflora and their influence on gut bacterial growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(15), 3882–3890. <https://doi.org/10.1021/jf3002153>
 27. Lila, M. A., Ribnický, D.M., Rojo, L.E., Rojas-Silva, P., Oren, A., Havenaar, R., Janle, E.M. et al. (2012). Complementary approaches to gauge the bioavailability and distribution of ingested berry polyphenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5763–5771. <https://doi.org/10.1021/jf203526h>
 28. Olejnik A., Kowalska, K., Olkiewicz, M., Rychlik, J., Juzwa, W., Myszk, K. et al. (2015). Anti-inflammatory effects of gastrointestinal digested Sambucus nigra L. fruit extract analysed in co-cultured intestinal epithelial cells and lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Journal of Functional Foods*, 19(Part A), 649–660. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.064>
 29. Frøkiær, H., Henningsen, L., Metzdrorff, B.S., Weiss, G., Roller, M., Flanagan, J. et al. (2012). Astragalus root and elderberry fruit extracts enhance the IFN- β stimulatory effects of Lactobacillus acidophilus in murine-derived dendritic cells. *PLoS One*, 7(10), Article e47878. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047878>
 30. Pliszka, B., Wazbinska, J., Puczel, U., Huszcza-Ciołkowska, G. (2005). Biologically active polyphenolic compounds in elderberries of different cultivated varieties and wild-growing forms. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 507(2), 443–449. (In Polish)
 31. Przybylska-Balcerek, A., Szablewski, T., Sz wajkowska-Michałek, L., Świerk, D., Cegielska-Radziejewska, R., Krejpcio, Z. et al. (2021). Sambucus nigra extracts — Natural antioxidants and antimicrobial compounds. *Molecules*, 26(10), Article 2910. <https://doi.org/10.3390/molecules26102910>
 32. Boroduske, A., Jekabsons, K., Riekstina, U., Muceniece, R., Rostoks, N., Nakurte, I. (2021). Wild Sambucus nigra L. from north-east edge of the species range: A valuable germplasm with inhibitory capacity against SARS-CoV2 S-protein RBD and hACE2 binding in vitro. *Industrial Crops and Products*, 165, Article 113438. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113438>
 33. Gleńsk, M., Gliński, J.A., Włodarczyk, M., Stefanowicz, P. (2014). Determination of ursolic and oleanolic acid in Sambuci fructus. *Chemistry and Biodiversity*, 11(12), 1939–1944. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201400118>
 34. Caroline, H., Mccollum, G.A., Nelson, D., Ballard, L.M., Millar, C., Goldsmith, C. et al. (2010). Antibacterial activity of elder (Sambucus nigra L.) flower or berry against hospital pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17), 1805–1809. <https://doi.org/10.5897/JMPRI10.147>
 35. Chatterjee, A., Yasmin, T., Bagchi, D., Stohs, S.J. (2004). Inhibition of Helicobacter pylori in vitro by various berry extracts, with enhanced susceptibility to clarithromycin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 265(1–2), 19–26. <https://doi.org/10.1023/B:MCBI.0000044310.92444.ec>
 36. Krawitz, C., Mraheil, M.A., Stein, M., Imirzalioglu, C., Domann, E., Pleschka, S. et al. (2011). Inhibitory activity of a standardized elderberry liquid extract against clinically-relevant human respiratory bacterial pathogens and influenza A and B viruses. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), Article 16. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-16>
 37. Chen, C., Zuckerman, D.M., Susanna Brantley, Michka Sharpe, Kevin Chidress, Egbert Hoiczky, et al. (2014). Sambucus nigra extracts inhibit infectious bronchitis virus at an early point during replication. *BMC Veterinary Research*, 10(1), Article 24. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-24>
 38. Roschek, Jr. B., Fink, R.C., McMichael, M.D., Li, D., Alberte, R.S. (2009). Elderberry flavonoids bind to and prevent H1N1 infection in vitro. *Phytochemistry*, 70(10), 1255–1261. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.06.003>
 39. Hawkins, J., Baker, C., Cherry, L., Dunne, E. (2019). Black elderberry (Sambucus nigra) supplementation effectively treats upper respiratory symptoms: A meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 42, 361–365. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.12.004>
 40. Tiralongo, E., Wee, S. S., Lea, R. A. (2016). Elderberry supplementation reduces cold duration and symptoms in air-travellers: A randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *Nutrients*, 8(4), Article 182. <https://doi.org/10.3390/nu8040182>
 41. Zakay-Rones, Z., Varsano, N., Zlotnik, M., Manor, O., Regev, L., Schlesinger, M. et al. (1995). Inhibition of several strains of influenza virus in vitro and reduction of symptoms by an elderberry extract (Sambucus nigra L.) during an outbreak of influenza B Panama. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 1(4), 361–369. <https://doi.org/10.1089/acm.1995.1.361>
 42. Kinoshita, E., Hayashi, K., Katayama, H., Hayashi, T., Obata, A. (2012). Anti-influenza virus effects of elderberry juice and its fractions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76(9), 1633–1639. <https://doi.org/10.1271/bbb.120112>
 43. Hidari, K. I. P. J., Abe, T., Suzuki, T. (2013). Carbohydrate — related inhibitors of dengue virus entry. *Viruses*, 5(2), 605–618. <https://doi.org/10.3390/v5020605>
 44. McCutcheon, A. R., Roberts, T.E., Gibbons, E., Ellis, S.M., Babiuk, L.A., Hancock, R.E. et al. (1995). Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 49(2), 101–110. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(95\)90037-3](https://doi.org/10.1016/0378-8741(95)90037-3)
 45. Van der Meer, F., de Haan, C.A.M., Schuurman, N.M.P., Haijema, B.J., Verheije, M.H., Bosch, B.J. et al. (2007). The carbohydrate-binding plant lectins and the non-peptidic antibiotic pradimicin A target the glycans of the coronavirus envelope glycoproteins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(4), 741–749. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm301>
 46. Graham, D. R. M., Chertova, E., Hilburn, J.M., Arthur, L.O., Hildreth, J.E.K. (2003). Cholesterol depletion of human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus with beta-cyclodextrin inactivates and permeabilizes the virions: evidence for virion-associated lipid rafts. *Journal of Virology*, 77(15), 8237–8248. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.15.8237-8248.2003>
 47. Bartak, M., Lange, A., Stońska, A., Cymerys, J. (2020). Antiviral and healing potential of Sambucus nigra extracts. *Revista Bionatura*, 5(3), 1264–1270. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2020.05.03.18>
 48. Rechenchoski, D. Z., Faccin-Galhardi, L.C., Linhares, R.E.C., Nozawa, C. (2017). Herpesvirus: an underestimated virus. *Folia Microbiologica (Praha)*, 62(2), 151–156. <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0482-7>
 49. Harnett, J., Oakes, K., Caré, J., Leach, M., Brown, D., Cramer, H. et al. (2020). The effects of Sambucus nigra berry on acute respiratory viral infections: A rapid review of clinical studies. *Advances in Integrative Medicine*, 7(4), 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.aimed.2020.08.001>
 50. Kronbichler, A., Effenberger, M., Eisenhut, M., Lee, K.H., Shin, J.I. (2020). Seven recommendations to rescue the patients and reduce the mortality from COVID-19 infection: An immunological point of view. *Autoimmunity Reviews*, 19(7), Article 102570. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102570>
 51. Silveira, D., Prieto-Garcia, J.M., Boylan, F., Estrada, O., Fonseca-Bazzo, Y.M., Jamal, C.M. et al. (2020). COVID-19: is there evidence for the use of herbal medicines as adjuvant symptomatic therapy? *Frontiers in Pharmacology*, 11, Article 581840. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.581840>
 52. Ho, G. T. T., Kase, E.T., Wangenstein, H., Barsett, H. (2017). Phenolic elderberry extracts, anthocyanins, procyanidins, and metabolites influence glucose and fatty acid uptake in human skeletal muscle cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(13), 2677–2685. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05582>
 53. Manna, P., Jain, S. K. (2015). Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 13(10), 423–444. <https://doi.org/10.1089/met.2015.0095>
 54. Matsuda, M., Shimomura, I. (2013). Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obesity Research and Clinical Practice*, 7(5), e330–e341. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2013.05.004>
 55. Zielińska-Wasielica, J., Olejnik, A., Kowalska, K., Olkiewicz, M., Dembczyński, R. (2019). Elderberry (Sambucus nigra L.) fruit extract alleviates oxidative stress, insulin resistance, and inflammation in hypertrophied 3T3-L1 adipocytes and activated RAW 264.7 macrophages. *Foods*, 8(8), Article 326. <https://doi.org/10.3390/foods8080326>
 56. Farrell, N. J., Norris, G.H., Ryan, J., Porter, C.M., Jiang, C., Blesso, C.N. (2015). Black elderberry extract attenuates inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *British Journal of Nutrition*, 114(8), 1123–1131. <https://doi.org/10.1017/S0007114515002962>
 57. Salvador, Á. C., Król, E., Lemos, V.C., Santos, S.A.O., Bento, F.P.M.S., Costa, C.P., Almeida, A. et al. (2016). Effect of elderberry (Sambucus nigra L.) extract supplementation in STZ-induced diabetic rats fed with a high-fat diet. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), Article 13. <https://doi.org/10.3390/ijms18010013>
 58. Farrell, N., Norris, G., Lee, S.G., Chun, O.K., Blesso, C.N. (2015). Anthocyanin-rich black elderberry extract improves markers of HDL function and reduces aortic cholesterol in hyperlipidemic mice. *Food and Function*, 6(4), 1278–1287. <https://doi.org/10.1039/c4fo01036a>
 59. Opris, R., Tatmir, C., Olteanu, D., Moldovan, R., Moldovan, B., David, L. et al. (2017). The effect of Sambucus nigra L. extract and phytosynthesized gold nanoparticles on diabetic rats. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 150, 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.11.033>
 60. Karthick, V., Kumar, V.G., Dhas, T.S., Singaravelu, G., Sadiq, A.M., Govindaraju, K. (2014). Effect of biologically synthesized gold nanoparticles on alloxan-induced diabetic rats — an in vivo approach. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 505–511. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.07.022>
 61. Badescu, L., Badulescu, O., Badescu, M., Ciocoiu, M. (2012). Mechanism by Sambucus nigra extract improves bone mineral density in experimen-

- tal diabetes. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, Article 848269. <https://doi.org/10.1155/2012/848269>
62. Cutrim, C. S., de Barroza, R.F., da Costa, P.M., Franco, R.M., Conte-Junior, C.A., Cortez, M.A.S. (2016). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 during manufacture and storage of traditional and low lactose yogurt. *LWT*, 70, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.047>
 63. Mattila, P., Kumpulainen, J. (2002). Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (13), 3660–3667. <https://doi.org/10.1021/jf020028p>
 64. Stanković, M., Maksimović, S., Tadić, V., Arsić, I. (2018). The oil content of wild fruits from different plant species obtained by conventional Soxhlet extraction technique. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 35(3), 193–199. <https://doi.org/10.2478/afmna-2018-0021>
 65. Kowalska, G., Wyrostek, J., Kowalski, R., Pankiewicz, U. (2021). Evaluation of glycerol usage for the extraction of anthocyanins from black chokeberry and elderberry fruit. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 22, Article 100296. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100296>
 66. Gullón, B., Lú-Chau, T.A., Moreira, M.T., Lema, J.M., Eibes, G. (2017). Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in Food Science and Technology*, 67, 220–235. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.008>
 67. Suwal, S., Marciniak, A. (2018). Technologies for the extraction, separation and purification of polyphenols — A Review. *Nepal Journal of Biotechnology*, 6(1), 74–91. <https://doi.org/10.3126/njb.v6i1.22341>
 68. Domínguez, R., Zhang, L., Rocchetti, G., Lucini, L., Pateiro, M., Munekata, P.E.S. et al. (2020). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) as potential source of antioxidants. Characterization, optimization of extraction parameters and bioactive properties. *Food Chemistry*, 330, Article 127266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127266>
 69. Salvador, A. C., Rocha, S.M., Silvestre, A.J.D. (2015). Lipophilic phytochemicals from elderberries (*Sambucus nigra* L.): Influence of ripening, cultivar and season. *Industrial Crops and Products*, 71, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.082>
 70. El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E.H.A., Casabianca, H. et al. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1–2), 220–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
 71. Ağalar, H. G., Demirci, B., Demirci, F., Kırimer, N. (2017). The volatile compounds of the elderflowers extract and the essential oil. *Records of Natural Products*, 11(5), 491–496. <http://doi.org/10.25135/rnp.63.16.08.058>
 72. Ali Redha, A., Siddiqui, S.A., Ibrahim, S.A. (2021). Advanced extraction techniques for Berberis species phytochemicals: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5485–5496. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15315>
 73. Belwal, T., Bhatt, I.D., Rawal, R.S., Pande, V. (2017). Microwave-assisted extraction (MAE) conditions using polynomial design for improving antioxidant phytochemicals in *Berberis asiatica* Roxb. ex DC. leaves. *Industrial Crops and Products*, 95, 393–403. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.049>
 74. Mota, A. H., Andrade, J.M., Ntungwe, E.N., Pereira, P., Cebola, M.J., Bernardo-Gil, M.G. et al. (2020). Green extraction of *Sambucus nigra* L. for potential application in skin nanocarriers. *Green Materials*, 8(4), 181–193. <https://doi.org/10.1680/jgrma.18.00074>
 75. Wen, L., Zhang, Z., Sun, D.-W., Sivagnanam, S.P., Tiwari, B.K. (2020). Combination of emerging technologies for the extraction of bioactive compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(11), 1826–1841. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1602823>
 76. Rodríguez Madrera, R., Suárez Valles, B. (2021). Analysis of cyanogenic compounds derived from mandelonitrile by ultrasound-assisted extrac-
 - tion and high-performance liquid chromatography in Rosaceae and *Sambucus* families. *Molecules*, 26(24), Article 7563. <https://doi.org/10.3390/molecules26247563>
 77. Zhu, Z., Chen, Z., Zhou, Q., Sun, D.-W., Chen, H., Zhao, Y. et al. (2018). Freezing efficiency and quality attributes as affected by voids in plant tissues during ultrasound-assisted immersion freezing. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1615–1626. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2103-8>
 78. Zhu, Z., Sun, D.-W., Zhang, Z., Li, Y., Cheng, L. (2018). Effects of micro-nano bubbles on the nucleation and crystal growth of sucrose and maltodextrin solutions during ultrasound-assisted freezing process. *LWT*, 92, 404–411. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.053>
 79. Kitrytė, V., Povilaitis, D., Kraujalienė, V., Šulniūtė, V., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R. (2017). Fractionation of sea buckthorn pomace and seeds into valuable components by using high pressure and enzyme-assisted extraction methods. *LWT — Food Science and Technology*, 85(Part B), 534–538. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.041>
 80. Kitrytė, V., Laurinavičienė, A., Syropas, M., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R. (2020). Modeling and optimization of supercritical carbon dioxide extraction for isolation of valuable lipophilic constituents from elderberry (*Sambucus nigra* L.) pomace. *Journal of CO₂ Utilization*, 35, 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.09.020>
 81. Nadar, S. S., Rao, P., Rathod, V.K. (2018). Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Research International*, 108, 309–330. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.006>
 82. Flores, E. (2017). Antioxidant extraction from elderberries (*Sambucus nigra* L. Subsp. *peruviana*) with ultrasound, microwave, enzymes, and maceration to obtain functional juices. *Informacion Tecnológica*, 28(1), 121–132. <http://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012> (In Spanish)
 83. Tamkutė, L., Liepuniūtė, R., Pukalskienė, M., Venskutonis, P.R. (2020). Recovery of valuable lipophilic and polyphenolic fractions from cranberry pomace by consecutive supercritical CO₂ and pressurized liquid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 159, Article 104755. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104755>
 84. Carvalho, I. T., Estevinho, B.N., Santos, L. (2016). Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products — a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 3(2), 109–119. <https://doi.org/10.1111/ics.12232>
 85. Estevinho, B. N., Carlan, I., Blaga, A., Rocha, F. (2016). Soluble vitamins (vitamin B12 and vitamin C) microencapsulated with different biopolymers by a spray drying process. *Powder Technology*, 289, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.11.019>
 86. Gonçalves, A., Estevinho, B.N., Rocha, F. (2016). Microencapsulation of vitamin A: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.001>
 87. Comunian, T. A., Ravanfar, R., Alcaine, S.D., Abbaspourrad, A. (2018). Water-in-oil-in-water emulsion obtained by glass microfluidic device for protection and heat-triggered release of natural pigments. *Food Research International*, 10, 945–951. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.008>
 88. Kanh, N., Regenstein, J.M., Surawang, S., Pitchakarn, P., Laokuldilok, T. (2021). Properties and kinetics of the in vitro release of anthocyanin-rich microcapsules produced through spray and freeze-drying complex coacervated double emulsions. *Food Chemistry*, 340, Article 127950. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127950>
 89. Casati, C. B., Baeza, R., Sánchez, V. (2019). Physicochemical properties and bioactive compounds content in encapsulated freeze-dried powders obtained from blueberry, elderberry, blackcurrant and maqui berry. *Journal of Berry Research*, 9(3), 431–447. <https://doi.org/10.3233/JBR-190409>

REFERENCES

1. Ważbińska, J. (2002). *Sambucus* for growers. *Szkółkarstwo*, 6, 29–30. (In Polish)
2. Vujanović, M., Majkić, T., Zengin, G., Beara, I., Cvetanović, A., Mahomoodally, F. M. et al. (2019). Advantages of contemporary extraction techniques for the extraction of bioactive constituents from black elderberry (*Sambucus nigra* L.) flowers. *Industrial Crops and Products*, 136, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.058>
3. Gomez Mattson, M. L., Corfield, R., Bajda, L., Pérez, O.E., Schebor, C., Salvatori, D. (2021). Potential bioactive ingredient from elderberry fruit: Process optimization for a maximum phenolic recovery, physicochemical characterization, and bioaccessibility. *Journal of Berry Research*, 11(1), 51–68. <https://doi.org/10.3233/JBR-200629>
4. Młynarczyk, K., Walkowiak-Tomczak, D., Łysiak, G.P. (2018). Bioactive properties of *Sambucus nigra* L. As a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. *Journal of Functional Foods*, 40, 377–390. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.025>
5. Młynarczyk, K., Walkowiak-Tomczak, D., Staniek, H., Kidoń, M., Łysiak, G.P. (2020). The Content of selected minerals, bioactive compounds, and the antioxidant properties of the flowers and fruit of selected cultivars and wild growing plants of *Sambucus nigra* L. *Molecules*, 25, Article 876. <https://doi.org/10.3390/molecules25040876>
6. Burak, L. Ch. (2022). Use of elder (*Sambucus nigra* L.) in the food industry: state and further prospects. Over-view. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*, 3, 49–69. <https://doi.org/10.14258/jcpm.20220310937> (In Russian)
7. Burak, L. Ch., Zavaley, A.P. (2021). Technology of production and quality assessment of direct-squeezed juice and concentrated elderberry growing in the Republic of Belarus. *Food Industry*, 11, 83–87. <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.11.11.001> (In Russian)
8. Abdel-Moneim, A.-M. E., Shehata, A.M., Alzahrani, S.O., Shafi, M.E., Mesalam, N.M., Taha, A.E. et al. (2020). The role of polyphenols in poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1851–1866. <https://doi.org/10.1111/jpn.13455>
9. Garavand, F., Madadlou, A., Moini, S. (2017). Determination of phenolic profile and antioxidant activity of pistachio hull using high-performance liquid chromatography-diode array detector-electro-spray ionization — mass spectrometry as affected by ultrasound and microwave. *International Journal of Food Properties*, 20(1), 19–29. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1099045>
10. Garavand, F., Rahae, S., Vahedikia, N., Jafari, S.M. (2019). Different techniques for extraction and micro/nanoencapsulation of saffron bioactive ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 89, 26–44. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.005>

11. Sobieralska, M., Kurek, M.A. (2019). Beta-glucan as wall material in encapsulation of elderberry (*Sambucus nigra*) extract. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(3), 334–341. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00741-x>
12. Paz, R., Fredes, C. (2015). The encapsulation of anthocyanins from berry-type fruits. *Trends in foods. Molecules*, 20(4), 5875–5888. <https://doi.org/10.3390/molecules20045875>
13. Moghaddam, M. H., Bayat, A.-H., Eskandari, N., Abdollahifar, M.-A., Fotouhi, F., Forouzannia, A. et al. (2021). Elderberry diet ameliorates motor function and prevents oxidative stress-induced cell death in rat models of Huntington disease. *Brain Research*, 1762, Article 147444. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147444>
14. Mesalam, N.M., Aldhumri, S.A., Gabr, S.A., Ibrahim, M.A., Al-Mokaddem, A.K., Abdel-Moneim, A.-M.E. (2021). Putative abrogation impacts of Ajwa seeds on oxidative damage, liver dysfunction and associated complications in rats exposed to carbon tetrachloride. *Molecular Biology Reports*, 48(6), 5305–5318. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06544-1>
15. Vujanovic, M., Majkic, T., Zengin, G., Beara, I., Tomovic, V., Sojici, B. et al. (2020). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) juice as a novel functional product rich in health-promoting compounds. *RSC Advances*, 10, 44805–44814. <https://doi.org/10.1039/d0ra09129d>
16. Senica, M., Stampar, F., Veberic, R., Mikulic-Petkovsek, M. (2017). The higher the better? Differences in phenolics and cyanogenic glycosides in *Sambucus nigra* leaves, flowers and berries from different altitudes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2623–2632. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8085>
17. Aliakbarian, B., Paini, M., Casazza, A.A., Perego, P. (2015). Effect of encapsulating agent on physical-chemical characteristics of olive pomace polyphenols-rich extracts. *Chemical Engineering Transactions*, 43, 97–102. <https://doi.org/10.3303/ceet1545017>
18. Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A. et al. (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 452–490. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9106-7>
19. Bakowska-Barczak, A. M., Kolodziejczyk, P. P. (2011). Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1301–1309. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.002>
20. Aguiar, J., Estevinho, B. N., Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application — The specific case of coffee antioxidants — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 58, 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
21. Wahab, N. A., Rahman, R.A., Ismail, A., Mustafa, S., Hashim, P. (2014). Assessment of antioxidant capacity, anti-collagenase and anti-elastase assays of Malaysian unfermented cocoa bean for cosmetic application. *Natural Products Chemistry and Research*, 2(3), Article 1000132. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000132>
22. Ghimeray, A. K., Jung, U., Lee, H., Kim, Y., Ryu, E., Chang, M. (2015). In vitro antioxidant, collagenase inhibition, and in vivo anti-wrinkle effects of combined formulation containing Punica granatum, Ginkgo biloba, Ficus carica, and Morus alba fruits extract. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 8, 389–396. <https://doi.org/10.2147/CCID.S80906>
23. Perse, M. (2013). Oxidative stress in the pathogenesis of colorectal cancer: cause or consequence? *BioMed Research International*, 2013, Article 725710. <https://doi.org/10.1155/2013/725710>
24. Olejnik, A., Olkowicz, M., Kowalska, K., Rychlik, J., Dembczyński, R., Myszk, K. et al. (2016). Gastrointestinal digested *Sambucus nigra* L. fruit extract protects in vitro cultured human colon cells against oxidative stress. *Food Chemistry*, 197(Part A), 648–657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.017>
25. Sidor, A., Gramza-Michałowska, A. (2015). Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (*Sambucus nigra*) in food—a review. *Journal of Functional Foods*, 18(Part B), 941–958. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.012>
26. Hidalgo, M., Oruna-Concha, M.J., Kolida, S., Walton, G.E., Kallithraka, S., Jeremy P. E. Spencer, J.P.E. et al. (2012). Metabolism of anthocyanins by human gut microflora and their influence on gut bacterial growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(15), 3882–3890. <https://doi.org/10.1021/jf3002153>
27. Lila, M. A., Ribnicky, D.M., Rojo, L.E., Rojas-Silva, P., Oren, A., Havenaar, R., Janle, E.M. et al. (2012). Complementary approaches to gauge the bioavailability and distribution of ingested berry polyphenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5763–5771. <https://doi.org/10.1021/jf203526h>
28. Olejnik, A., Kowalska, K., Olkowicz, M., Rychlik, J., Juzwa, W., Myszk, K. et al. (2015). Anti-inflammatory effects of gastrointestinal digested *Sambucus nigra* L. fruit extract analysed in co-cultured intestinal epithelial cells and lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Journal of Functional Foods*, 19(Part A), 649–660. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.064>
29. Frøkiær, H., Henningsen, L., Metzendorf, B.S., Weiss, G., Roller, M., Flanagan, J. et al. (2012). Astragalus root and elderberry fruit extracts enhance the IFN- β stimulatory effects of *Lactobacillus acidophilus* in murine-derived dendritic cells. *PLoS One*, 7(10), Article e47878. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047878>
30. Pliszka, B., Wazbinska, J., Puczel, U., Huszcza-Ciołkowska, G. (2005). Biologically active polyphenolic compounds in elderberries of different cultivated varieties and wild-growing forms. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 507(2), 443–449. (In Polish)
31. Przybylska-Balcerek, A., Szablewski, T., Sz wajkowska-Michalek, L., Świerk, D., Cegielska-Radziejewska, R., Krejpcio, Z. et al. (2021). *Sambucus nigra* extracts — Natural antioxidants and antimicrobial compounds. *Molecules*, 26(10), Article 2910. <https://doi.org/10.3390/molecules26102910>
32. Boroduske, A., Jakabsons, K., Riekstina, U., Muceniece, R., Rostoks, N., Nakurte, I. (2021). Wild *Sambucus nigra* L. from north-east edge of the species range: A valuable germplasm with inhibitory capacity against SARS-CoV2 S-protein RBD and hACE2 binding in vitro. *Industrial Crops and Products*, 165, Article 113438. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113438>
33. Gleńsk, M., Gliński, J.A., Włodarczyk, M., Stefanowicz, P. (2014). Determination of ursolic and oleanolic acid in *Sambucus nigra*. *Chemistry and Biodiversity*, 11(12), 1939–1944. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201400118>
34. Caroline, H., Mccollum, G.A., Nelson, D., Ballard, L.M., Millar, C., Goldsmith, C. et al. (2010). Antibacterial activity of elder (*Sambucus nigra* L.) flower or berry against hospital pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17), 1805–1809. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.147>
35. Chatterjee, A., Yasmin, T., Bagchi, D., Stohs, S.J. (2004). Inhibition of *Helicobacter pylori* in vitro by various berry extracts, with enhanced susceptibility to clarithromycin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 265(1–2), 19–26. <https://doi.org/10.1023/B:MCBI.0000044310.92444.ec>
36. Krawitz, C., Mraheil, M.A., Stein, M., Imirzalioglu, C., Domann, E., Pleisch, S. et al. (2011). Inhibitory activity of a standardized elderberry liquid extract against clinically-relevant human respiratory bacterial pathogens and influenza A and B viruses. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), Article 16. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-16>
37. Chen, C., Zuckerman, D.M., Susanna Brantley, Michka Sharpe, Kevin Childress, Egbert Hoiczky, et al. (2014). *Sambucus nigra* extracts inhibit infectious bronchitis virus at an early point during replication. *BMC Veterinary Research*, 10(1), Article 24. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-24>
38. Roschek, Jr. B., Fink, R.C., McMichael, M.D., Li, D., Alberte, R.S. (2009). Elderberry flavonoids bind to and prevent H1N1 infection in vitro. *Phytochemistry*, 70(10), 1255–1261. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.06.003>
39. Hawkins, J., Baker, C., Cherry, L., Dunne, E. (2019). Black elderberry (*Sambucus nigra*) supplementation effectively treats upper respiratory symptoms: A meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 42, 361–365. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.12.004>
40. Tiralongo, E., Wee, S. S., Lea, R. A. (2016). Elderberry supplementation reduces cold duration and symptoms in air-travellers: A randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *Nutrients*, 8(4), Article 182. <https://doi.org/10.3390/nu8040182>
41. Zakay-Rones, Z., Varsano, N., Zlotnik, M., Manor, O., Regev, L., Schlesinger, M. et al. (1995). Inhibition of several strains of influenza virus in vitro and reduction of symptoms by an elderberry extract (*Sambucus nigra* L.) during an outbreak of influenza B Panama. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 1(4), 361–369. <https://doi.org/10.1089/acm.1995.1.361>
42. Kinoshita, E., Hayashi, K., Katayama, H., Hayashi, T., Obata, A. (2012). Anti-influenza virus effects of elderberry juice and its fractions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76(9), 1633–1639. <https://doi.org/10.1271/bbb.120112>
43. Hidari, K. I. P., Abe, T., Suzuki, T. (2013). Carbohydrate — related inhibitors of dengue virus entry. *Viruses*, 5(2), 605–618. <https://doi.org/10.3390/v5020605>
44. McCutcheon, A. R., Roberts, T.E., Gibbons, E., Ellis, S.M., Babiuk, L.A., Hancock, R.E. et al. (1995). Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 49(2), 101–110. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(95\)90037-3](https://doi.org/10.1016/0378-8741(95)90037-3)
45. Van der Meer, F., de Haan, C.A.M., Schuurman, N.M.P., Haijema, B.J., Verheije, M.H., Bosch, B.J. et al. (2007). The carbohydrate-binding plant lectins and the non-peptidic antibiotic pradiimin A target the glycans of the coronavirus envelope glycoproteins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(4), 741–749. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm301>
46. Graham, D. R. M., Chertova, E., Hilburn, J.M., Arthur, L.O., Hildreth, J.E.K. (2003). Cholesterol depletion of human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus with beta-cyclodextrin inactivates and permeabilizes the virions: evidence for virion-associated lipid rafts. *Journal of Virology*, 77(15), 8237–8248. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.15.8237-8248.2003>
47. Bartak, M., Lange, A., Stońska, A., Cymerys, J. (2020). Antiviral and healing potential of *Sambucus nigra* extracts. *Revista Bionatura*, 5(3), 1264–1270. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2020.05.03.18>
48. Rechenchoski, D. Z., Faccin-Galhardi, L.C., Linhares, R.E.C., Nozawa, C. (2017). Herpesvirus: an underestimated virus. *Folia Microbiologica (Praha)*, 62(2), 151–156. <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0482-7>
49. Harnett, J., Oakes, K., Carè, J., Leach, M., Brown, D., Cramer, H. et al. (2020). The effects of *Sambucus nigra* berry on acute respiratory viral infections: A rapid review of clinical studies. *Advances in Integrative Medicine*, 7(4), 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.aimed.2020.08.001>
50. Kronbichler, A., Effenberger, M., Eisenhut, M., Lee, K.H., Shin, J.I. (2020). Seven recommendations to rescue the patients and reduce the mortality from COVID-19 infection: An immunological point of view. *Autoimmunity Reviews*, 19(7), Article 102570. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102570>

51. Silveira, D., Prieto-Garcia, J.M., Boylan, F., Estrada, O., Fonseca-Bazzo, Y.M., Jamal, C.M. et al. (2020). COVID-19: is there evidence for the use of herbal medicines as adjuvant symptomatic therapy? *Frontiers in Pharmacology*, 11, Article 581840. 1479. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.581840>
52. Ho, G. T. T., Kase, E.T., Wangenstein, H., Barsett, H. (2017). Phenolic elderberry extracts, anthocyanins, procyanidins, and metabolites influence glucose and fatty acid uptake in human skeletal muscle cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(13), 2677–2685. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05582>
53. Manna, P., Jain, S. K. (2015). Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 13(10), 423–444. <https://doi.org/10.1089/met.2015.0095>
54. Matsuda, M., Shimomura, I. (2013). Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obesity Research and Clinical Practice*, 7(5), e330–e341. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2013.05.004>
55. Zielińska-Wasielica, J., Olejnik, A., Kowalska, K., Olkiewicz, M., Dembczyński, R. (2019). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) fruit extract alleviates oxidative stress, insulin resistance, and inflammation in hypertrophied 3T3-L1 adipocytes and activated RAW 264.7 macrophages. *Foods*, 8(8), Article 326. <https://doi.org/10.3390/foods8080326>
56. Farrell, N. J., Norris, G.H., Ryan, J., Porter, C.M., Jiang, C., Blesso, C.N. (2015). Black elderberry extract attenuates inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *British Journal of Nutrition*, 114(8), 1123–1131. <https://doi.org/10.1017/S0007114515002962>
57. Salvador, A. C., Król, E., Lemos, V.C., Santos, S.A.O., Bento, F.P.M.S., Costa, C.P., Almeida, A. et al. (2016). Effect of elderberry (*Sambucus nigra* L.) extract supplementation in STZ-induced diabetic rats fed with a high-fat diet. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), Article 13. <https://doi.org/10.3390/ijms18010013>
58. Farrell, N., Norris, G., Lee, S.G., Chun, O.K., Blesso, C.N. (2015). Anthocyanin-rich black elderberry extract improves markers of HDL function and reduces aortic cholesterol in hyperlipidemic mice. *Food and Function*, 6(4), 1278–1287. <https://doi.org/10.1039/c4fo01036a>
59. Opris, R., Tatomir, C., Olteanu, D., Moldovan, R., Moldovan, B., David, L. et al. (2017). The effect of *Sambucus nigra* L. extract and phytosynthesized gold nanoparticles on diabetic rats. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 150, 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.11.033>
60. Karthick, V., Kumar, V.G., Dhas, T.S., Singaravelu, G., Sadiq, A.M., Govindaraju, K. (2014). Effect of biologically synthesized gold nanoparticles on alloxan-induced diabetic rats – an in vivo approach. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 505–511. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.07.022>
61. Badescu, L., Badulescu, O., Badescu, M., Ciocoiu, M. (2012). Mechanism by *Sambucus nigra* extract improves bone mineral density in experimental diabetes. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, Article 848269. <https://doi.org/10.1155/2012/848269>
62. Cutrim, C. S., de Barros, R.F., da Costa, P.M., Franco, R.M., Conte-Junior, C.A., Cortez, M.A.S. (2016). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 during manufacture and storage of traditional and low lactose yogurt. *LWT*, 70, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.047>
63. Mattila, P., Kumpulainen, J. (2002). Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (13), 3660–3667. <https://doi.org/10.1021/jf020028p>
64. Stanković, M., Maksimović, S., Tadić, V., Arsić, I. (2018). The oil content of wild fruits from different plant species obtained by conventional Soxhlet extraction technique. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 35(3), 193–199. <https://doi.org/10.2478/afmna-2018-0021>
65. Kowalska, G., Wyrostek, J., Kowalski, R., Pankiewicz, U. (2021). Evaluation of glycerol usage for the extraction of anthocyanins from black chokeberry and elderberry fruit. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 22, Article 100296. <https://doi.org/10.1016/j.jar-map.2021.100296>
66. Gullón, B., Lú-Chau, T.A., Moreira, M.T., Lema, J.M., Eibes, G. (2017). Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in Food Science and Technology*, 67, 220–235. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.008>
67. Suwal, S., Marciniak, A. (2018). Technologies for the extraction, separation and purification of polyphenols – A Review. *Nepal Journal of Biotechnology*, 6(1), 74–91. <https://doi.org/10.3126/njb.v6i1.22341>
68. Domínguez, R., Zhang, L., Rocchetti, G., Lucini, L., Pateiro, M., Munekata, P.E.S. et al. (2020). Elderberry (*Sambucus nigra* L.) as potential source of antioxidants. Characterization, optimization of extraction parameters and bioactive properties. *Food Chemistry*, 330, Article 127266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127266>
69. Salvador, A. C., Rocha, S.M., Silvestre, A.J.D. (2015). Lipophilic phytochemicals from elderberries (*Sambucus nigra* L.): Influence of ripening, cultivar and season. *Industrial Crops and Products*, 71, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.082>
70. El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E.H.A., Casabianca, H. et al. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1–2), 220–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
71. Ağalar, H. G., Demirci, B., Demirci, F., Kirmer, N. (2017). The volatile compounds of the elderflowers extract and the essential oil. *Records of Natural Products*, 11(5), 491–496. <http://doi.org/10.25135/rnp.63.16.08.058>
72. Ali Redha, A., Siddiqui, S.A., Ibrahim, S.A. (2021). Advanced extraction techniques for *Berberis* species phytochemicals: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5485–5496. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15315>
73. Belwal, T., Bhatt, I.D., Rawal, R.S., Pande, V. (2017). Microwave-assisted extraction (MAE) conditions using polynomial design for improving antioxidant phytochemicals in *Berberis asiatica* Roxb. ex DC. leaves. *Industrial Crops and Products*, 95, 393–403. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.049>
74. Mota, A. H., Andrade, J.M., Ntungwe, E.N., Pereira, P., Cebola, M.J., Bernardo-Gil, M.G. et al. (2020). Green extraction of *Sambucus nigra* L. for potential application in skin nanocarriers. *Green Materials*, 8(4), 181–193. <https://doi.org/10.1680/jgrma.18.00074>
75. Wen, L., Zhang, Z., Sun, D.-W., Sivagnanam, S.P., Tiwari, B.K. (2020). Combination of emerging technologies for the extraction of bioactive compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(11), 1826–1841. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1602823>
76. Rodríguez Madrera, R., Suárez Valles, B. (2021). Analysis of cyanogenic compounds derived from mandelonitrile by ultrasound-assisted extraction and high-performance liquid chromatography in Rosaceae and *Sambucus* families. *Molecules*, 26(24), Article 7563. <https://doi.org/10.3390/molecules26247563>
77. Zhu, Z., Chen, Z., Zhou, Q., Sun, D.-W., Chen, H., Zhao, Y. et al. (2018). Freezing efficiency and quality attributes as affected by voids in plant tissues during ultrasound-assisted immersion freezing. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1615–1626. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2103-8>
78. Zhu, Z., Sun, D.-W., Zhang, Z., Li, Y., Cheng, L. (2018). Effects of micro-nano bubbles on the nucleation and crystal growth of sucrose and maltodextrin solutions during ultrasound-assisted freezing process. *LWT*, 92, 404–411. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.053>
79. Kitrytė, V., Povilaitis, D., Kraujalienė, V., Šulniūtė, V., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R. (2017). Fractionation of sea buckthorn pomace and seeds into valuable components by using high pressure and enzyme-assisted extraction methods. *LWT – Food Science and Technology*, 85(Part B), 534–538. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.041>
80. Kitrytė, V., Laurinavičienė, A., Syropas, M., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R. (2020). Modeling and optimization of supercritical carbon dioxide extraction for isolation of valuable lipophilic constituents from elderberry (*Sambucus nigra* L.) pomace. *Journal of CO₂ Utilization*, 35, 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.09.020>
81. Nadar, S. S., Rao, P., Rathod, V.K. (2018). Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Research International*, 108, 309–330. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.006>
82. Flores, E. (2017). Antioxidant extraction from elderberries (*Sambucus nigra* L. Subsp. *peruviana*) with ultrasound, microwave, enzymes, and maceration to obtain functional juices. *Informacion Tecnológica*, 28(1), 121–132. <http://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012> (In Spanish)
83. Tamkutė, L., Liepuoniūtė, R., Pukalskienė, M., Venskutonis, P.R. (2020). Recovery of valuable lipophilic and polyphenolic fractions from cranberry pomace by consecutive supercritical CO₂ and pressurized liquid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 159, Article 104755. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104755>
84. Carvalho, I. T., Estevinho, B.N., Santos, L. (2016). Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products – a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 3(2), 109–119. <https://doi.org/10.1111/ics.12232>
85. Estevinho, B. N., Carlan, I., Blaga, A., Rocha, F. (2016). Soluble vitamins (vitamin B12 and vitamin C) microencapsulated with different biopolymers by a spray drying process. *Powder Technology*, 289, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.11.019>
86. Gonçalves, A., Estevinho, B.N., Rocha, F. (2016). Microencapsulation of vitamin A: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.001>
87. Comunian, T. A., Ravanfar, R., Alcaide, S.D., Abbaspourrad, A. (2018). Water-in-oil-in-water emulsion obtained by glass microfluidic device for protection and heat-triggered release of natural pigments. *Food Research International*, 10, 945–951. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.008>
88. Kanha, N., Regenstein, J.M., Surawang, S., Pitchakarn, P., Laokuldilok, T. (2021). Properties and kinetics of the in vitro release of anthocyanin-rich microcapsules produced through spray and freeze-drying complex coacervated double emulsions. *Food Chemistry*, 340, Article 127950. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127950>
89. Casati, C. B., Baeza, R., Sánchez, V. (2019). Physicochemical properties and bioactive compounds content in encapsulated freeze-dried powders obtained from blueberry, elderberry, blackcurrant and maqui berry. *Journal of Berry Research*, 9(3), 431–447. <https://doi.org/10.3233/JBR-190409>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Бурак Леонид Чеславович — кандидат технических наук, директор, Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛПРОСАКВА» 220118, Республика Беларусь, Минск, ул. Шаранговича, 19, офис 718 Тел.: +37517-379-51-61 E-mail: leonidburak@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6613-439X * автор для контактов	Leonid Ch. Burak, Candidate of Technical Sciences, Director, BELROSAKVA Limited Liability Company 19, Sharangovich str., Minsk, 220018 Republic of Belarus Tel.: +37517-379-51-61 E-mail: leonidburak@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6613-439X * corresponding author
Сапач Александр Николаевич — инженер-химик, Общество с ограниченной ответственностью «БЕЛПРОСАКВА» 220118, Республика Беларусь, Минск, ул. Шаранговича, 19, офис 718 Тел.: +37517-379-51-61 E-mail: aleksandr@belrosakva.by ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8579-2689	Alexander N. Sapach, Chemist, BELROSAKVA Limited Liability Company 19, Sharangovich str., Minsk, 220018 Republic of Belarus Tel.: +37517-379-51-61 E-mail: aleksandr@belrosakva.by ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8579-2689
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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-95-102>

Поступила 05.12.2022

Поступила после рецензирования 10.03.2023

Принята в печать 14.03.2023

© Самойлов А. В., Сураева Н. М., Зайцева М. В., 2023



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

Научная статья

Open access

ОЦЕНКА ПОСЛЕДСТВИЙ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПИЩЕВЫХ ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Самойлов А. В.,* Сураева Н. М., Зайцева М. В.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

аспартам, ацесульфам калия,
биотестирование, биомаркеры,
безопасность

АННОТАЦИЯ

Аспартам и ацесульфам калия входят в группу наиболее известных пищевых подсластителей. Несмотря на многочисленные результаты исследований, свидетельствующие о безопасности этих добавок, в последние годы внимание исследователей сосредоточено на побочных негативных эффектах их воздействия, способных приводить к развитию неинфекционных заболеваний. Цель данного исследования — изучение характера воздействия (обратимое или необратимое) аспартама и ацесульфам калия на прирост массы, а также на цитологические, цитогенетические и метаболические показатели корней лука репчатого. Для этого корни предварительно обрабатывались 0,5 и 1 г/л водными растворами подсластителей, а затем переносились в воду с целью дальнейшего восстановительного проращивания. Последствия токсического эффекта аспартама на прирост массы корней лука оказались минимальными по сравнению с контролем. Тогда как в образцах с ацесульфамом калия этот показатель достоверно и дозозависимо снижался до 38%, что указывало на наличие отсроченного эффекта после воздействия этого подсластителя. В опытных группах с максимальным содержанием подсластителей сохранялся и более низкий митотический индекс ($p \leq 0,05$) в клетках меристемы по сравнению с контролем. Полученные результаты свидетельствовали о необратимом митотоксическом эффекте данных соединений. Однако обнаруженное в опытных образцах повышение частоты патологий митоза вследствие предварительной обработки подсластителями полностью нивелировалось после восстановительного проращивания. Поэтому указанные генотоксические нарушения были обратимыми. Для оценки процессов липидного окисления тканей корней измеряли концентрацию малонового диальдегида. Эффект снижения уровня этого показателя во всех опытных образцах по сравнению с контролем оказался необратимым, хотя и не дозозависимым. Полученные результаты могут быть использованы при разработке рецептур внесения пищевых подсластителей в продукты питания для снижения рисков возникновения отсроченных токсических эффектов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № 0585-2019-00014-С-04 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 05.12.2022

Accepted in revised 10.03.2023

Accepted for publication 14.03.2023

© Samoylov A. V., Suraeva N. M., Zaytseva M. V., 2023

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

Original scientific article

Open access

EVALUATING THE CONSEQUENCES OF THE TOXIC EFFECTS OF FOOD SWEETENERS WITH BIOASSAY

Artyom V. Samoylov*, Natalya M. Suraeva, Mariya V. Zaytseva

Russian Research Institute of Canning Technology, Moscow Region, Russia

KEY WORDS:

aspartame, acesulfame potassium,
bioassay, biomarkers, safety

ABSTRACT

Aspartame and acesulfame potassium are among the best known food sweeteners. Despite numerous studies showing the safety of these supplements, in recent years the attention of researchers has been focused on the negative side effects of their exposure, which can lead to the development of non-communicable diseases. The aim of this investigation was to study the nature of the impact (reversible or irreversible) of aspartame and acesulfame potassium on weight gain, as well as cytological, cytogenetic and metabolic parameters of onion roots. Roots were pre-treated with 0.5 and 1 g/l aqueous solutions of sweeteners, and then they were transferred to water for the purpose of further regenerative germination. The consequences of the toxic effect of aspartame on the weight gain of onion roots were minimal compared to the control. This indicator significantly and dose-dependently decreased to 38% in the samples with acesulfame potassium, which shows the presence of a delayed effect after exposure to this sweetener. In the experimental groups with the maximum content of sweeteners, a lower mitotic index ($p \leq 0.05$) in the meristem cells was also maintained compared to the control. The results obtained indicated an irreversible mitotoxic effect of these compounds. However, an increase in the frequency of mitosis pathologies found in the experimental samples due to pre-treatment with sweeteners was completely leveled after regenerative germination. Therefore, these genotoxic disorders were reversible.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Самойлов, А. В., Сураева, Н. М., Зайцева, М. В. (2023). Оценка последствий токсических эффектов пищевых подсластителей методом биотестирования. *Пищевые системы*, 6(1), 95-102. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-95-102>

FOR CITATION: Samoylov, A. V., Suraeva, N. M., Zaytseva, M. V. (2023). Evaluation of the consequences of the toxic effects of food sweeteners with bioassay. *Food Systems*, 6(1), 95-102. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-95-102>

To assess the processes of lipid oxidation of root tissues, the concentration of malondialdehyde was measured. The effect of reducing the level of this indicator in all experimental samples compared with the control turned out to be irreversible, although not dose-dependent. The results obtained can be used in the development of formulations for adding food sweeteners to food products to reduce the risk of delayed toxic effects.

FUNDING: The article was published as part of the research topic № 0585–2019–00014-C-04 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Искусственные подсластители относятся к пищевым добавкам и широко используются во многих продуктах питания в качестве заменителей натуральных сахаров. Однако эти добавки могут иметь неблагоприятные последствия для здоровья, поэтому проводятся токсикологические исследования с целью разработки или переоценки нормативов их содержания в продовольственной продукции. Так, на основе новых научных данных о негативных эффектах в законодательстве некоторых стран были приняты акты о запрете использования определенных подсластителей, например, цикламата. Различные исследования выявили связь потребления подсластителей и искусственно подслащенных напитков с повышением риска возникновения избыточного веса, ожирением, метаболическим синдромом и диабетом 2-го типа [1,2]. Недавно была опубликована работа, в которой представлен мета-анализ проспективных когортных исследований, проведенных для выявления взаимосвязи потребления искусственно подслащенных напитков с риском развития диабета 2-го типа, сердечно-сосудистых заболеваний, а также со смертностью по различным причинам [3]. Поиск статей, вышедших до 20 июня 2020 года, был осуществлен в таких базах данных, как PubMed, Embase и Ovid. Результаты проведенного анализа показали, что увеличение потребления подслащенных напитков связано с вышеуказанными рисками заболеваний и смертностью. В другом крупномасштабном проспективном когортном исследовании оценивали риск сердечно-сосудистых заболеваний при употреблении с продуктами питания аспартама или ацесульфам калия [4]. Оказалось, что применение аспартама было связано с повышенным риском цереброваскулярных событий, а потребление ацесульфам калия — с повышенным риском развития ишемической болезни сердца. Однако также известны данные крупных обсервационных исследований, результаты которых противоречили указанным выше выводам. При участии в проспективном когортном исследовании 37716 мужчин было обнаружено, что потребление искусственно подслащенных напитков не было связано с риском повышения смертности [5].

Аспартам и ацесульфам калия входят в группу наиболее популярных пищевых добавок, которые применяют вместо фруктозы и глюкозы при изготовлении различных пищевых продуктов, а именно безалкогольных напитков, кондитерских изделий, йогуртов, десертов. Ацесульфам калия, в отличие от аспартама, не содержит калорий. Эти добавки считаются безопасными в соответствии с нормативными актами большинства стран, в которых предусмотрены допустимые нормы их содержания в продуктах. В Российской Федерации максимальный уровень содержания аспартама и ацесульфам калия в определенных продуктах может составлять до 2 г/кг. Тем не менее на протяжении всего периода применения этих подсластителей публикуются статьи как об отсутствии, так и о наличии неблагоприятных физиологических, метаболических и генотоксических эффектов их воздействия на моделях *in vitro* и *in vivo* [6]. Так, токсические потенциалы аспартама и ацесульфам калия были оценены в исследованиях на дрозофиле [7]. Ученые пришли к заключению, что указанные подсластители были безопасными в анализиру-

емых концентрациях, поскольку токсичность и генотоксичность не были значительно индуцированы у мух. В обзоре 2021 года на основании многочисленных исследований *in vivo* или *in vitro* был проанализирован генотоксический потенциал этих добавок с точки зрения следующих рисков: наличие мутаций, кластогенность и/или анеугенность, а также изменения в механизмах репарации ДНК или экспрессии генов [8]. Авторы сообщили об отрицательных результатах по всем вышеуказанным видам оценки. С другой стороны, известна работа [9], в которой после обработки этими соединениями клеток периферических лимфоцитов человека в трех дозах (1,25, 2,5 и 5 ppm) с помощью метода комет был зафиксирован генотоксический эффект.

Необходимо отметить, что при частом употреблении продуктов, содержащих подсластители, данные вещества или продукты их распада могут накапливаться в организме, вызывая развитие неинфекционных заболеваний. Особенно такому риску подвержены пожилые люди, беременные женщины, дети, лица с выявленными патологиями или генетическими изменениями. Так, например, ацесульфам калия при гидролизе разлагается до ацетоацетамида, который является токсичным в высоких дозах. Поэтому в последние годы внимание исследователей сосредоточено главным образом на механизмах изучения побочных, отсроченных во времени эффектов воздействия пищевых добавок. В случае необратимости данных эффектов возникает большая вероятность появления биомаркеров нарушения физиологических и биохимических изменений в тех или иных обменных процессах и в работе органов человека.

В экспериментах на самцах мышей штамма ddY был изучен механизм длительного влияния ацесульфам калия на увеличение потребления воды, а также на снижение краткосрочных и объектных когнитивных функций в тестах Y-лабиринта и распознавания новых объектов, соответственно. Оказалось, что перечисленные негативные эффекты были связаны со снижением уровня глюкозы в лобной коре, но не в плазме [10]. Известны эксперименты на самцах мышей C57BL/6J, которые получали питьевую воду с ацесульфамом калия (12,5 мМ) на протяжении всей беременности [11]. Ученые периодически анализировали их массу тела, потребляемую пищу и количество воды, проводили пероральный тест на толерантность к глюкозе, а также изучали морфологию жировой ткани. Было показано, что потребление этого подсластителя вызывало метаболическую дисфункцию у беременных мышей, снижение роста плода и его гипогликемию. Похожие исследования были проведены с аспартамом [12]. Группа самок крыс получала аспартам в дозе 14 мг/кг на 9-й, 10-й и 11-й день беременности. Оказалось, что аспартам значительно снижал средний вес плаценты и способствовал повреждению ее клеток. Кроме того, выявились негативные изменения в структурах плода.

Была проведена работа целью изучения влияния аспартама на репродуктивную систему у самцов мышей [13]. Три группы получали аспартам в дозах 40, 80 и 160 мг/кг веса через желудочный зонд в течение 90 дней. Через сутки после прекращения обработок оценивали массу тела и яичек, параметры сперматозоидов, концентрацию тестостерона в сыворотке крови, общую антиоксидантную емкость

и уровни малонового диальдегида, активность в крови антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT) и глутатионпероксидазы (GSH-Px)), гистоморфометрические показатели и гистохимические изменения яичек, а также мРНК и иммуногистохимическую экспрессию Hsp70–2 в тканях яичка. Указанные показатели в опытных группах отличались от аналогичных данных в контрольной группе. Авторы пришли к выводу, что длительное потребление аспартама привело к репродуктивным повреждениям у самцов мышей в результате индукции окислительного стресса. Влияние аспартама на развитие эмбрионов рыбки данио (*Danio rerio*) в концентрациях 10 000, 15 000, 20 000 мг/л также было связано с заметными негативными изменениями, такими как задержка роста, деформация хвостов, желточного мешка, хвоста, отсутствие пигментации и сколиоз у развивающихся эмбрионов [14]. Однако более серьезный довод в отношении ограничения употребления данной добавки связан с продуктом его распада, формальдегидом, который обладает канцерогенным потенциалом. Так, была опубликована работа, в которой аспартам добавляли в корм крысам Sprague-Dawley в концентрациях 100 000, 50 000, 10 000, 2000, 400, 80 или 0 ppm, начиная с 8-недельного возраста и до естественной смерти [15]. Затем проводили гистопатологическую оценку всех органов и тканей. Результаты этого большого эксперимента показали, что аспартам является мультипотенциальным канцерогенным соединением даже при суточной дозе 20 мг/кг массы тела, которая значительно меньше текущей допустимой суточной нормы. Авторы статьи пришли к заключению о необходимости неотложной переоценки нынешних руководящих принципов использования и потребления данного подсластителя.

Высшие растения также используются в качестве биоиндикаторов для оценки необратимых токсичных эффектов пищевых добавок. Растительные тесты удобны в исполнении, краткосрочны и не уступают по чувствительности микробиологическим и животным моделям, а их результаты коррелируют между собой [16]. Наиболее известным является *Allium*-тест, в котором в качестве тест-объекта используются корни лука репчатого *Allium cepa*. Эта модель традиционно применяется при исследовании генотоксического воздействия загрязняющих веществ окружающей среды, таких как тяжелые металлы, пестициды, органические соединения сточных вод и другие [17–19]. Однако в последние десятилетия *Allium*-тест зарекомендовал себя в качестве эффективной *in vivo* модели для изучения различных биомаркеров токсичности медицинских препаратов на основе лекарственных трав [20], а также пищевых добавок [21–23]. Более того, с помощью этого теста, по сравнению, например, с экспериментами на лабораторных животных, можно быстро, с высокой чувствительностью, без существенных материальных затрат исследовать развитие побочных эффектов воздействия ксенобиотиков на предмет их обратимости [24–26].

Целью данной работы является изучение последствий воздействия подсластителей аспартама и ацесульфама калия на цитологические, цитогенетические и метаболические показатели корней *Allium cepa*.

2. Объекты и методы

В работе были использованы подсластители ацесульфам калия (Thermo Fisher Scientific, США) и аспартам (Thermo Fisher Scientific, США). Опытные растворы подсластителей с концентрациями 0,5 и 1 г/л были приготовлены с использованием питьевой воды высшего качества (Аквалинка, Россия) с общей минерализацией 50–1000 мг/л, общей жесткостью не более 7 °Ж. Ионный состав опытных растворов не

превышал следующие показатели: кальций 130 мг/л, натрий 50 мг/л, хлориды 150 мг/л, сульфаты 150 мг/л, бикарбонаты 350 мг/л. Исследование проводилось при комнатной температуре.

Для постановки биотеста были выбраны луковицы *Allium cepa* L. сорта «Штутгартен Ризен» (ЛУКОМОРЬЕ, Россия), приобретенные в местной торговой сети, одинаковой массы (5–7 г) и диаметра (до 3 см), с предварительно удаленной сухой чешуей и донцем. Образцы биотестера были помещены в пробирки объемом 15–20 мл с питьевой водой на трое суток в термостат сушевоздушный ТС-1/80 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) с температурой 24 ± 1 °C в условиях полного затемнения (предварительное проращивание). Затем были отобраны луковицы с длиной корней не менее 1 см и помещены в опытные и контрольные растворы (питьевая вода), инкубация которых проводилась в этом же термостате в течение следующих 48 часов. В каждой группе опытных и контрольных образцов было по 10 луковиц. Далее все луковицы с корнями были аккуратно промыты в воде и инкубировались еще в течение двух суток в питьевой воде с целью восстановительного проращивания. По окончании эксперимента все корни были срезаны, остатки жидкости с них удаляли фильтровальной бумагой и проводили оценку массы корней. Измерение массы производилось на лабораторных весах LA620S с диапазоном измерения 0,1620 г (Sartorius, Германия) с точностью 0,001 г. Прирост массы определяли с учетом вычета массы корней после предварительного проращивания.

Для цитологического анализа клеток апикальной меристемы корней было проведено их окрашивание 2%-м раствором ацетоорсеина. После обработки тканей красителем были приготовлены моментальные давленные препараты. Анализ готовых препаратов осуществлялся при использовании светового микроскопа Axioskop 40 (Zeiss, Германия) при 40-кратном увеличении. Для исключения повторного учета клеток использовался индивидуальный z-маршрут при просмотре препаратов. Фиксировались клетки в интерфазе, а также стадиях митоза: профазе, метафазе, анафазе и телофазе. В опыте были подсчитаны митотический индекс (отношение делящихся клеток к общему количеству просмотренных) и частота наблюдаемых патологий митоза.

Биохимический показатель интенсивности перекисного окисления липидов в клетках меристемы лука определялся по количеству малонового диальдегида (мкмоль/г сырой массы), взаимодействующего с 2-тиобарбитуровой кислотой в соответствии с методикой [27]. Измерения производились при длинах волн 600 нм и 532 нм на спектрофотометре Cary WinUV 100 (Varian, США).

Для статистической обработки результатов были использованы программы Microsoft Excel 2016 и Statistica 12. Для показателя массы корней применялся непараметрический критерий сравнения двух средних по Манна-Уитни ($p \leq 0,05$). Для количественной оценки различий в данных, характеризующихся биномиальным распределением (митотический индекс и частота хромосомных aberrаций), был использован точный критерий Фишера ($p \leq 0,05$).

3. Результаты и обсуждение

Был исследован характер последствий токсического эффекта аспартама и ацесульфама калия в концентрациях 0,5 и 1,0 г/л на прирост массы корней лука. При указанных дозах подсластителей, как известно, наблюдался эффект субхронической токсичности в отношении таких показателей, как прирост массы корней и митотический индекс [27,28]. В нашей работе также был подтвержден указанный эффект (Рисунок 1). Однако после восстановительного

проращивания в воде прирост обработанных аспартамом корней достоверно не отличался от контрольных образцов, т.е. оказался полностью обратимым. Тогда как в образцах с ацесульфамом калия в дозе 1 г/л этот показатель по-прежнему достоверно отличался от контрольных значений в пределах 38%. На приросте корней, очевидно, отражалась суммарная реакция организма на воздействие ацесульфама калия, и характер воздействия на этот показатель, как было обнаружено, был необратимым. Известно, что данные по токсичному воздействию различных ксенобиотиков, полученные в Allium-тесте, хорошо коррелируют с аналогичными результатами других тестов [29]. В этой связи необходимо отметить работу, в которой в экспериментах на мышах было показано, что употребление данной добавки в течение беременности не только вызывало метаболическую дисфункцию у самок и сокращало продолжительность их беременности, но и приводило к снижению на 16,5% массы плода мужского пола [11].

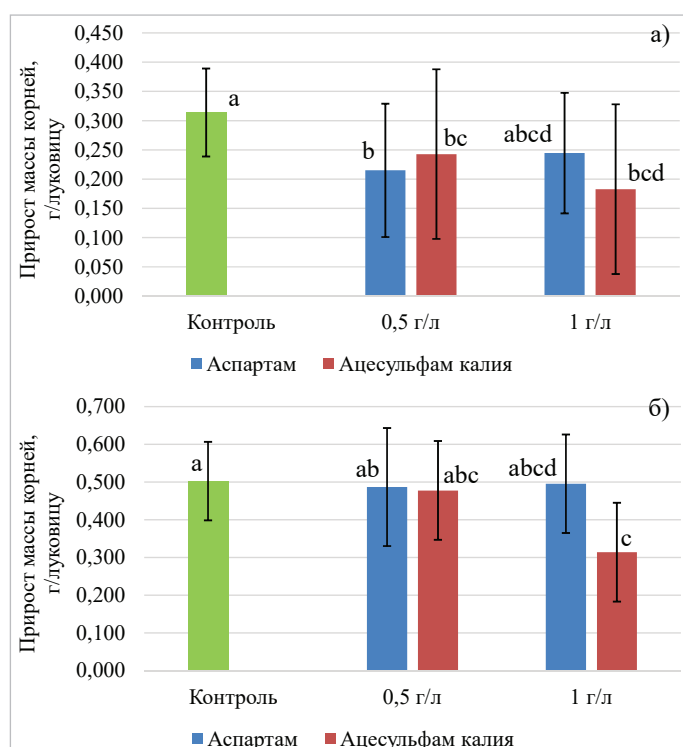


Рисунок 1. Прирост массы корней при воздействии аспартама (АСП) и ацесульфама калия (АЦЕ):

(а) до и (б) после восстановительного проращивания

Примечание: планками погрешности отмечено значение стандартного отклонения ($n = 10$), буквами обозначены данные, различающиеся статистически ($p \leq 0,05$)

Figure 1. Weight gain of roots upon exposure to aspartame (ASP) and acesulfame potassium (ACE): (a) before and (b) after regenerative germination. Note: error bars indicate the value of standard deviation ($n = 10$), letters indicate data differing statistically ($p \leq 0.05$)

Как видно из Таблицы 1, после воздействия подсластителей митотический индекс дозозависимо снижался, при этом для образцов с ацесульфамом калия в концентрации 1 г/л значение этого показателя сократилось максимально в 3,3 раза по сравнению с контролем. После прекращения воздействия подсластителей более низкий митотический индекс ($p \leq 0,05$), по сравнению с контролем, сохранялся во всех опытных группах, кроме образцов, обработанных ацесульфамом калия в концентрации 0,5 г/л. Достоверная максимальная разница этого показателя для аспартама составила 27,4%, для ацесульфама калия — 22,1%. Эти данные также подтверждали необратимый характер цитотоксического

воздействия этих соединений. Насколько нам известно, до сих пор не проводились исследования по изучению воздействия отсроченных эффектов подсластителей в условиях Allium-теста. Однако были опубликованы похожие результаты после обработки корней лука пищевым консервантом бензойной кислотой [24]. Обработка корней этим консервантом в дозе 200 мг/л после восстановительного проращивания способствовала достоверному снижению митотического индекса на 31,3%. Полагаем, что указанный эффект может возникать и в случае с другими видами подсластителей, способными, как известно, снижать митотический индекс в меристеме корней лука [30,31].

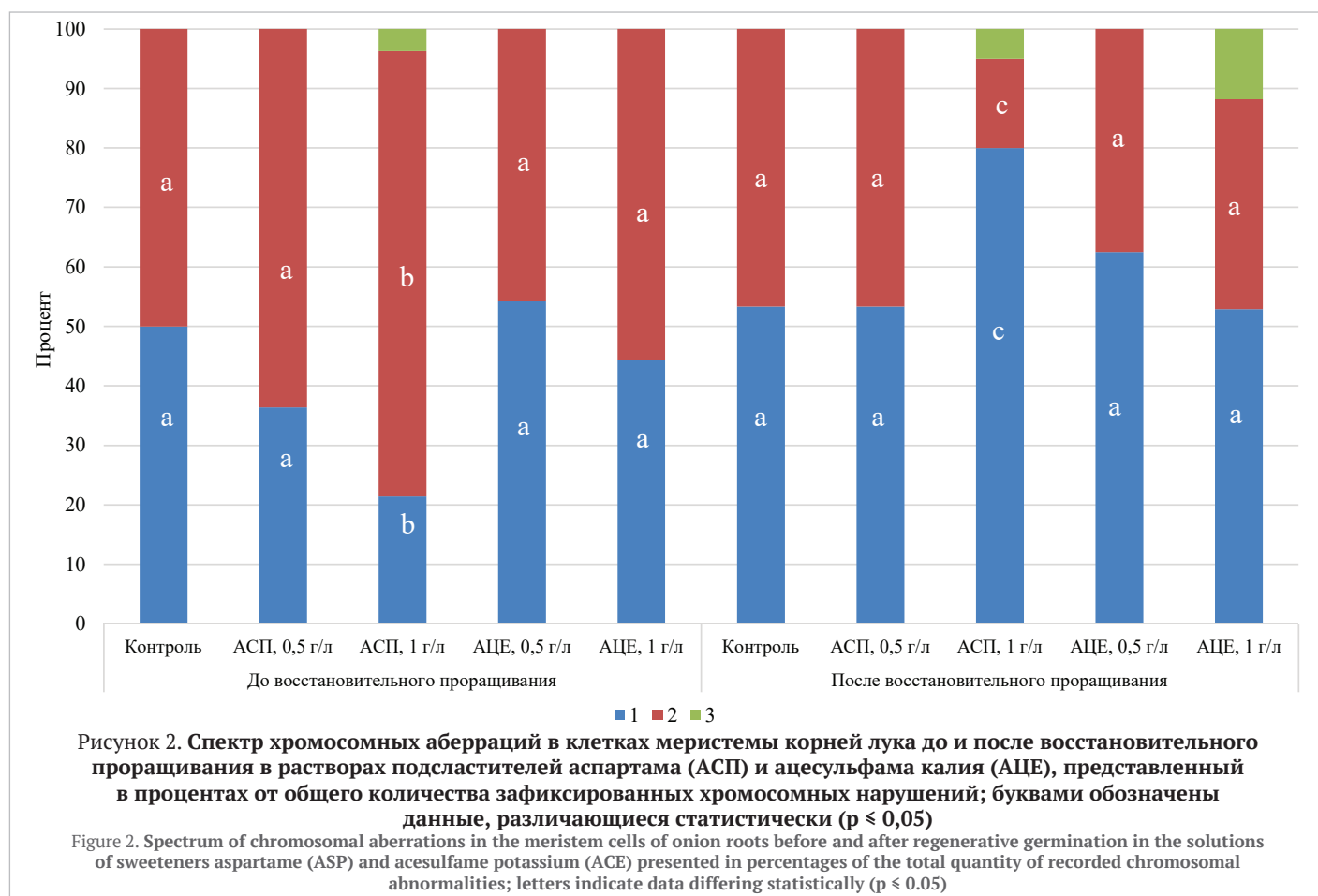
Таблица 1. Динамика цитогенетических показателей корней после их инкубации в растворах аспартама и ацесульфама калия

Table 1. Dynamics of cytogenetic indicators of roots after their incubation in the solutions of aspartame and acesulfame potassium

Вариант опыта	Митотический индекс	Хромосомные aberrации, % в расчете на	
		общее число клеток	делящиеся клетки
До восстановительного проращивания			
Контроль	10,66 ± 0,34 ^a	0,15 ± 0,04 ^a	1,40 ± 0,40 ^a
Аспартам, 0,5 г/л	7,55 ± 0,32 ^b	0,16 ± 0,05 ^{ab}	2,11 ± 0,63 ^b
Аспартам, 1 г/л	5,63 ± 0,26 ^c	0,35 ± 0,07 ^c	6,25 ± 1,14 ^c
Ацесульфам калия, 0,5 г/л	4,22 ± 0,21 ^d	0,27 ± 0,06 ^{bcd}	6,40 ± 1,26 ^d
Ацесульфам калия, 1 г/л	3,21 ± 0,18 ^e	0,17 ± 0,04 ^{bd}	4,64 ± 1,07 ^d
После восстановительного проращивания			
Контроль	7,92 ± 0,27 ^a	0,15 ± 0,04	1,93 ± 0,49
Аспартам, 0,5 г/л	5,75 ± 0,23 ^b	0,14 ± 0,04	2,44 ± 0,62
Аспартам, 1 г/л	6,04 ± 0,23 ^c	0,19 ± 0,04	3,20 ± 0,70
Ацесульфам калия, 0,5 г/л	7,91 ± 0,28 ^a	0,18 ± 0,04	2,22 ± 0,55
Ацесульфам калия, 1 г/л	6,17 ± 0,22 ^{bc}	0,15 ± 0,04	2,39 ± 0,57

* Данные представлены в формате: среднее значение ± стандартная ошибка; буквами обозначены данные, различающиеся статистически ($p \leq 0,05$).

После обработки подсластителями (1 г/л аспартама и 0,5 г/л ацесульфамом калия) частота патологий митоза в расчете на общее число клеток повышалась примерно в два раза по сравнению с контролем, а в расчете на делящиеся клетки — до 4-х раз (Таблица 1). Многократное повышение уровня генотоксических нарушений в корнях лука после обработки подсластителями было зафиксировано и в других работах [30,32,33]. Тем не менее в нашем эксперименте после восстановительного проращивания процент общего пула хромосомных aberrаций в опытных группах не отличался от контрольных значений (Таблица 1). Эти результаты свидетельствовали об обратимости генотоксических нарушений. Однако, возможно, после прекращения воздействия подсластителей произошло перераспределение этих патологий, вследствие чего могла увеличиться доля нарушений с более негативным потенциалом. В связи с указанным предположением был проведен анализ спектра генотоксических нарушений, по результатам которого выявленные aberrации были распределены по группам: 1 — нарушения процесса расхождения хромосом, 2 — аномалии митотического аппарата, 3 — aberrации, отражающие кластогенное действие фактора. Как видно из Рисунка 2, в контрольных образцах основной вклад примерно поровну приходился на первую и вторую группы нарушений. Среди наиболее распространенных хромосомных нарушений, зафиксированных в апикальной меристеме корней, к первой группе относились отставания и дезорганизация хромосом в метафазе и анафазе, во второй группе чаще фиксировались слипания



хромосом также в метафазе и анафазе. Тогда как в опытных образцах после восстановительного проращивания спектр патологий значительно отличался от контроля, за исключением образцов корней, обработанных аспартамом в дозе 0,5 мг/л. Так, наиболее разительные отличия были обнаружены в опытных образцах с максимальной концентрацией подсластителей. А именно были зафиксированы aberrации, отражающие кластогенное действие (3-я группа) аспартама (5%) и ацесульфам калия (12%), а также увеличилась доля аномалий митотического аппарата (2-я группа) в образцах, обработанных аспартамом, до 80%.

Кластогенный эффект обусловлен действием мутагенного агента и связан с делециями, вставками или перестройками целых участков хромосом. В настоящее время широко признано, что подобные хромосомные aberrации могут способствовать развитию канцерогенеза [34]. И хотя такие искусственные подсластители, как аспартам и ацесульфам калия признаны международным научным сообществом соединениями, не обладающими канцерогенным потенциалом [35,36], в недавно опубликованном когортном исследовании во Франции были получены противоположные результаты [37]. В частности, было показано, что регулярное употребление аспартама и ацесульфам калия повышало риск развития рака, в том числе рака молочной железы.

Ранее отмечалось, что аспартам и ацесульфам калия способны снижать уровень липидного окисления в соответствии с уменьшением концентрации малонового диальдегида в тканях корней лука [27,28]. В данной работе была изучена динамика изменения этого показателя в опытных образцах по сравнению с контролем до и после восстановительного проращивания. Как видно из Рисунка 3, только в образцах с ацесульфамом калия этот эффект оказался необратимым, хотя и не дозозависимым. Вероятно, в этом

случае наблюдался опосредованный механизм проявления побочных последствий воздействия ацесульфам калия на липидный обмен.

В целом при сравнении всех изученных в нашей работе показателей последствий воздействия исследованных подсластителей при использовании растительной модели

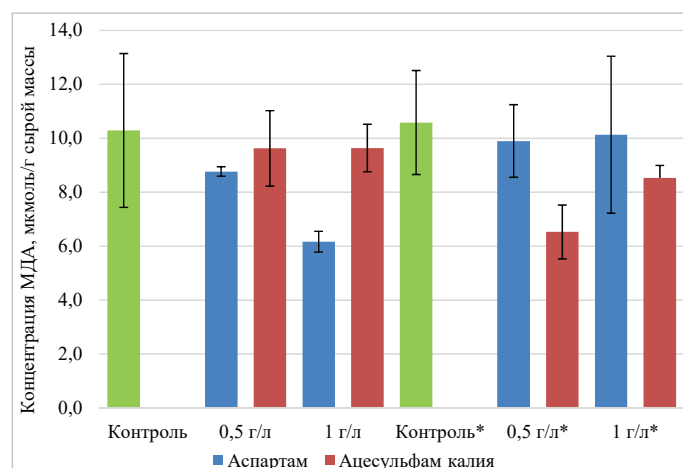


Рисунок 3. Концентрация малонового диальдегида (МДА) в корнях лука репчатого после инкубации в растворах подсластителей

Примечание: планками погрешности обозначены значения 95% доверительного интервала среднего; * — варианты опыта с инкубацией в растворах подсластителей и с последующим восстановительным проращиванием.

Figure 3. Concentration of malondialdehyde (MDA) in onion roots after incubation in the solutions of sweeteners

Note: error bars indicate the value of 95% confidence interval for the mean; * — variants of the experiment with incubation in the solutions of sweeteners and the following regenerative germination.

можно заключить, что ацесульфам калия оказался более токсичным, чем аспартам. В сравнительном анализе влияния на рост и метаболизм кишечной палочки трех искусственных подсластителей — аспартама, сукралозы и ацесульфам калия — также было показано, что именно последний оказывал наиболее заметные изменения по этим показателям [38].

4. Выводы

Впервые выполнены исследования по изучению влияния отсроченных эффектов воздействия аспартама и ацесульфам калия в концентрациях 1 и 0,5 г/л на физиологические, цитологические, цитогенетические и метаболические показатели корней лука репчатого. Был изучен характер последствий токсического эффекта аспартама и ацесульфам калия на прирост массы корней лука. Было обнаружено, что обработка корней указанными подсластителями уменьшала прирост массы по сравнению с контролем, однако этот негативный эффект был обратимым в отношении аспартама. В образцах с ацесульфам калия в дозе 1 г/л после восстановительного проращивания этот показатель по-прежнему достоверно отличался от контрольных значений (на 38%), таким образом, был установлен отсроченный эффект воздействия этой добавки. Обработки корней аспартамом и ацесульфам калия приводили к двукратному и трехкратному дозозависимому снижению митотического ин-

декса соответственно. После восстановительного проращивания был установлен необратимый характер воздействия этих добавок на данный показатель во всех опытных группах, кроме образцов, обработанных ацесульфам калия в концентрации 0,5 г/л. Повышенный уровень генотоксических нарушений по сравнению с контролем в корнях лука после обработки данными подсластителями не сохранился после восстановительного проращивания. Эти данные указывали на обратимость патологий митоза в опытных образцах. Был проведен сравнительный анализ спектра генотоксических нарушений, на основании которого установили, что после прекращения воздействия подсластителей произошло неблагоприятное перераспределение видов хромосомных aberrаций. В результате обнаружилось увеличение доли более опасных для метаболизма видов нарушений, отражающих кластогенное действие этих подсластителей. После воздействия аспартама и ацесульфам калия aberrации такого типа были выявлены у 5 и 12% делящихся клеток, соответственно. Эффект снижения уровня биомаркера липидного окисления оказался обратимым во всех образцах после обработки аспартамом, тогда как в образцах с ацесульфам калия, наоборот, необратимым, хотя и не дозозависимым. В условиях Allium-теста максимальная доля выявленных необратимых эффектов была связана с воздействием ацесульфам калия, но не аспартама.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Liauchonak, I., Qorri, B., Dawoud, F., Riat, Y., Szewczuk, M. R. (2019). Non-nutritive sweeteners and their implications on the development of metabolic syndrome. *Nutrients*, 11(3), Article 644. <https://doi.org/10.3390/nu11030644>
- Pearlman, M., Obert, J., Casey, L. (2017). The association between artificial sweeteners and obesity. *Current Gastroenterology Reports*, 19(12), Article 64. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0602-9>
- Meng, Y., Li, S., Khan, J., Dai, Z., Li, C., Hu, X. et al. (2021). Sugar- and artificially sweetened beverages consumption linked to type 2 diabetes, cardiovascular diseases, and all-cause mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutrients*, 13(8), Article 2636. <https://doi.org/10.3390/nu13082636>
- Debras, C., Chazelas, E., Sellem, L., Porcher, R., Druet-Pecollet, N., Es-seddik, Y. et al. (2022). Artificial sweeteners and risk of cardiovascular diseases: Results from the prospective NutriNet-Santé cohort. *BMJ*, 378, Article e071204. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-071204>
- Malik, V. S., Li, Y., Pan, A., De Koning, L., Schernhammer, E., Willett, W. C. et al. (2019). Long-term consumption of sugar-sweetened and artificially sweetened beverages and risk of mortality in US adults. *Circulation*, 139(18), 2113–2125. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037401>
- Czarnecka, K., Pilarz, A., Rogut, A., Maj, P., Szymańska, J., Olejnik, Ł. et al. (2021). Aspartame—true or false? Narrative review of safety analysis of general use in products. *Nutrients*, 13(6), Article 1957. <https://doi.org/10.3390/nu13061957>
- Mateo-Fernández, M., González-Jiménez, M. J., Celestino, M. D. R., Font, R., Alonso-Moraga, Á., Merinas-Amo, T. (2022). Toxicological and nutritional screening assays of some artificial sweeteners. *Processes*, 10(2), Article 410. <https://doi.org/10.3390/pr10020410>
- Lea, I. A., Chappell, G. A., Wikoff, D. S. (2021). Overall lack of genotoxic activity among five common low- and no-calorie sweeteners: A contemporary review of the collective evidence. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 868–869, Article 503389. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2021.503389>
- Findikli, Z., Turkoglu, S. (2014). Determination of the effects of some artificial sweeteners on human peripheral lymphocytes using the comet assay. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 6(8), 147–153. <https://doi.org/10.5897/JTEHS2014.0313>
- Ibi, D., Suzuki, F., Hiramatsu, M. (2018). Effect of AceK (acesulfame potassium) on brain function under dietary restriction in mice. *Physiology and Behavior*, 188, 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.024>
- Plows, J. F., Morton-Jones, J., Bridge-Comer, P. E., Ponnampalam, A., Stanley, J. L., Vickers, M. H. et al. (2020). Consumption of the artificial sweetener acesulfame potassium throughout pregnancy induces glucose intolerance and adipose tissue dysfunction in mice. *Journal of Nutrition*, 150(7), 1773–1781. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa106>
- Shalaby, A. M., Ibrahim, M. A. A. H., Aboregela, A. M. (2019). Effect of aspartame on the placenta of adult albino rat. A histological and immunohistochemical study. *Annals of Anatomy- Anatomischer Anzeiger*, 224, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2019.04.007>
- Anbara, H., Sheibani, M. T., Razi, M. (2020). Long-term effect of aspartame on male reproductive system: evidence for testicular histomorphometrics, hsp70–2 protein expression and biochemical status. *International Journal of Fertility and Sterility*, 14(2), 91–101. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2020.6065>
- Weerasooriyagedara, M. S. (2018). Toxicity effects of aspartame on embryonic development of zebrafish (Danio rerio). *International Journal of Engineering and Management Research*, 8(1), 183–188.
- Soffritti, M., Belpoggi, F., Esposti, D. D., Lambertini, L., Tibaldi, E., Rigano, A. (2006). First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. *Environmental Health Perspectives*, 114(3), 379–385. <https://doi.org/10.1289/ehp.8711>
- Silva de Sá, I., Peron, A. P., Leimann, F. V., Bressan, G. N., Krum, B. N., Fachinetto, R. et al. (2019). In vitro and in vivo evaluation of enzymatic and antioxidant activity, cytotoxicity and genotoxicity of curcumin-loaded solid dispersions. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.037>
- Sabeen, M., Mahmood, Q., Bhatti, Z. A., Faridullah, Irshad, M., Bilal, M. et al. (2020). Allium cepa assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(5), 1368–1374. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.011>
- Sarkar, A., Saha, R., Halder, R. (2022). Chromosomes damage by sewage water studies in the Allium cepa L. and Zea mays L. *Caryologia*, 75(1), 55–63. <https://doi.org/10.36253/caryologia-1067>
- Pandir, D. (2018). Assessment of the genotoxic effect of the diazinon on root cells of Allium cepa L. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61, Article e18160390. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018160390>
- Rashid, F., Singh, D., Attri, S., Kaur, P., Kaur, H., Mohana, P. et al. (2022). Modulation of atrazine-induced chromosomal aberrations and cyclin-dependent kinases by aqueous extract of Roylea cinerea (D. Don) Baillon leaves in Allium cepa. *Scientific Reports*, 12(1), Article 12570. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16813-z>
- Rosculute, E., Olaru, A. L., Rosculute, C. A., Bonciu, E. (2020). Assessment of cytological effects of food preservative potassium metabisulphite to Allium cepa. *American Journal of Plant Sciences*, 11, 11–23. <https://doi.org/10.4236/ajps.2020.111002>
- Koç, K., Pandir, D. (2018). All aspect of toxic effect of brilliant blue and sunset yellow in Allium cepa roots. *Cytotechnology*, 70(1), 449–463. <https://doi.org/10.1007/s10616-017-0161-9>
- dos Santos, F. K. S., Marques, M. M. M., van Tilburg, M. F., Guedes, M. I. F., Bueno, P. A. A., Peron, A. P. (2020). Toxicity of food flavorings to ex-vivo, in vitro and in vivo bioassays. *Acta Scientiarum. Technology*, 42, Article e44867. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v42i1.44867>

24. Yilmaz, S., Unal, F., Aksoy, H., Yüzbaşıoğlu, D., Celik, M. (2008). Cytogenetic effects of citric acid and benzoic acid on Allium chromosomes. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(8a), 1029–1037.
25. Samoylov, A. V., Suraeva, N. M., Zaytseva, M. V., Petrov, A. N. (2022). Bioassay of oxidative properties and toxic side effects of apple juice. *Foods and Raw Materials*, 10(1), 176–184. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-1-176-184>
26. Onyemaobi, O. I., Williams, G. O., Adekoya, K. O. (2012). Cytogenetic effects of two food preservatives, sodium metabisulphite and sodium benzoate on the root tips of Allium. *Ife Journal of Science*, 14(1), 155–165.
27. Самойлов, А. В., Сураева, Н. М., Зайцева, М. В. (2022). Исследование токсичного потенциала ацесульфам калия методом биотестирования. *Молочная промышленность*, 11, 35–37. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-11-35-37>
28. Зайцева, М. В., Сураева, Н. М., Самойлов, А. В. (2022). Оценка токсического потенциала смеси аспартама и сорбиновой кислоты на основе биотеста. *Пищевые системы*, 5(1), 41–46. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-41-46>
29. de Sá, I. S., Peron, A. P., Leimann, F. V., Bressan, G. N., Krum, B. N., Fachineto, R. et al. (2019). In vitro and in vivo evaluation of enzymatic and antioxidant activity, cytotoxicity and genotoxicity of curcumin-loaded solid dispersions. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.037>
30. Das, T., Hazra, S., Sengupta, S., Chattopadhyay, D. (2021). Genotoxic effect of saccharin on Allium cepa root tips. *Biologia*, 76, 3191–3199. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00871-1>
31. de Oliveira, V. A., de Oliveira, V. M. A., de Oliveira, T. W. N., Damasceno, A. N. C., de Oliveira Silva, C. E., Medeiros, S. T. A., et al. (2017). Evaluation of cytotoxic and mutagenic effects of two artificial sweeteners using eukaryotic test systems. *African Journal of Biotechnology*, 16(11), 547–551. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15695>
32. Rizk, R. M., Soliman, M. I., Rashed, A. A. (2016). Potential mutagenicity of some artificial sweeteners using allium test. *Asian Journal of Advanced Basic Sciences*, 4(2), 27–40.
33. Samoilov, A. V., Suraeva, N. M., Zaitseva, M. V., Kurbanova, M. N., Stobova, V. V. (2019). Comparative assessment of artificial sweeteners toxicity via express biotest. *Health Risk Analysis*, 2, 83–90. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.09.eng>
34. Marzio, A., Merigliano, C., Gatti, M., Verni, F. (2014). Sugar and chromosome stability: Clastogenic effects of sugars in vitamin B6-deficient cells. *PLoS Genetics*, 10(3), Article e1004199. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004199>
35. Otobe, A., Ohta, F., Takumi, A., Lynch, B. (2019). Mutagenicity and genotoxicity studies of aspartame. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 103, 345–351. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.01.023>
36. Chappell, G. A., Wikoff, D. S., Doepker, C. L., Borghoff, S. J. (2020). Lack of potential carcinogenicity for acesulfame potassium — Systematic evaluation and integration of mechanistic data into the totality of the evidence. *Food and Chemical Toxicology*, 141, Article 111375. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111375>
37. Debras, C., Chazelas, E., Srouf, B., Druésne-Pecollo, N., Esseddik, Y., de Edelenyi, F. S. et al. (2022). Artificial sweeteners and cancer risk: Results from the NutriNet-Santé population-based cohort study. *PLoS Medicine*, 19(3), Article e1003950. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003950>
38. Shahriar, S., Ahsan, T., Khan, A., Akhteruzzaman, S., Shehreen, S., Sajib, A. A. (2020). Aspartame, acesulfame K and sucralose- influence on the metabolism of *Escherichia coli*. *Metabolism Open*, 8, Article 100072. <https://doi.org/10.1016/j.metop.2020.100072>

REFERENCES

1. Liauchonak, I., Qorri, B., Dawoud, F., Riat, Y., Szewczuk, M. R. (2019). Non-nutritive sweeteners and their implications on the development of metabolic syndrome. *Nutrients*, 11(3), Article 644. <https://doi.org/10.3390/nu11030644>
2. Pearlman, M., Obert, J., Casey, L. (2017). The association between artificial sweeteners and obesity. *Current Gastroenterology Reports*, 19(12), Article 64. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0602-9>
3. Meng, Y., Li, S., Khan, J., Dai, Z., Li, C., Hu, X. et al. (2021). Sugar- and artificially sweetened beverages consumption linked to type 2 diabetes, cardiovascular diseases, and all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutrients*, 13(8), Article 2636. <https://doi.org/10.3390/nu13082636>
4. Debras, C., Chazelas, E., Sellem, L., Porcher, R., Druésne-Pecollo, N., Esseddik, Y. et al. (2022). Artificial sweeteners and risk of cardiovascular diseases: Results from the prospective NutriNet-Santé cohort. *BMJ*, 378, Article e071204. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-071204>
5. Malik, V. S., Li, Y., Pan, A., De Koning, L., Schernhammer, E., Willett, W. C. et al. (2019). Long-term consumption of sugar-sweetened and artificially sweetened beverages and risk of mortality in us adults. *Circulation*, 139(18), 2113–2125. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037401>
6. Czarnecka, K., Pilarz, A., Rogut, A., Maj, P., Szymańska, J., Olejnik, E. et al. (2021). Aspartame-true or false? narrative review of safety analysis of general use in products. *Nutrients*, 13(6), Article 1957. <https://doi.org/10.3390/nu13061957>
7. Mateo-Fernández, M., González-Jiménez, M. J., Celestino, M. D. R., Font, R., Alonso-Moraga, A., Merinas-Amo, T. (2022). Toxicological and nutraceutical screening assays of some artificial sweeteners. *Processes*, 10(2), Article 410. <https://doi.org/10.3390/pr10020410>
8. Lea, I. A., Chappell, G. A., Wikoff, D. S. (2021). Overall lack of genotoxic activity among five common low- and no-calorie sweeteners: A contemporary review of the collective evidence. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 868–869, Article 503389. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2021.503389>
9. Findikli, Z., Turkoglu, S. (2014). Determination of the effects of some artificial sweeteners on human peripheral lymphocytes using the comet assay. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 6(8), 147–153. <https://doi.org/10.5897/JTEHS2014.0313>
10. Ibi, D., Suzuki, F., Hiramatsu, M. (2018). Effect of AceK (acesulfame potassium) on brain function under dietary restriction in mice. *Physiology and Behavior*, 188, 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.024>
11. Plows, J. F., Morton-Jones, J., Bridge-Comer, P. E., Ponnampalam, A., Stanley, J. L., Vickers, M. H. et al. (2020). Consumption of the artificial sweetener acesulfame potassium throughout pregnancy induces glucose intolerance and adipose tissue dysfunction in mice. *Journal of Nutrition*, 150(7), 1773–1781. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa106>
12. Shalaby, A. M., Ibrahim, M. A. A. H., Aboregela, A. M. (2019). Effect of aspartame on the placenta of adult albino rat. A histological and immunohistochemical study. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 224, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2019.04.007>
13. Anbara, H., Sheibani, M. T., Razi, M. (2020). Long-term effect of aspartame on male reproductive system: evidence for testicular histomorphometrics, hsp70–2 protein expression and biochemical status. *International Journal of Fertility and Sterility*, 14(2), 91–101. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2020.6065>
14. Weerasooriyagedara, M. S. (2018). Toxicity effects of aspartame on embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *International Journal of Engineering and Management Research*, 8(1), 183–188.
15. Soffritti, M., Belpoggi, F., Esposti, D. D., Lambertini, L., Tibaldi, E., Rigano, A. (2006). First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. *Environmental Health Perspectives*, 114(3), 379–385. <https://doi.org/10.1289/ehp.8711>
16. Silva de Sá, I., Peron, A. P., Leimann, F. V., Bressan, G. N., Krum, B. N., Fachineto, R. et al. (2019). In vitro and in vivo evaluation of enzymatic and antioxidant activity, cytotoxicity and genotoxicity of curcumin-loaded solid dispersions. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.037>
17. Sabeen, M., Mahmood, Q., Bhatti, Z. A., Faridullah, Irshad M., Bilal, M. et al. (2020). Allium cepa assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(5), 1368–1374. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.011>
18. Sarkar, A., Saha, R., Halder, R. (2022). Chromosomes damage by sewage water studies in the Allium cepa L. and Zea mays L. *Caryologia*, 75(1), 55–65. <https://doi.org/10.36253/caryologia-1067>
19. Pandir, D. (2018). Assessment of the genotoxic effect of the diazinon on root cells of Allium cepa (L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61, Article e18160390. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018160390>
20. Rashid, F., Singh, D., Attri, S., Kaur, P., Kaur, H., Mohana, P. et al. (2022). Modulation of atrazine-induced chromosomal aberrations and cyclin-dependent kinases by aqueous extract of Roylea cinerea (D. Don) Baillon leaves in Allium cepa. *Scientific Reports*, 12(1), Article 12570. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16813-z>
21. Rosculete, E., Olaru, A. L., Rosculete, C. A., Bonciu, E. (2020). Assessment of cytological effects of food preservative potassium metabisulphite to Allium cepa. *American Journal of Plant Sciences*, 11, 11–23. <https://doi.org/10.4236/ajps.2020.111002>
22. Koç, K., Pandir, D. (2018). All aspect of toxic effect of brilliant blue and sunset yellow in Allium cepa roots. *Cytotechnology*, 70(1), 449–463. <https://doi.org/10.1007/s10616-017-0161-9>
23. dos Santos, F. K. S., Marques, M. M. M., van Tilburg, M. F., Guedes, M. I. F., Bueno, P. A. A., Peron, A. P. (2020). Toxicity of food flavorings to ex-vivo, in vitro and in vivo bioassays. *Acta Scientiarum. Technology*, 42, Article e44867. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v42i1.44867>
24. Yilmaz, S., Unal, F., Aksoy, H., Yüzbaşıoğlu, D., Celik, M. (2008). Cytogenetic effects of citric acid and benzoic acid on Allium chromosomes. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(8a), 1029–1037.
25. Samoylov, A. V., Suraeva, N. M., Zaytseva, M. V., Petrov, A. N. (2022). Bioassay of oxidative properties and toxic side effects of apple juice. *Foods and Raw Materials*, 10(1), 176–184. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-1-176-184>
26. Onyemaobi, O. I., Williams, G. O., Adekoya, K. O. (2012). Cytogenetic effects of two food preservatives, sodium metabisulphite and sodium benzoate on the root tips of Allium. *Ife Journal of Science*, 14(1), 155–165.
27. Samoylov, A. V., Suraeva, N. M., Zaytseva, M. V. (2022). Investigation of the toxic potential of acesulfame potassium with biotesting. *Dairy Industry*, 11, 35–37. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-11-35-37> (In Russian)

28. Zaytseva, M. V., Suraeva, N. M., Samoylov, A. V. (2022). Assessment of the toxic potential of a mixture of aspartam and sorbic acid with bioassay. *Food Systems*, 5(1), 41–46. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-41-46> (In Russian)
29. de Sá, I. S., Peron, A. P., Leimann, F. V., Bressan, G. N., Krum, B. N., Fachinnetto, R. et al. (2019). In vitro and in vivo evaluation of enzymatic and antioxidant activity, cytotoxicity and genotoxicity of curcumin-loaded solid dispersions. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.037>
30. Das, T., Hazra, S., Sengupta, S., Chattopadhyay, D. (2021). Genotoxic effect of saccharin on *Allium cepa* root tips. *Biologia*, 76, 3191–3199. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00871-1>
31. de Oliveira, V. A., de Oliveira, V. M. A., de Oliveira, T. W. N., Damasceno, A. N. C., de Oliveira Silva, C. E., Medeiros, S. T. A., et al. (2017). Evaluation of cytotoxic and mutagenic effects of two artificial sweeteners using eukaryotic test systems. *African Journal of Biotechnology*, 16(11), 547–551. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15695>
32. Rizk, R. M., Soliman, M. I., Rashed, A. A. (2016). Potential mutagenicity of some artificial sweeteners using allium test. *Asian Journal of Advanced Basic Sciences*, 4(2), 27–40.
33. Samoilov, A. V., Suraeva, N. M., Zaitseva, M. V., Kurbanova, M. N., Stolbova, V. V. (2019). Comparative assessment of artificial sweeteners toxicity via express biotest. *Health Risk Analysis*, 2, 83–90. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.09.eng>
34. Marzio, A., Merigliano, C., Gatti, M., Verni, F. (2014). Sugar and chromosome stability: Clastogenic effects of sugars in vitamin B6-deficient cells. *PLoS Genetics*, 10(3), Article e1004199. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004199>
35. Otabe, A., Ohta, F., Takumi, A., Lynch, B. (2019). Mutagenicity and genotoxicity studies of aspartame. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 103, 345–351. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.01.023>
36. Chappell, G. A., Wikoff, D. S., Doecker, C. L., Borghoff, S. J. (2020). Lack of potential carcinogenicity for acesulfame potassium — Systematic evaluation and integration of mechanistic data into the totality of the evidence. *Food and Chemical Toxicology*, 141, Article 111375. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111375>
37. Debras, C., Chazelas, E., Srouf, B., Druetne-Pecolli, N., Esseddik, Y., de Edelenyi, F. S. et al. (2022). Artificial sweeteners and cancer risk: Results from the NutriNet-Santé population-based cohort study. *PLoS Medicine*, 19(3), Article e1003950. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003950>
38. Shahriar, S., Ahsan, T., Khan, A., Akhteruzzaman, S., Shehreen, S., Sajib, A. A. (2020). Aspartame, acesulfame K and sucralose- influence on the metabolism of *Escherichia coli*. *Metabolism Open*, 8, Article 100072. <https://doi.org/10.1016/j.metop.2020.100072>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Самойлов Артем Владимирович — кандидат биологических наук, директор, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Россия, Московская область, г. Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-495-541-87-00 E-mail: molgen@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5655-174X * автор для контактов Сураева Наталья Михайловна — доктор биологических наук, главный научный сотрудник, лаборатория качества и безопасности пищевой продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Россия, Московская область, г. Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-495-541-87-00 E-mail: nsuraeva@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0144-8128 Зайцева Мария Вячеславовна — научный сотрудник, лаборатория качества и безопасности пищевой продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Россия, Московская область, г. Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-495-541-87-00 E-mail: mascha.zajtseva2014@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6624-883X	Artem V. Samoilov, Candidate of Biological Sciences, Director, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkolnaia Str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-87-00 E-mail: molgen@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5655-174X * corresponding author Natalya M. Suraeva, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Laboratory of quality and safety of food products, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkolnaia Str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-87-00 E-mail: nsuraeva@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0144-8128 Mariya V. Zajtseva, Researcher, Laboratory of quality and safety of food products, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkolnaia Str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-87-00 E-mail: mascha.zajtseva2014@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6624-883X
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/10.21323/2618-9771-2023-6-1-103-116>

Received 24.02.2023

Accepted in revised 17.03.2023

Accepted for publication 27.03.2023

© Myagkonosov D. S., Smykov I. T., Abramov D. V., Delitskaya I. N., Ovchinnikova E. G., 2023

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

Original scientific article

Open access



INFLUENCE OF DIFFERENT MILK-CLOTTING ENZYMES ON THE PROCESS OF PRODUCING SEMIHARD CHEESES

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

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

KEY WORDS:

Milk-clotting enzymes, enzymatic coagulation, semihard cheese, cheese whey, cheese yield

ABSTRACT

The effect of milk-clotting enzymes (MCEs) of animal origin (Naturen Extra with a mass fraction of chymosins of 95%, "Bovine Pepsin" with a mass fraction of chymosin of 10%), as well as MCEs of microbial origin (Fromase 750 XLG) and recombinant origin (Chy-max Extra and Chy-max Supreme) on the duration of milk coagulation and processing of cheese curd, as well as on the composition of whey and fresh cheeses in the manufacture of semihard cheeses, at an introduction dose of MCE of 1,500 to 6,000 IMCU per 100 kg of milk. Increasing the MCE dose from 1,500 to 2,000–3,000 IMCU/100 kg of milk leads to a decrease in the coagulation duration by an average of 20 min ($p < 0.05$). A further increase in the MCE dose to 5,000–6,000 IMCU/100 kg of milk does not lead to a reduction in the coagulation duration. With equal introduction doses, MCE brands of Fromase and "Pepsin" show greater losses of fat (by 0.15–0.60%) and dry matter (by 0.30–0.50%) in whey than MCEs of Naturen brands, Chy-max Extra and Chy-max Supreme. Cheese variants made using different types and doses of MCEs did not have statistically accurate differences in the content of dry matter, fat, protein, salt and pH ($p > 0.05$). The use of MCEs of Naturen, Chy-max Extra and Chy-max Supreme brands at a dosage of 5,000–6,000 IMCU/100 kg of milk gives an average of 1.5% higher actual cheese yield compared to MCEs of the Fromase and "Pepsin" brands at an introduction dose of 1 500 IMCU/100 kg of milk.

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 24.02.2023

Поступила после рецензирования 17.03.2023

Принята в печать 27.03.2023

© Мягконосов Д. С., Смыков И. Т., Абрамов Д. В., Делицкая И. Н., Овчинникова Е. Г., 2023

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ НА ПРОЦЕСС ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПОЛУТВЕРДЫХ СЫРОВ

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

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

молокосвертывающие ферменты, ферментативное свертывание, полутвердые сыры, подсырная сыворотка, выход сыра

АННОТАЦИЯ

Исследовано влияние молокоосвертывающих ферментов (МФ) животного происхождения (Naturen Extra с массовой долей химозина 95%, «Говяжий пепсин» с массовой долей химозина 10%), а также МФ микробного происхождения (Fromase 750 XLG) и рекомбинантного происхождения (Chy-max Extra и Chy-max Supreme) на продолжительность свертывания молока и обработки сырного сгустка, а также на состав сыворотки и свежих сыров при изготовлении полутвердых сыров, в дозе внесения МФ, равной от 1 500 до 6 000 IMCU на 100 кг молока. Повышение дозы МФ от 1500 до 2000–3000 IMCU/100 кг молока приводит к уменьшению времени свертывания в среднем на 20 мин ($p < 0,05$). Дальнейшее повышение дозы МФ до 5000–6000 IMCU/100 кг молока не приводит к сокращению продолжительности свертывания. При равных дозах внесения у МФ марок Fromase и «Пепсин» отмечаются большие потери жира (на 0,15–0,60%) и сухих веществ (на 0,30–0,50%) в сыворотку, чем у МФ марок Naturen, Chy-max Extra и Chy-max Supreme. Варианты сыров, изготовленные с использованием разных типов и доз МФ, не имели статистически достоверных отличий по содержанию сухого вещества, жира, белка, соли и по уровню pH ($p > 0,05$). Применение МФ марок Naturen, Chy-max Extra и Chy-max Supreme в дозировке 5000–6000 IMCU/100 кг молока дает в среднем на 1,5% больший фактический выход сыра в сравнении с МФ марок Fromase и «Пепсин» при дозе внесения 1 500 IMCU/100 кг молока.

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.

FOR CITATION: Myagkonosov, D. S., Smykov, I. T., Abramov, D.V., Delitskaya, I. N., Ovchinnikova, E. G. (2023). Influence of different milk-clotting enzymes on the process of producing semihard cheeses. *Food Systems*, 6(1), 103–116. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-103-116>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мягконосов, Д. С., Смыков, И. Т., Абрамов, Д. В., Делицкая, И. Н., Овчинникова, Е. Г. (2023). Влияние различных молокоосвертывающих ферментов на процесс изготовления полутвердых сыров. *Пищевые системы*, 6(1), 103–116. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-103-116>

1. Introduction

The composition, quality and cost of cheese depend on the properties of the MCE used in the manufacture.

Enzymatic coagulation of milk begins with the hydrolysis of kappa-casein, which stabilizes micelles, under the MCE action. After the cleavage of the critical fraction of kappa-casein (from 60% or more), the process of aggregation of micelles begins, leading to the formation of a milk curd [1]. The greater the proportion of kappa-casein is split, the higher the density of the resulting curd is and the better the curd releases moisture [2].

The rate of cleavage of kappa-casein and its amount at the beginning of the curd formation process depends on the amount of MCE introduced into the milk. Increasing the MCE amount reduces the coagulation duration [3,4].

Traditionally used MCEs of animal and microbial types have insufficient specificity of proteolytic action and, in addition to kappa-casein, also cleave other proteins, incl. alpha and beta casein, located in the nuclei of micelles. The cleavage of alpha and beta caseins leads to a weakening of the curd strength, which leads to loss of dry matter of the curd in the form of cheese dust due to its crushing during processing. In addition, the dry matter of the curd is lost in the form of water-soluble peptides, which are formed during the hydrolysis of alpha- and beta-caseins under the MCE action [5]. As a result, the cheese yield decreases, the milk consumption for the manufacture of a unit mass of cheese increases [6,7], which leads to an increase in the cheese cost.

The proteolytic activity (PA) of MCE creates the risk of defects in cheese taste (bitterness) and texture (viscous, spreadable consistency) during its ripening and storage, which leads to a limitation of the cheese shelf life. This is especially true for MCEs of animal and microbial origins, which have a high PA [3,8,9]. Therefore, the use of these MCEs in high doses is inappropriate.

Considering the requirements of cheesemakers, MCEs with increased specificity for kappa-casein and a low level of non-specific PA (Chy-max M, Chy-max Supreme, Maxiren XDS) have been created [10,11]. Such MCEs can be used at high introduction doses. By increasing the MCE dose, the coagulation time is reduced, which has a number of positive consequences for improving the quality and reducing the cheese cost:

- duration of free circulation of bacteriophages in liquid milk is reduced, the risk of damage to the bulk starter by bacteriophage is reduced [12];
- time, energy and labor expenditures for the manufacture of a production unit are reduced; the productivity and turnover of technological equipment increases [13].

When using MCE with low PA, there is no cleavage of alpha- and beta-caseins at the stage of curd processing in a cheesemaking tank. The resulting curd has a high density and quickly releases moisture. Due to the high mechanical strength, the curd is resistant to mechanical crushing, which reduces the loss of fat and protein into the whey in the form of cheese dust and makes it possible to increase the cheese yield by 1–2% in comparison with MCEs of animal and microbial origins [11,14].

Part of the MCE introduced into milk transfers into the composition of the cheese mass [15]. MCE preserved in cheese contributes to the proteolysis process in cheese, which depends on the PA value of the enzyme [16,17].

MCEs with low PA are more relevant for non-ripening cheeses — soft cheeses and stretched curd cheeses, for which a minimum level of proteolysis during storage is important to preserve taste and texture for the longest possible time [16,18,19]. To form the taste of ripening cheese varieties, pro-

teolytic modification of cheese mass proteins is necessary. Under the action of proteolysis, the cheese texture is transformed from hard, crumbly to plastic, and cohesive, and a typical cheese taste is formed. An insufficient level of proteolysis leads to an excessively dense texture and an insufficiently pronounced taste of cheeses [17,19,20]. Such a product will not be competitive in a market rich in cheeses from different manufacturers.

A cheese with an attractive taste and texture that is of interest to consumers will bring profit to the manufacturer. As a result, to date, in countries with developed economies and high competition in the marketplace, there has been a tendency to create new cheese varieties with new tastes that can attract the consumer and be in demand. An example of a commercially successful product is “Serra da Estrela” cheese, made from sheep’s milk, in the production of which MCE is used based on an extract from artichoke inflorescences “*Cynara cardunculus*” [21]. Other MCEs are also being sought from other sources to create new cheese varieties. The possibility of using enzymes from plants [22,23], marine organisms [24], and avian pepsins [25] is being studied. The disadvantage of such MCEs is the high PA, which causes the risk of defects in taste and texture in cheeses produced with them and a reduction in their shelf life. This disadvantage can be eliminated by reducing the MCE dose. The resulting negative consequences in the form of obtaining a weaker curd [26] can be compensated in the production of semihard cheeses by increasing the duration and temperature of curd processing [27].

The purpose of this study is to evaluate the quality (taste and texture) and economic indicators of cheese production (yield and process time) obtained by using MCEs of different origins in the manufacture of semihard cheeses.

2. Materials and methods

2.1. Materials

In the studies, cow’s milk was used from the single supplier-manufacturer — AgriVolga, LLC (Yaroslavl region, Uglich district, Burmasovo village).

In the cheese production, a lactic acid starter based on the BK-Ugлич-No. 4 bacterial concentrate (the Federal State Budgetary Scientific Institution “Experimental Biofactory”, Russia) was used, consisting of a set of cultures of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, with preliminary activation of the culture in sterilized milk. To coagulate milk, milk-clotting enzyme preparations (MCEs) of the following brands were used:

- Chy-max® Supreme 1000 (recombinant camel chymosin with a modified amino acid sequence; nominal milk-clotting activity — 1,000 IMCU/g; manufacturer — Chr Hansen A/S, Denmark);
- Chy-max® Extra 600 Liquid (recombinant calf chymosin of genetic variant “B”; nominal milk-clotting activity — 600 IMCU/g; manufacturer — Chr Hansen A/S, Denmark);
- Naturen® Extra 220 NB (enzymatic extract from the stomachs of calves with a mass fraction of chymosin of at least 95%; nominal milk-clotting activity — 220 IMCU/g; manufacturer — Chr Hansen A/S, Denmark);
- Fromase® 750 XLG (protease of the fungus *Rhizomucor miehei*; nominal milk-clotting activity — 750 IMCU/g; manufacturer — DSM Food Specialties, France);
- FS10 “Bovine pepsin” (enzyme extract from the stomachs of adult cattle with a mass fraction of chymosin of at least 10%; nominal milk-clotting activity — 1,000 IMCU/g; manufacturer — Zavod endokrinnykh fermentov, LLC, Russia).

2.2 Methods

2.2.1. Methods for studying the properties of milk-clotting enzymes

The determination of the total milk-clotting activity was carried out according to GOST ISO 11815–2015¹.

The determination of the total proteolytic activity was carried out according to GOST 34430–2018², as applied to weakly acidic proteases (at pH 5.3).

2.2.2. Methods for studying the properties of milk, whey and cheeses

The active acidity of milk, whey, and cheeses was determined on a pH-150MI pH meter (Izmeritelnaya Tekhnika, LLC, Russia) equipped with a FC200B combined pH electrode (Hanna Instruments Inc., USA). The active acidity of cheeses during self-pressing was measured with a potentiometric electrode of a pH meter immersed in cheese mass. The active acidity of cheese after salting was determined in a suspension of cheese, for the preparation of which 10 g of cheese was ground in a mortar with 10 cm³ of deionized water.

The mass fraction of moisture in cheeses was determined by drying at a temperature of 102 ± 2 °C according to the Russian state standard GOST 3626–73³.

The mass fraction of moisture in whey was determined by the method according to GOST 3626–73 (clause 2.3, in relation to milk).

The mass fraction of total protein in milk and whey was determined by the Kjeldahl method according to the Russian state standard GOST 23327–98⁴.

The mass fraction of total protein in cheeses was determined by the Kjeldahl method according to the Russian state standard GOST R54662–2011⁵.

The mass fraction of fat in milk and whey was determined by the acid method according to the Russian state standard GOST 5867–90⁶.

The mass fraction of fat in cheeses was determined by the acid method according to the Russian state standard GOST R55063–2012⁷.

The optical density of whey was measured after dilution of whey with water (1:10) in a cuvette with an optical path length of 10 mm at a wavelength of 650 nm on a LEKI spectrophotometer of model SS1207UV (MEDIORA OY, Finland).

The molecular weight distribution of soluble proteins in whey was determined by high resolution gel filtration using an AKTA Pure 25 chromatographic system (Cytiva, Sweden) equipped with a Superose 12 10/300 GL column (GE Healthcare, Sweden). Eluent — aqueous solution of 0.05 M Na₂HPO₄ + 0.15 M NaCl (pH 6.50), eluent flow rate — 0.5 ml/min; detector wavelength — 280 nm. The column was calibrated according to the release time of protein substances with a known molecular weight: IgG (180 kDa), aldolase (158 kDa), BSA (69 kDa), oval-

bumin (43 kDa), β-Lg (36.0 kDa), α-La (14.4 kDa), cytochrome C (12.3 kDa), tryptophan (0.204 kDa). The calibration curve was based on a logarithmic regression model [28]. To determine the molecular weight distribution of soluble protein substances, whey was filtered on filter paper “type 102” (China standard GB / T 1914–2007), and then on a cellulose acetate filter with a pore size of 0.45 μm (Vladipor, Russia).

The cheese yield was calculated using the equation given in [29].

The actual cheese yield was calculated using equation (1):

$$Y_a = \frac{M_{cheese}}{M_{milk} + M_{starter}} \times 100\%, \quad (1)$$

where

Y_a — actual cheese yield, %;

M_{cheese} — mass of cheese, kg;

M_{milk} — mass of milk used for cheese production, kg;

$M_{starter}$ — mass of the starter used for cheese production, kg.

Milk fat yield (MFY), expressed as kg milk fat transferred from milk into cheese, was calculated using equation (2)

$$MFY = \frac{M_{cheese} \cdot \%F_c}{M_{milk} \cdot \%F_{milk}} \times 100\%, \quad (2)$$

where

MFY — proportion of milk fat that has transferred into cheese, %;

$\%F_c$ — mass fraction of fat in cheese, %;

$\%F_{milk}$ — mass fraction of fat in milk used for cheese production, %.

Milk protein yield (MPY), expressed as kg milk protein transferred from milk into cheese, was calculated using equation (3)

$$MPY = \frac{M_{cheese} \cdot \%P_c}{M_{milk} \cdot \%P_{milk}} \times 100\%, \quad (3)$$

where

MPY — proportion of milk protein transferred into cheese, %;

$\%P_c$ — mass fraction of protein in cheese, %;

$\%P_{milk}$ — mass fraction of protein in milk used for cheese production, %.

2.2.3. Methods for controlling the process of milk curd formation

To obtain comparable results, the moment of the curd readiness for cutting was determined online using a measuring system based on the Hot-Wire method [30,31].

2.2.4. Microscopic studies

Microscopic studies of whey were carried out on “wet mount” type microscope preparations by light microscopy in transmitted light, using a dark field condenser. Photographs were taken with a Canon EOS600D digital camera. The photographs were corrected using the Digital Photo Professional software v.4.5 (Canon Inc., Japan).

2.2.5. Cheese production process

A semi-hard cheese was produced with a mass fraction of dry matter of 59% and a mass fraction of fat in dry matter of 55%. Cheese was made in laboratory-scale 12 l-capacity cheese vats with water jacket, equipped with electric paddle mixers. Milk was normalized:

- by fat, to obtain a mass fraction of milk fat of 5.0 ± 0.1%, by adding fresh cream with a fat content of 34–38%;
- by protein, to obtain a mass fraction of total milk protein of 3.5 ± 0.05%, by adding dry milk protein concentrate of Ledor MPC85 LH with a protein content of 85% (Hochdorf Swiss Nutrition AG, Switzerland).

Table 1 gives the technological regulations for the cheese production.

¹ GOST ISO 11815–2015 Milk. Determination of total milk-clotting activity of bovine rennet. M.: Standartinform, 2015. — 10 p.

² GOST 34430–2018 Enzyme preparations for food industry. Method for the determination of proteolytic activity. M.: Standartinform, 2018. — 12 p.

³ GOST 3626–73 Milk and milk products. Methods for determination of moisture and dry substance. M.: Standartinform, 2009. — 11 p.

⁴ GOST 23327–98 Milk and milk products. Determination of mass part of total nitrogen by Kjeldahl method and determination of mass part of protein. M.: Standartinform, 2009. — 8 p.

⁵ GOST P 54662–2011 Cheeses and processed cheeses. Determination of protein mass fraction by the Kjeldahl method. M.: Standartinform, 2012. — 16 p.

⁶ GOST 5867–90 Milk and dairy products. Method of determination of fat. M.: Standartinform, 2009. — 12 p.

⁷ GOST P 55063–2012 Kinds of cheese and processed cheese. The rules of test acceptance, sampling and control methods. M.: Standartinform, 2013. — 28 p.

Table 1. Technological regulations for the production of semi-hard cheese

Таблица 1. Технологический регламент производства полутвердого сыра

Indicator	Meaning
Acidity of the milk mixture before pasteurization, pH	6,62±0,05
Pasteurization mode of milk mixture	72,0±0,5 °C; 30 sec
Introduction dose of calcium chloride, g/100 kg of milk	Based on 35 g of anhydrous salt per 100 kg of milk
Acidity of milk before milk-starter addition, pH	6,50±0,02
Introduction dose of milk-starter *, kg/100 kg of milk	0,7
Duration of milk ripening after milk-starter addition, min	10–15
Acidity before the introduction of a milk-clotting enzyme, pH	6,42±0,02
Introduction dose of MCE **, IMCU/100 kg of milk	1 500–6 000
Coagulation temperature, °C	33,5±0,5
Coagulation time, min	15–50
Duration of cutting and formation of curd grain, min	15–20
Duration of stirring before cooking, min	25±1
Temperature of the cooking, °C	40–41
Duration of temperature increasing to cooking temperature, min	15
Duration of the stirring at cooking temperature, min	40–50
Whey draining time into the molds, min	30
The number of turns of molds during whey draining	3
Pressing duration, min	120–180
Head weight after pressing, kg	~1,5
Acidity of cheese before salting, pH	5,30±0,05
Salting duration, h	2

Note:

* activated starter culture in sterile milk is used

** the introduction dose of MCE is based on the design of the experiment. The table shows the nominal durations of the process steps ± deviations.

After pressing, fresh cheeses were salted by immersion in a 22% NaCl solution for 8 h at a temperature of 4 ± 2 °C. After salting, the cheeses were dried for 14–16 hours at a temperature of 4 ± 2 °C and a relative humidity of $85 \pm 5\%$, and then packaged. After salting and drying, fresh cheeses were packed. Packing was carried out under vacuum (pressure $0.96 \pm 0.01 \cdot 10^{-5}$ Pa; duration of vacuum treatment — 17 s) into bags made of Amivak CH-B polymer film (Atlantis-Pak, Russia) using a Henkelman Boxer 42 packaging machine (Henkelman Vacuum Systems). Packed cheeses were ripened at a temperature of 11 ± 1 °C.

2.2.6. Methods of statistical analysis

The study was based on the design of the experiment that included two categorical factors: “MCE brand” and “MCE dose”.

Table 2 shows the design of the experiment.

Table 2. Design of experiment

Таблица 2. План эксперимента

MCE brand	Introduction dose of MCE	
	Factor level	IMCU/100 kg of milk
Fromase 750 XLG	-1	1,500
Pepsin FS-10	-1	1,500
Naturen Extra	-1	1,500
Fromase 750 XLG	0	3,000
Pepsin FS-10	0	3,000
Naturen Extra	0	3,000
Chy-max Extra	0	3,000
Chy-max Supreme	0	2,000
Naturen Extra	+1	6,000
Chy-max Extra	+1	6,000
Chy-max Supreme	+1	5,000

Two replications of the experiments were carried out in a randomized order.

Mathematical data processing was carried out using the software packages of Microsoft Excel and Statsoft Statistica (v. 5.5). The effect of the “MCE brand” and “MCE dose” factors on the response variables was assessed using two-way analysis of variance (ANOVA) using the Tukey pairwise comparison method [32].

3. Results and discussion

3.1. Milk-clotting and proteolytic activity of MCE

One of the aims of the experiment was to evaluate the influence of the level of non-specific PA on the course of technological processes in the cheese production, as well as on the dynamics of proteolysis during the cheese ripening. Table 3 shows the data on the dose of non-specific PA introduced into milk when using different doses of different types of MCEs for coagulation.

Table 3. Introduction dose of MCE in units of milk-clotting and total proteolytic activity

Таблица 3. Доза внесения МФ в единицу молокосвертывающей и общей протеолитической активности

MCE brand	Milk-clotting activity of MCE (MA), nominal, IMCU/g	Proteolytic activity of VAG (PA), PA/g units	Introduction of MCE in terms of units of PA, at the level of the factor “introduction dose of MCE”***		
			-1	0	+1
Fromase® 750 XLG	776**	56.91	110.01	220.01	—
FS10 “Bovine pepsin” (15/85)	1087**	14.36	19.82	39.63	—
Naturen® Extra 220 (95/5)	193*	0.95	7.38	14.77	29.53
Chy-max® Extra 600 Liquid	554*	0.48	—	2.60	5.20
Chy-max® Supreme 1000	912*	0.28	—	0.61	1.54

Note:

* Nominal (declared by the manufacturer) milk-clotting activity of MCE.

** Actual (measured) milk-clotting activity of MCE.

*** The level of the “MCE dose” factor in IMCU units is given in Table 2.

The milk-clotting activity of MCE in liquid dosage form, recalculated from the nominal activity of 1 cm³ to the nominal activity of 1 g, based on the measured density of these preparations: Chy-max Supreme — 1.096 g/cm³; Chy-max Extra 600 Liquid — 1.083 g/cm³; Naturen® Extra 220 — 1.134 g/cm³; Fromase® 750 XLG — 1.180 g/cm³. The specimen FS10 “Bovine Pepsin” has a dry dosage form.

Their dosage was based on the proteolytic activity of MCE in the cheese production.

Chymosin-based MCEs have been used in the cheese production at doses of 3,000 and 6,000 IMCU/100 kg milk, respectively, for Naturen Extra and Chy-max Extra MCE, and 2,000 and 5,000 IMCU/100 kg milk for Chy-max Supreme, which corresponds to the minimum and maximum used doses of these MCEs recommended by the manufacturer. Naturen Extra MCE has also been studied at a dose of 1,500 IMCU/100 kg of milk, which is ½ of the minimum introduction dose recommended by the MCE manufacturer. Introduction doses of MCEs from 1,200 to 1,600 IMCU/100 kg of milk are obtained using the “VNIIMS rennet-probe” method to calculate the minimum amount of MCE required for milk coagulation within ~30 min [33,34].

For MCE based on microbial protease (Fromase 750 XLG) and bovine pepsin (“Bovine Pepsin” FS-10), which have higher levels of PA than MCEs based on chymosins, introduction doses of 1,500 and 3,000 IMCU/100 kg of milk were chosen, due to the high probability of obtaining a bitter taste in cheese at a higher dose of these MCEs, as proved by the results of studies of microbial proteases [8, 35] and pepsins [6, 36] in production of cheeses.

3.2 Milk coagulation and curd processing

To coagulate milk, working solutions of MCE were prepared with a concentration of 5.0 IMCU/cm³. The introduction dose of MCE working solutions was calculated to achieve a concentration of MCE from 1,500 to 6,000 IMCU per 100 kg of processed milk, depending on the factor levels in the design of the experiment.

MCE was added into milk after the introduction of the starter of lactic acid microorganisms and holding the milk until an acidity of 6.45±0.05 pH was reached. To obtain comparable results, the moment of the curd readiness for cutting was determined online using a measuring system based on the Hot-Wire method. The milk with the introduced MCE solution was stirred for 2 min, after which the sensors of the measuring system were immersed into the product. The moment when mixing is completed is considered the moment of the beginning of coagulation.

The moment of coagulation completion (curd readiness for cutting) was confirmed by a qualified cheesemaker by an organoleptic test for curd fracture. The curd, ready for cutting, when lifted with a spatula, gave a fracture with sharp edges with the release of a transparent yellowish-green whey.

The duration of the curd processing stages was not a fixed value, but was determined by its readiness for the next processing stage in accordance with the regulations for the production of semihard cheeses. Process formation and stirring of curd grain was continued until a sufficient degree of compaction was obtained and a dense layer was formed on the surface of the grains, protecting the grains from destruction during kneading thoroughly. Processing during and after cooking continued until the cheese grains acquired the necessary density and stickiness, making it possible to form a coherent cheese mass from individual grains, which can be pressed.

The processing of cheese grains in the cheese vat was considered completed after the cheese grains acquired the required density (which indicated a sufficient degree of dehydration) while maintaining sufficient stickiness of the grains. The readiness of the grain was determined by the method generally accepted in the cheesemaking practice — a “grinding test” for the grain.

To establish the influence of experimental factors (type and dose of MCE) on the duration of coagulation and the total duration of grain processing in the cheesemaking tank, analysis of variance of the data was carried out. Table 4 shows the results of the analysis of variance.

Table 4. Mean sum of squared deviations, level of statistical significance and coefficients of determination of the ANOVA model for response variables

Таблица 4. Средняя сумма квадратов отклонений, уровень статистической достоверности и коэффициенты детерминации модели ANOVA для переменных отклика

Factor	df	Coagulation duration, min	Processing time (without coagulation), min
Type	4	10.32 (–)	14.83 (–)
Dose	2	805.36 (***)	172.97 (**)
Error	17	4.58	19.04
R ²		0.96	0.61

Note:

df — number of degrees of freedom

Factor keys: Type — MCE type; Dose — MCE dose.

Error — part of the response variable variation related to an error;

R² — coefficient of determination for the ANOVA model.

The level of statistical significance of the factor effect evaluation (in parentheses): “–” — statistically inaccurately ($p > 0.05$); “*” — $p < 0.05$; “**” — $p < 0.01$; “***” — $p < 0.001$.

The results of the analysis of variance show that the MCE dose ($p < 0.001$) affects the coagulation duration and the total duration of grain processing in the cheesemaking tank, and there is no influence of the MCE type ($p > 0.05$). The analysis of variance

model containing the selected set of factors provides a reliable description of the variation of the response variables “coagulation duration” at the level of $R^2 = 0.96$ and “processing duration” at the level of $R^2 = 0.61$.

Figure 1 shows the graphs reflecting the dependence of the duration of milk coagulation and the stages of the milk curd processing on the introduction dose of various types of MCEs in the manufacture of experimental variants of semihard cheeses.

The graphs visualizing the influence of experimental factors on the response variables (Figure 1) show that with an equal dose of MCE, there are no statistically accurate differences between MCEs of different types (Tukey’s test, $p > 0.05$) in the coagulation duration and in the total duration of curd processing in the cheesemaking tank. Increasing the MCE dose from the minimum level (1,500 IMCU/100 kg) to the average level (2,000 for Chy-max Supreme MCE and 3,000 IMCU/100 kg for other MCEs) results in a statistically accurate (Tukey’s test, $p < 0.05$) reduction in the coagulation duration by an average of 20 minutes. Further increase in the MCE dose to the maximum level (5,000 for Chy-max Supreme MCE and 6,000 IMCU/100 kg for other MCEs) does not provide a significant result in terms of reduction in the coagulation duration (Tukey’s test, $p > 0.05$).

At the same time, with an increase in the MCE dose from the average to the maximum one, it leads to a statistically significant (Tukey test, $p < 0.05$) reduction in the duration of curd processing in the tank by an average of 10 minutes.

Based on the obtained results on the effect of the type and dose of MCE on the duration of the stages of processing the cheese curd in the tank, it can be concluded that the use of high doses of MCE (5,000–6,000 IMCU/100 kg of milk) for milk coagulation can be considered an appropriate technological method, leading to a reduction in the time spent on cheese production and to an increase in the turnover of technological equipment.

3.2 Whey composition

To establish the influence of experimental factors on the indicators of the composition of whey obtained in the manufacture of cheeses using different types and doses of MCEs, an analysis of variance of the data was carried out. Table 5 shows the results of the analysis of variance.

Table 5. Mean sum of squared deviations, level of statistical significance and coefficients of determination of the ANOVA model for response variables

Таблица 5. Средняя сумма квадратов отклонений, уровень статистической достоверности и коэффициенты детерминации модели ANOVA для переменных отклика

Factor	df	Mass fraction of fat, %	Mass fraction of protein, %	Mass fraction of dry matter, %	Optical density *, units
Type	4	0.08625 (**)	0.00076 (–)	0.102 (*)	0.02594 (*)
Dose	2	0.001583 (–)	0.00743 (–)	0.049 (–)	0.00259 (–)
Error	17	0.01527	0.00363	0.031	0.00923
R ²		0.69	0.36	0.68	0.56

Note:

df — number of degrees of freedom

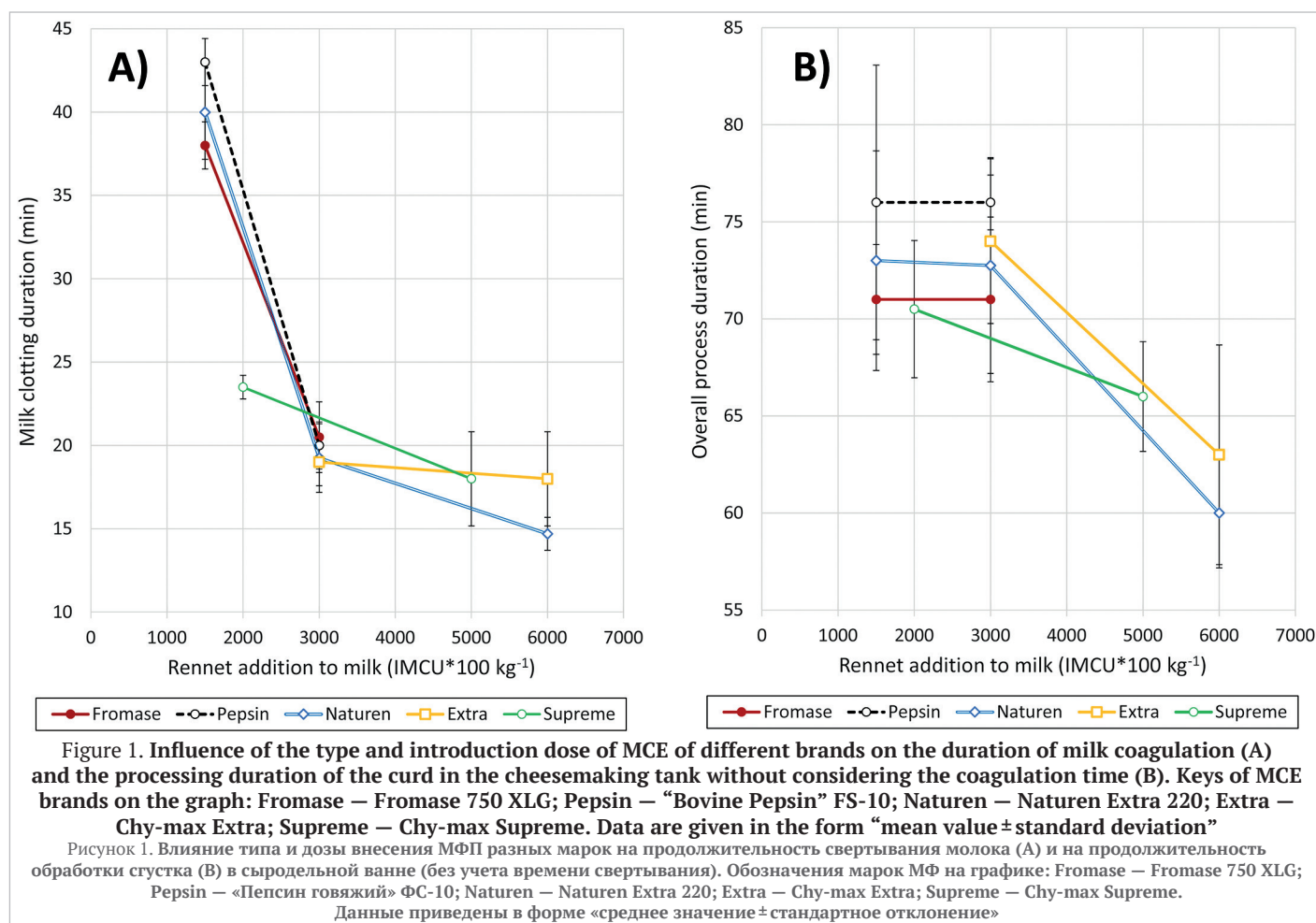
Factor keys: Type — MCE type; Dose — MCE dose.

Error — part of the response variable variation related to an error;

R² — coefficient of determination for the ANOVA model.

The level of statistical significance of the factor effect evaluation (in parentheses): “–” — statistically inaccurately ($p > 0.05$); “*” — $p < 0.05$; “**” — $p < 0.01$; “***” — $p < 0.001$.

Based on the results of the analysis of variance shown in Table 5, the following conclusions can be drawn. The factor significantly ($p < 0.05$) influencing the composition of cheese whey is “MCE type”, but not “MCE dose”. At the same time, the MCE type has a statistically accurate effect on the total content of dry matter and fat in whey, but not on the content of whey protein.



The effect of factors (type and dose of MCE) established by the method of variance analysis on indicators of the composition of cheese whey is visualized in the form of graphs presented in Figure 2.

The difference between various types of studied MCEs is the level of non-specific PA (Table 3). The data given in Figures 2 (A) and 2 (B) can show that at equal introduction doses, MCEs with high PA (Fromase, Pepsin) have statistically significant ($p < 0.05$, Tukey's test) large losses of fat and dry matter of the curd into whey than MCEs with lower PA (Naturen, Chy-max Extra and Chy-max Supreme). In addition, there are similar differences between the MCE variants in terms of protein losses in whey and in whey optical density (Figures 2 (C) and 2 (D)), but these differences are not statistically accurate ($p > 0.05$, Tukey's test).

According to data [8], MCEs with high PA cause proteolytic cleavage of alpha- and beta-caseins in the cheese curd at the stage of processing in the cheesemaking tank. Under the action of proteolysis, the strength of the curd and its resistance to mechanical stress decrease. Such a curd is subjected to crushing, followed by the loss of part of the dry matter into whey in the form of “cheese dust”. In addition, as a result of proteolytic cleavage, water-soluble peptides are formed from caseins, which transfer into whey.

The results of the analysis of variance (Table 5) and graphs visualizing them (Figure 2) allow us to conclude that the type of used MCE affects the loss of milk dry matter in the form of “cheese dust”, and not in the form of water-soluble proteolysis products (peptides) formed during caseins cleavage. This conclusion is confirmed by the results of microscopic and chromatographic studies of cheese whey. Figure 3 shows a photo of a micropreparation of cheese whey taken at the end of the

curd processing. Figure 3 (1) demonstrates the appearance of fat globules; Figure 3 (2) gives the appearance of a particle of cheese dust.

On the fracture of the “cheese dust” particle, it can be seen (Figure 3 (2)) that fat globules occupy the main volume of the particle. Therefore, the loss of dry matter in the form of “cheese dust” leads mainly to the loss of fat from the curd being processed.

Figures 4 and 5 show the chromatograms of whey obtained from the manufacture of cheeses with different types and doses of MCEs, reflecting the content of water-soluble protein substances in whey.

The peak in the free volume of the chromatogram (V_0) is formed by the smallest particles (“cheese dust” and fat globules) passing through a filter with a pore size of $0.45 \mu\text{m}$ used for filtration before chromatography. Figure 4 shows that whey samples from cheeses produced with MCEs of Fromase and “Pepsin” at the minimum introduction doses ($1,500 \text{ IMCU}/100 \text{ kg}$ of milk) show a higher peak free volume (V_0). This means the presence of a greater amount of cheese dust in the composition of whey obtained from cheeses made with minimal MCEs doses of Fromase and “Pepsin”.

Water-soluble products of proteolysis potentially formed from curd caseins under the action of MCE have a mass of less than 5 kDa [37]. On the chromatograms of cheese whey obtained from cheeses produced with different combinations of the type and dose of MCEs, there are no significant differences in the area of the peaks of substances with a molecular weight of less than 5 kDa . This means that during the grain processing in the tank, there is no proteolytic effect of MCE on alpha- and beta-caseins, to the extent that leads to the formation of water-soluble proteolysis products and their loss from the curd to the whey.

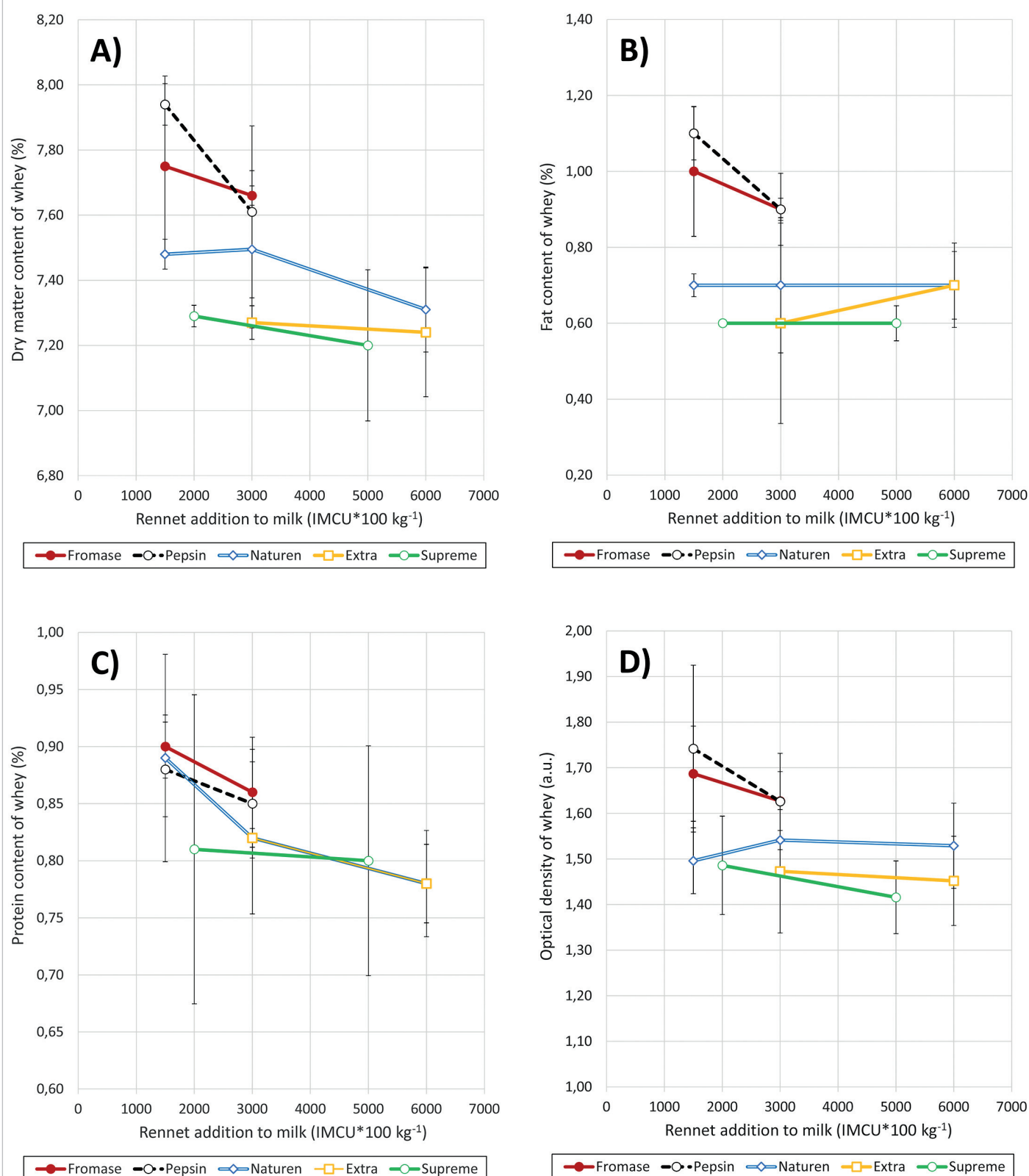


Figure 2. The influence of the type and introduction dose of MCE of different brands on the mass fraction of dry matter of whey (A), the mass fraction of whey fat (B), the mass fraction of whey protein (C) and the optical density of whey (D). The keys of the MCE brands on the graph are similar to Figure 1.

The data are given in the form of "mean value $\pm$ standard deviation"

Рисунок 2. Влияние типа и дозы внесения МФП разных марок на: массовую долю сухого вещества сыворотки(А), массовую долю жира сыворотки (В), массовую долю белка сыворотки(С), оптическую плотность сыворотки (D). Обозначения марок МФ на графике аналогичны с Рисунок 1. Данные приведены в форме «среднее значение $\pm$ стандартное отклонение»

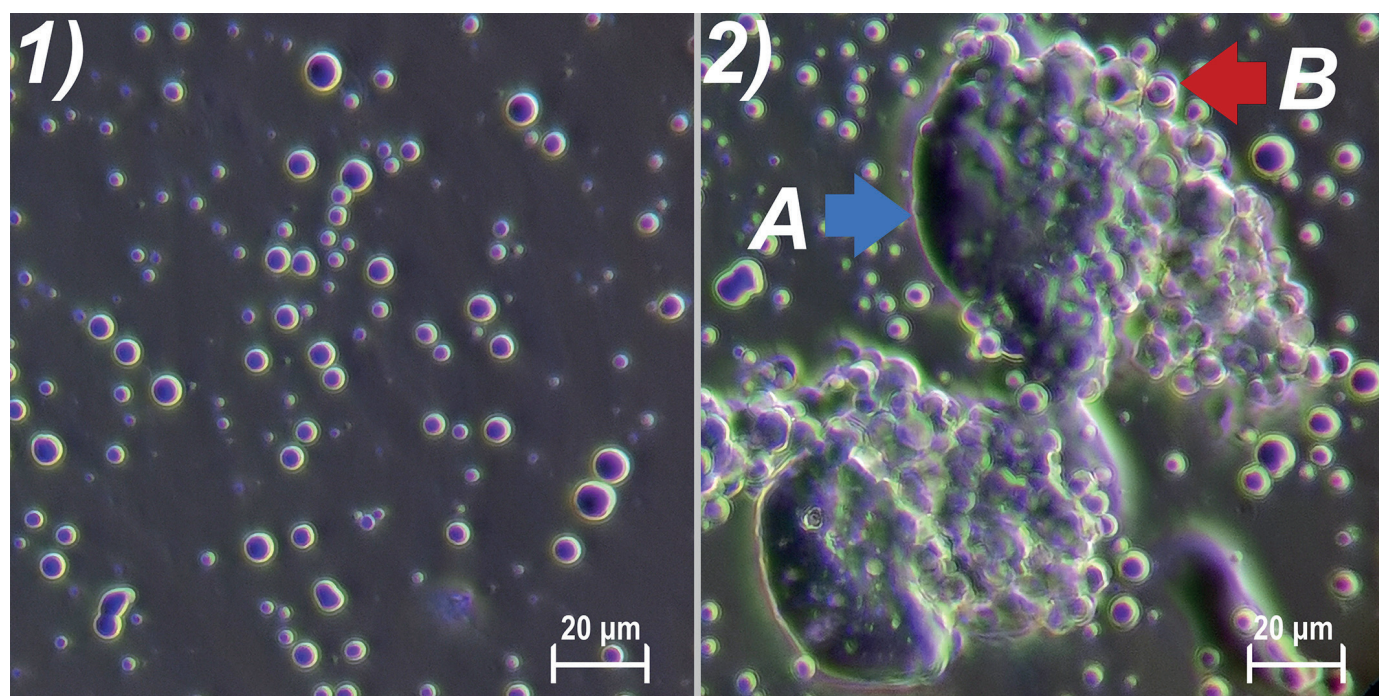


Figure 3. **Whey micropreparation 1) fat globules; 2) cheese dust particles (A) containing a large number of fat globules (B)**
 Рисунок 3. Микропрепарат сыворотки: 1) жировые шарики; 2) частицы сырной пыли (A), содержащие большое количество жировых шариков (B)

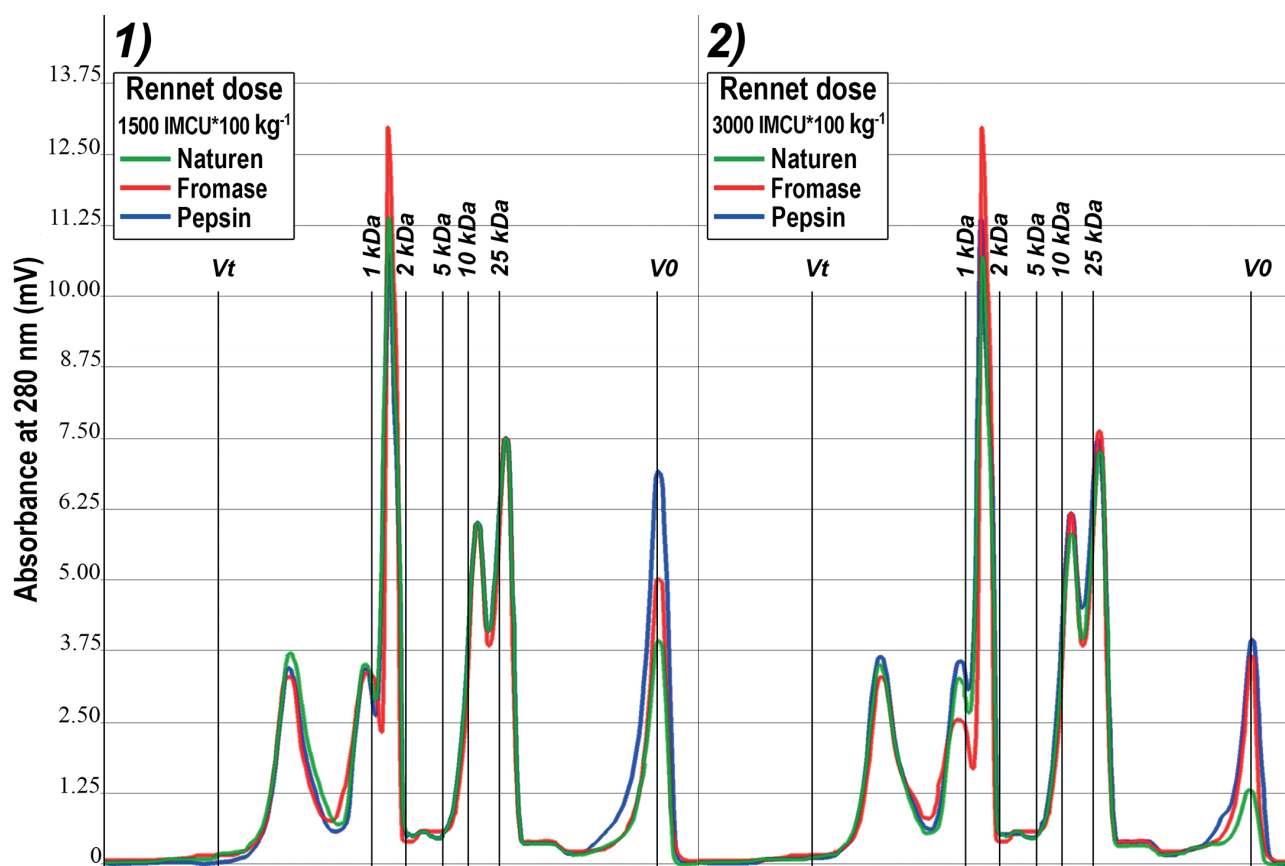
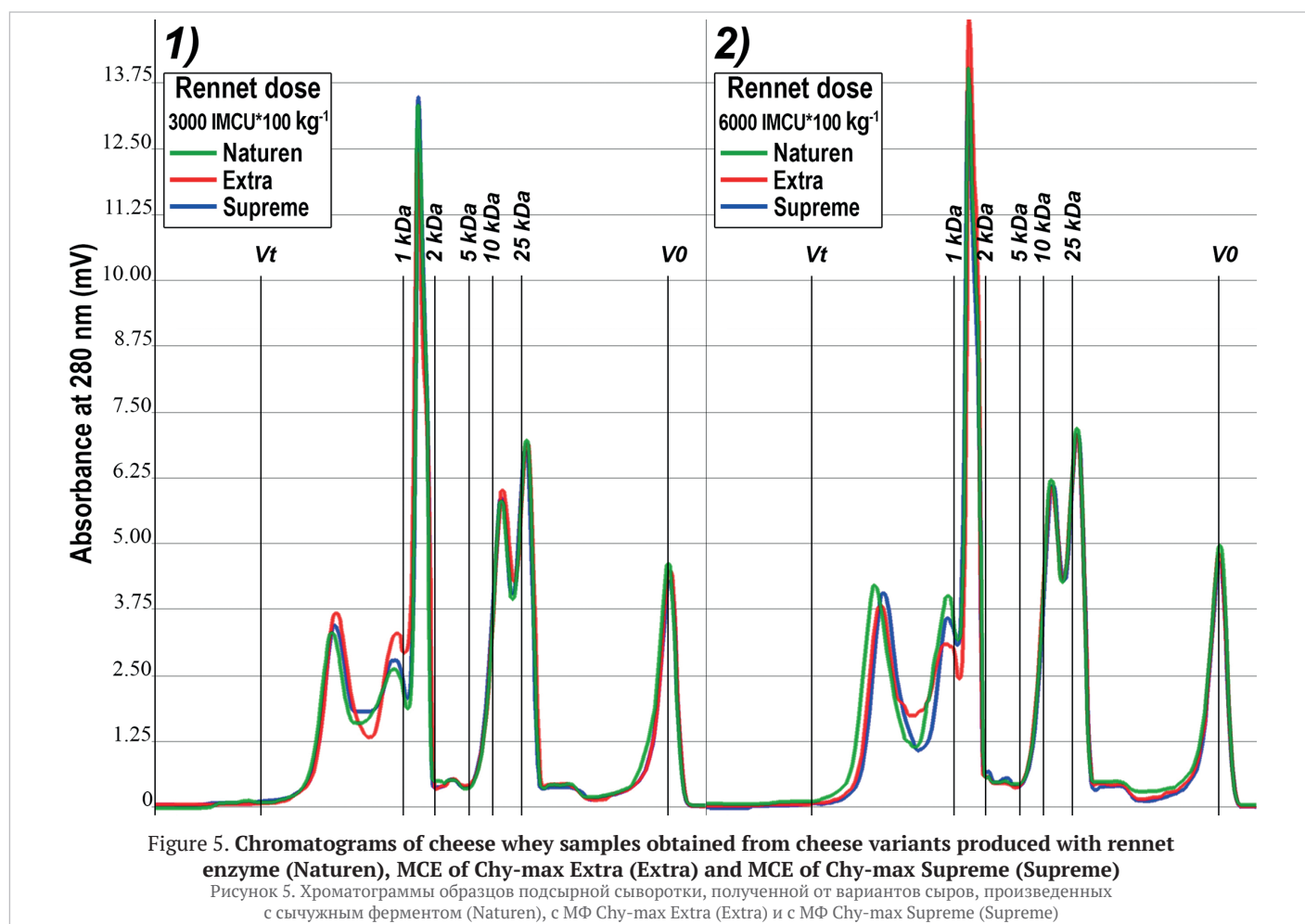


Figure 4. **Chromatograms of cheese whey samples obtained from cheese variants produced with rennet enzyme (Naturen), microbial MCE (Fromase), and MCE based on bovine pepsin (Pepsin)**
 Рисунок 4. Хроматограммы образцов подсырной сыворотки, полученной от вариантов сыров, произведенных с сычужным ферментом (Naturen), с МФ микробного происхождения (Fromase) и с МФ на основе говяжьего пепсина (Пепсин)



The influence of the MCE type on the optical density of the whey (Table 5, Figure 2 (D)), is also confirmed by the fact that the dry matter of the curd is lost in the form of optically opaque particles, i.e. “cheese dust”.

Based on the obtained results on the effect of the type and dose of MCE on the amount of dry matter loss of the curd in cheese whey, it can be concluded that the use of higher doses of MCE with a high MCA/PA ratio, such as Chy-max Extra and Naturen (6000 IMCU/100 kg of milk) leads to a decrease in the loss of milk dry matter to whey by ~0.6% (from 7.8% to 7.2%). At the same time, the use of Chy-max Supreme MCE makes it possible to achieve equally low losses already at an introduction dose of 2,000 IMCU/100 kg of milk.

3.4. Physicochemical indicators of cheeses

The aim of the experiment was to obtain cheeses of the same composition. To achieve this goal, the duration of mechanical processing of the curd in the tank was adjusted (see section 3.2).

Table 6 shows the physicochemical indicators of test cheeses at the beginning of the shelf life (in 7 days).

Cheese variants made using different types and doses of MCEs did not have statistically accurate differences in the content of dry matter, fat, protein, salt and pH level (Tukey's test, $p > 0.05$).

Table 6. Physicochemical parameters of test cheeses at the beginning of storage

Таблица 6. Физико-химические показатели экспериментальных сыров в начале хранения

MCE brand	Dose*	Mass fraction of dry matter, %	Mass fraction of fat, %	Mass fraction of protein, %	Mass fraction of salt, %	pH
Fromase 750XLG	-1	58.28±0.27	30.80±0.61	20.18±0.56	1.24±0.03	5.11±0.06
	0	58.23±0.40	32.27±0.11	20.15±0.28	1.15±0.08	5.08±0.05
Pepsin FS-10	-1	56.85±0.44	30.80±1.10	20.01±0.54	1.10±0.06	5.10±0.07
	0	58.70±1.28	31.53±0.53	20.55±0.82	1.41±0.02	5.12±0.06
Naturen Extra	-1	58.04±0.44	31.10±0.55	20.67±0.15	1.30±0.03	5.11±0.04
	0	58.95±1.34	31.53±1.12	20.52±0.64	0.95±0.05	5.15±0.03
	+1	57.08±0.96	31.12±0.57	19.25±0.79	1.36±0.04	5.11±0.03
Chy-max Extra	0	58.92±0.01	33.00±0.01	19.56±0.23	1.36±0.03	5.13±0.02
	+1	56.97±0.17	31.02±1.00	19.13±0.69	1.29±0.01	5.09±0.03
Chy-max Supreme	0	57.58±0.87	33.00±0.28	19.31±0.64	1.36±0.04	5.13±0.02
	+1	56.92±1.07	31.77±0.59	19.31±0.62	1.33±0.05	5.09±0.01

Note:

* Introduction dose of MCE into the milk mixture, IMCU/100 kg of milk: “-1” — 1,500; “0” — 2,000 for Chy-max Supreme MCE and 3,000 for other MCEs; “+1” — 5,000 for the Chy-max Supreme MCE and 6,000 for other MCEs. Data are presented in the format “mean value±standard deviation”.

3.5. Conversion efficiency of milk dry matter

To establish the influence of experimental factors on the efficiency of converting milk dry matter into cheese, an analysis of variance of the data was carried out. Table 7 shows the results of the analysis of variance, reflecting the degree of influence of the type and dose of MCEs used in the cheese production, on the indicators characterizing the efficiency of the conversion of milk dry matter.

The results of the analysis of variance, given in Table 7, show that the MCE dose has a significant effect on the actual cheese

yield and on the weight of the cheese head ($p < 0.001$). In addition, the MCE dose affects, although less significantly, the degree of transition of fat and protein into the composition of the cheese mass ($p < 0.05$).

The influence of the experimental factors (type and dose of MCE) on the indicators characterizing the efficiency of the conversion of milk dry matter is visualized in the form of graphs in Figure 6.

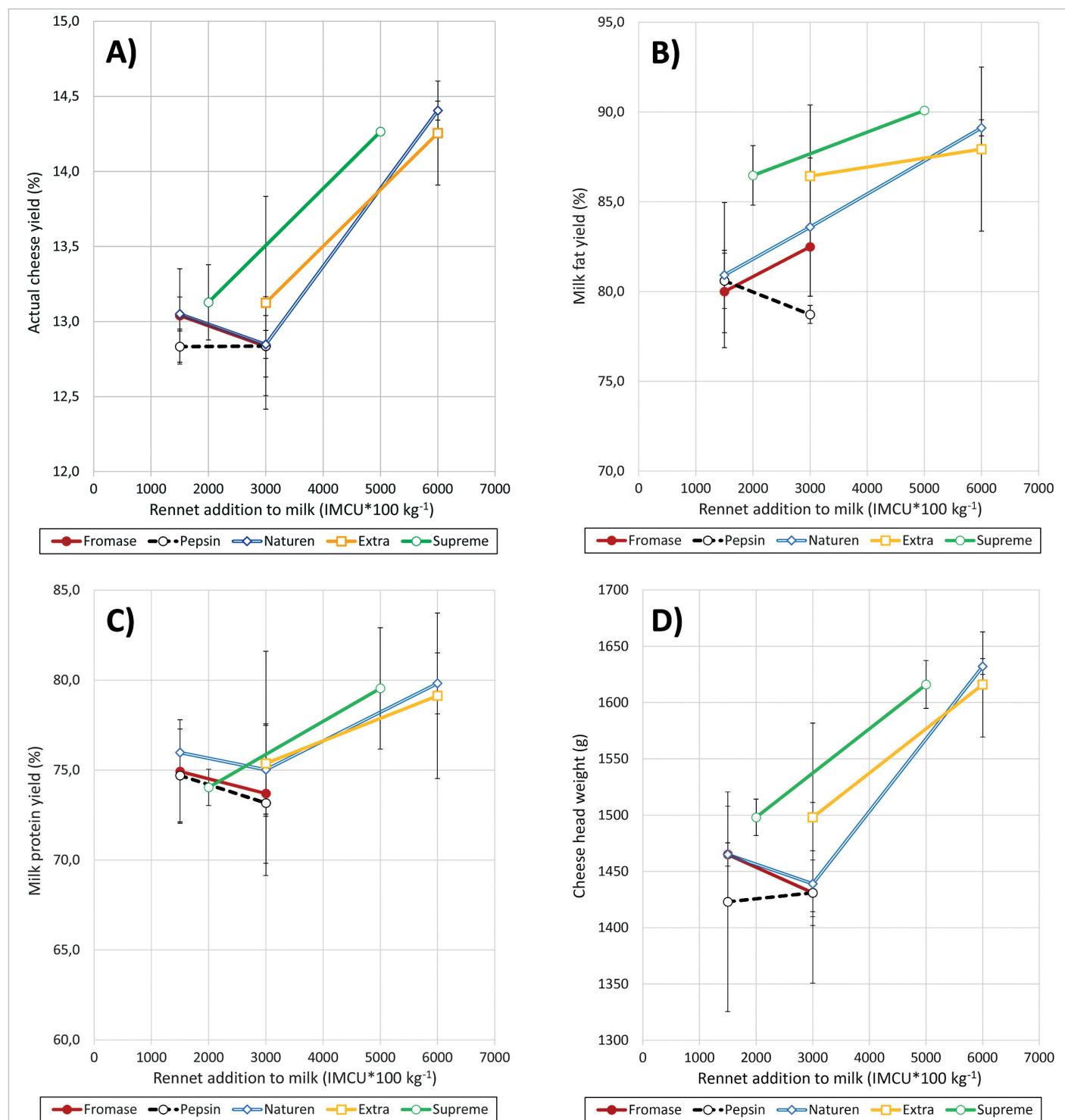


Figure 6. Influence of the type and introduction dose of MCE of different brands on the actual cheese yield (A), the degree of transition of fat into the cheese composition (B), the degree of transition of protein into the cheese composition (C), the weight of the cheese head (D). The keys of the MCE brands on the graph are similar to Figure 1.

The data are given in the form of “mean value $\pm$ standard deviation”

Рисунок 6. Влияние типа и дозы внесения МФП разных марок на: фактический выход сыра (A), степень перехода жира в состав сыра (B), степень перехода белка в состав сыра (C), массу сырной головки (D). Обозначения марок МФ на графике аналогичны с Рисуноком 1.

Данные приведены в форме «среднее значение $\pm$ стандартное отклонение»

Table 7. Mean sum of squared deviations, level of statistical significance and coefficients of determination of the ANOVA model for response variables

Таблица 7. Средняя сумма квадратов отклонений, уровень статистической достоверности и коэффициенты детерминации модели ANOVA для переменных отклика

	df	Actual cheese yield, %	Percentage transferred to cheese		Weight of the cheese head, g
			Milk fat, %	Milk protein, %	
Type	4	0.035 (–)	15.5 (–)	2.1 (–)	2005 (–)
Dose	2	2.917 (***)	35.1 (*)	38.9 (*)	37776 (***)
Error	17	0.068	7.9	7.4	2157
R ²		0.88	0.68	0.48	0.78

Note:

df — number of degrees of freedom

Factor keys: Type — MCE type; Dose — MCE dose.

Error — part of the response variable variation related to an error;

R² — coefficient of determination for the ANOVA model.

The level of statistical significance of the factor effect evaluation (in parentheses): “–” — statistically inaccurately ($p > 0.05$); “*” — $p < 0.05$; “**” — $p < 0.01$; “***” — $p < 0.001$.

The reason for the influence of the “MCE dose” factor on the actual cheese yield and the weight of the cheese head is the reduction in the total duration of processing of the cheese curd with an increase in the MCE dose. Other conditions being equal, reducing the processing duration leads to the preservation of more moisture in the curd. Cheeses with high doses of MCE had a shorter duration of curd processing in the tank (Figure 1), and as a result, a higher moisture content, compared to cheeses produced with lower doses of MCE and subjected to longer mechanical processing. Figure 7 (A) visualizes the relationship between the MCE dose used to coagulate the milk, the duration of curd processing, and the mass fraction of moisture in the cheese.

In addition, a factor that implicitly affects the cheese yield and the weight of the cheese head is the “MCE type”. The use of MCE in the cheese production, which have a low level of PA, helps to

reduce fat loss to whey (Figure 2 (B)) and increase the degree of transfer of milk fat to cheese (Figure 6 (B)). Emmons [6] showed that loss of whey fat leads to a proportional decrease in fat content in cheese and a decrease in cheese yield. On the contrary, a decrease in fat loss leads to an increase in the cheese yield and the weight of the cheese head. Figure 7(B) shows the relationship between moisture and fat content of cheeses and actual cheese yield.

The data obtained indicate the effect of the use of types and doses of MCEs in the study on the duration of the stages of processing the cheese curd, on the loss of dry matter of the curd in the cheese whey, the composition of fresh cheeses (mass fraction of moisture and fat) and on the cheese yield. The regularities discovered in this work coincide with the results of studies by other authors discussed in the introduction to this article.

Conclusions

Based on the data obtained, the following conclusions can be drawn:

- the studied MCEs of different origins (animal, microbial, and recombinant) differ significantly in the level of specific non-specific proteolytic activity, expressed in terms of the MCA/PA index, according to which the studied MCEs of different types are arranged in descending order: *R. miehei* protease (Fromase) > bovine pepsin (PS-10) > calf rennet (Naturen) > recombinant calf chymosin (Chy-max Extra MCE) > modified camel chymosin (Chy-max Supreme MCE);
- despite significant differences in the level of specific non-specific proteolytic activity, the duration of milk coagulation by the studied MCEs depends only on the dose of units of milk-clotting activity, but not on the proteolytic activity of MCEs. The exception is Chy-max Supreme, which has the highest MCA/PA. When adding Chy-max Supreme MCE to milk at a dose of 2,000 IMCU/100 kg of milk, the duration of milk coagulation is provided at a level that requires the introduction of other studied MCEs at a dose of

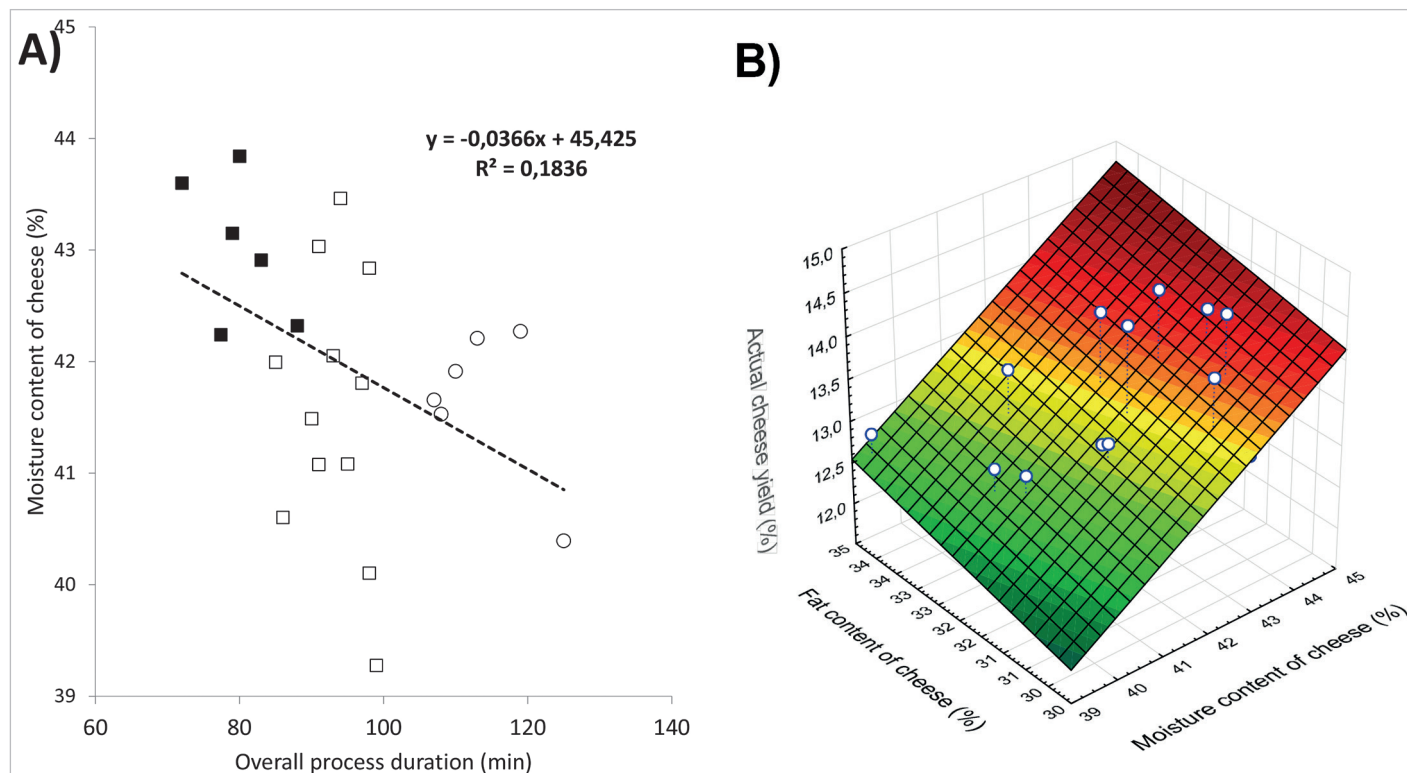


Figure 7. A) Effect of the total curd processing time, include the coagulation time, on the moisture content of the cheese. Introduction dose of MCE (see Table 2): ○ — level “-1”; □ — level “0”; ■ — level “+1”. B) The dependence of the actual cheese yield on the indicators of the cheese composition

Рисунок 7. А) Влияние общей продолжительности обработки сырного сгустка на содержание влаги в сыре. Доза внесения МФ (см. Таблицу 2): ○ — уровень «-1»; □ — уровень «0»; ■ — уровень «+1»; Б) Зависимость фактического выхода сыра от показателей состава

- 3,000 IMCU/100 kg of milk. In addition, the dose of Chy-max Supreme MCE at 5,000 IMCU/100 kg of milk provides the same duration of milk coagulation as other tested MCEs at a dose of 6,000 IMCU/100 kg of milk;
- ❑ the level of specific non-specific proteolytic activity of MCEs does not affect the total duration of grain processing in the cheesemaking tank. There are no significant ($p < 0.05$) differences between MCEs with different levels of MCA/PA in terms of the total duration of grain processing in the tank, which is significantly ($p < 0.05$) affected by the MCE dose introduced for milk coagulation. With an increase in the MCE dose, the duration of grain processing in the tank is reduced;
 - ❑ the level of specific non-specific proteolytic activity of MCEs affects the proportion of milk dry matter lost in the whey

- composition during the processing of the cheese curd. In variants of cheeses made with the use of MCEs with a low level of MCA/PA (Fromase, “Bovine Pepsin”), the highest waste of milk dry matter into whey is noted. When using natural calf rennet (Naturen Extra), there is less release of milk dry matter into whey. In the variants with the use of MCEs with the highest level of MCA/PA (Chy-max Extra and Chy-max Supreme), the lowest release of milk dry matter into whey among the studied types of MCEs is noted;
- ❑ the use of MCEs with a low level of PA at an increased dosage (6,000 IMCU/100 kg of milk for Naturen and Chy-max Extra or 5,000 IMCU/100 kg of milk for Chy-max Supreme) can increase the actual cheese yield by an average of 1.5% (from 12.7% to 14.2%).

REFERENCES

1. Fox, P. F., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (2017). Rennet-Induced Coagulation of Milk. Chapter in a book: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier: Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00005-3>
2. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. (2017). Cheese: Enzymatic Coagulation of Milk. Chapter in a book: Fundamentals of Cheese Science, 2nd Ed. New York: Springer, 2017. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_7
3. Chitpintyol, S., Crabbe, M. D. C., (1998). Review. Chymosin and aspartic proteinases. *Food Chemistry*, 61(4), 395–418.
4. Harboe, M., Broe, M. L. Qvist, K. B. (2010). The Production, action and application of rennet and coagulants. Chapter in a book: Technology of cheesemaking, 2nd Ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd., 2010. <https://doi.org/10.1002/9781444323740.ch3>
5. Jaros, D., Rohm, H. (2017). Rennets: Applied Aspects. Chapter in a book: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier: Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00003-X>
6. Emmons, D. B., Reiser, B., Giroux, R. N., Stanley, D. W. (1976). Cheddar cheese made with bovine pepsin. I. Yield and quality of cheese. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 9(4), 189–200. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(76\)73674-5](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(76)73674-5)
7. Meinardi, C. A., Alonso, A. A., Hynes, E. R., Zalazar, C. A. (2002). Influence of milk-clotting enzymes on acidification rate of natural whey starter culture. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3), 139–144. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00052.x>
8. Jacob, M., Jaros, D., Rohm, H. (2010). The effect of coagulant type on yield and sensory properties of semihard cheese from laboratory-, pilot- and commercial-scale productions. *International Journal of Dairy Technology*, 63(3), 370–380. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00598.x>
9. Yasar, K., Guzeler, N. (2011). Effects of coagulant type on the physico-chemical and organoleptic properties of Kashar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 64(3), 372–379. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00679.x>
10. Dekker, P. (2019). Dairy Enzymes. Chapter in a book: Industrial Enzyme Applications. 1st Ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2019. https://doi.org/10.1002/9783527813780.ch2_3
11. Ha-La biotec. Chy-max® Supreme cheese production at a new level. Retrieved from https://halabiotec.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Ha-La-Biotec_147.pdf Accessed April 12, 2022. (In Portuguese)
12. Fox, P. F., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (2017). Factors that Affect the Quality of Cheese. Chapter in a book: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier: Academic Press, 2017. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80084-8](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80084-8)
13. Mozzarella is the biggest category in the commercial cheese market. Retrieved from https://mejeritekniskelskab.dk/sites/default/files/dms/Seminarprogrammer/ulf_mortensen_new_syrning_og_koagulering_i_mozzarella_apr2018_final_version.pdf Accessed April 12, 2022
14. Chr Hansen. Working together to produce more cheese from milk. Retrieved from <https://sdtstatic.s3.amazonaws.com/media/uploads/2019/05/13/1CHR%20HANSEN190508%20SDT%20Presentation%20CHR%20Hansen.pdf> Accessed March 01, 2023.
15. Wilkinson, M. G., Kilcawley, K. N. (2005). Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15(6–9), 817–830. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.021>
16. Moynihan, A. C., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., Lucey, J. A., McSweeney, P. L. H. (2014). Effect of camel chymosin on the texture, functionality, and sensory properties of low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 85–96. <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7081>
17. Soodam, K., Ong, L., Powell, I. B., Kentish, S. E., Gras, S. L. (2015). Effect of rennet on the composition, proteolysis and microstructure of reduced-fat Cheddar cheese during ripening. *Dairy Science and Technology*, 95, 665–686. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0250-5>
18. Alinovi, M., Cordoli, M., Francolino, S., Locci, F., Ghiglietti, R., Monti, L. et al. (2018). Effect of fermentation-produced camel chymosin on quality of crescenza cheese. *International Dairy Journal*, 84, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.04.001>
19. Myagkonosov, D. S., Abramov, D. V., Delitskaya, I. N., Bukcharina, G. B. (2022). Effect of the recombinant chymosins of different origins on the quality and shelf life of soft cheeses. *Food Systems*, 5(3), 239–248. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-3-239-248>
20. McCarthy, C. M., Wilkinson, M. G., Guinee, T. P. (2017). Effect of coagulant type and level on the properties of half-salt, half-fat Cheddar cheese made with or without adjunct starter: improving texture and functionality. *International Dairy Journal*, 75, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.07.006>
21. Bansal, N., Drake, M. A., Piraino, P., Broe, M. L., Harboe, M., Fox, P. F. et al. (2009). Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 19(9), 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.03.010>
22. Sousa, M. J., Malcata, F. X. (1996). Effects of processing conditions on the caseinolytic activity of crude extracts of *Cynara cardunculus* L. *Food Science and Technology International*, 2(4), 255–263. <https://doi.org/10.1177/108201329600200408>
23. Arbita, A., Kristijarti A., Ardelia I. (2015). The effects of the types of milk (cow, goat, soya) and enzymes (rennet, papain, bromelain) toward Cheddar cheese production. *Makara Journal of Technology*, 19(1), Article 7. <https://doi.org/10.7454/mst.v19i1.3028>
24. Ben Amira, A., Besbes, S., Attia, H., Blecker, C. (2017). Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S76–S93. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1289959>
25. Osuna-Ruiz, I., Tiznado-Garzon, R., Salazar-Leyva, J. A., Garcia-Magaña, M. de L., Benítez-García, I., Moreno-Hernández, J. M. et al. (2023). Milk-clotting and proteolytic properties of a partially purified pepsin from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) and its potential for cheesemaking. *Food and Bioprocess Technology*, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03030-3>
26. Eskander, M. (2017). Utilization chicken gizzard lining immobilized pepsin for soft white cheese manufacture. *Syrian Journal of Agricultural Research*, 4(4), 49–58. (In Arabic)
27. Creamer, L. K., Iyer, M., Lelievre, J. (1987). Effect of various levels of rennet addition on characteristics of Cheddar cheese made from ultrafiltered milk. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 22(3), 205–214.
28. McSweeney, P. L. H. (2007). Cheese problems solved. (2007). Woodhead Publishing, 2007
29. Visser, S., Slangen, C. J., Robben, A. J. P. M. (1992). Determination of molecular mass distributions of whey protein hydrolysates by high-permeance size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 599(1–2), 205–209. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85474-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85474-8)
30. Fox P. F., Guinee T. P., Cogan T. M., McSweeney P. L. H. (2017). Cheese Yield. Chapter in a book: Fundamentals of Cheese Science. Springer, Boston, MA, 2017. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_10
31. Smykov, I. T. (2018). Milk curd cutting time determination in cheesemaking. *Food Systems*, 1(2), 12–20. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-2-12-20> (In Russian)
32. Smykov, I. T. (2019). Self segmenting of rennet induced milk gel in cheesemaking tank. *International Journal of Dairy Technology*, 72(4), 591–600. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12650>
33. Montgomery, D. C. (2013). Design and analysis of experiments. Wiley, 2013
34. Myagkonosov, D. S., Mordvinova, V. A., Abramov, D. V., Ovchinnikova, E. G., Munchieva, T. E. (2020). Rennet test is an important tool for pro-

- ducing high quality cheese. *Cheesemaking and Buttermaking*, 2, 30–33. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-2-28-31> (In Russian)
35. Myagkonosov, D. S., Mordvinova, V. A., Abramov, D. V., Ovchinnikova, E. G., Municheva, T. E. (2020). Technological properties of milk clotting enzymes of different origin. Part II. Influence of the type of milk clotting enzyme used on proteolysis processes during cheese ripening. *Cheesemaking and Buttermaking*, 5, 10–13. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-5-10-13> (In Russian)
 36. Myagkonosov, D. S., Mordvinova, V. A., Delitskaya, I. N., Abramov, D. V., Ovchinnikova, E. G. (2020). The influence of milk-clotting enzymes on the functional properties of pizza-cheeses. *Food Systems*, 3(3), 42–50. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-3-42-50>
 37. Garg, S. K., Johri, B. N. (1994). Rennet: Current trends and future research. *Food Reviews International*, 10(3), 313–355. <https://doi.org/10.1080/87559129409541005>
 38. Jacob, M. (2011). Milk coagulation enzymes of various origins and their influence on cheese yield and cheese quality. Dissertation. Dresden: Technical University of Dresden, 2011. Retrieved from <https://d-nb.info/1067190643/34> Accessed March 01, 2023. (In German)

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Fox, P. F., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (2017). Rennet-Induced Coagulation of Milk. Chapter in a book: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Elsevier: Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00005-3>
2. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. (2017). *Cheese: Enzymatic Coagulation of Milk*. Chapter in a book: *Fundamentals of Cheese Science*, 2nd Ed. New York: Springer, 2017. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_7
3. Chitpintyol, S., Crabbe, M. D. C., (1998). Review. Chymosin and aspartic proteinases. *Food Chemistry*, 61(4), 395–418.
4. Harboe, M., Broe, M. L., Qvist, K. B. (2010). The Production, action and application of rennet and coagulants. Chapter in a book: *Technology of cheesemaking*. 2nd Ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd., 2010. <https://doi.org/10.1002/9781444323740.ch3>
5. Jaros, D., Rohm, H. (2017). Rennets: Applied Aspects. Chapter in a book: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Elsevier: Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00003-X>
6. Emmons, D. B., Reiser, B., Giroux, R. N., Stanley, D. W. (1976). Cheddar cheese made with bovine pepsin. I. Yield and quality of cheese. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 9(4), 189–200. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(76\)73674-5](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(76)73674-5)
7. Meinardi, C. A., Alonso, A. A., Hynes, E. R., Zalazar, C. A. (2002). Influence of milk-clotting enzymes on acidification rate of natural whey starter culture. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3), 139–144. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00052.x>
8. Jacob, M., Jaros, D., Rohm, H. (2010). The effect of coagulant type on yield and sensory properties of semihard cheese from laboratory-, pilot- and commercial-scale productions. *International Journal of Dairy Technology*, 63(3), 370–380. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00598.x>
9. Yasar, K., Guzeler, N. (2011). Effects of coagulant type on the physico-chemical and organoleptic properties of Kashar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 64(3), 372–379. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00679.x>
10. Dekker, P. (2019). Dairy Enzymes. Chapter in a book: *Industrial Enzyme Applications*. 1st Ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2019. https://doi.org/10.1002/9783527813780.ch2_3
11. Ha-La biotec. Chy-max® Supreme-cheese production at a new level. Retrieved from https://halabiotec.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Ha-La-Biotec_147.pdf Accessed April 12, 2022. (In Portuguese)
12. Fox, P. F., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (2017). Factors that Affect the Quality of Cheese. Chapter in a book: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Elsevier: Academic Press, 2017. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80084-8](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80084-8)
13. Mozzarella is the biggest category in the commercial cheese market. Retrieved from https://mejeritekniskelskab.dk/sites/default/files/dms/Seminarprogrammer/ulf_mortensen_new_syrning_og_koagulering_i_mozzarella_apr2018_final_version.pdf Accessed April 12, 2022.
14. Chr Hansen. Working together to produce more cheese from milk. Retrieved from <https://sdtstatic.s3.amazonaws.com/media/uploads/2019/05/13/1CHR%20HANSEN190508%20SDT%20Presentation%20CHR%20Hansen.pdf> Accessed March 01, 2023
15. Wilkinson, M. G., Kilcawley, K. N. (2005). Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15(6–9), 817–830. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.021>
16. Moynihan, A. C., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., Lucey, J. A., McSweeney, P. L. H. (2014). Effect of camel chymosin on the texture, functionality, and sensory properties of low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 85–96. <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7081>
17. Soodam, K., Ong, L., Powell, I. B., Kentish, S. E., Gras, S. L. (2015). Effect of rennet on the composition, proteolysis and microstructure of reduced-fat Cheddar cheese during ripening. *Dairy Science and Technology*, 95, 665–686. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0250-5>
18. Alinovi, M., Cordioli, M., Francolino, S., Locci, F., Ghiglietti, R., Monti, L. et al. (2018). Effect of fermentation-produced camel chymosin on quality of crescenza cheese. *International Dairy Journal*, 84, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.04.001>
19. Myagkonosov, D. S., Abramov, D. V., Delitskaya, I. N., Bukcharina, G. B. (2022). Effect of the recombinant chymosins of different origins on the quality and shelf life of soft cheeses. *Food Systems*, 5(3), 239–248. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-3-239-248>
20. McCarthy, C. M., Wilkinson, M. G., Guinee, T. P. (2017). Effect of coagulant type and level on the properties of half-salt, half-fat Cheddar cheese made with or without adjunct starter: improving texture and functionality. *International Dairy Journal*, 75, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.07.006>
21. Bansal, N., Drake, M. A., Piraino, P., Broe, M. L., Harboe, M., Fox, P. F. et al. (2009). Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 19(9), 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.03.010>
22. Sousa, M. J., Malcata, F.X. (1996). Effects of processing conditions on the caseinolytic activity of crude extracts of *Cynara cardunculus* L. *Food Science and Technology International*, 2(4), 255–263. <https://doi.org/10.1177/108201329600200408>
23. Arbata, A., Kristijarti A., Ardelia I. (2015). The effects of the types of milk (cow, goat, soya) and enzymes (rennet, papain, bromelain) toward Cheddar cheese production. *Makara Journal of Technology*, 19(1), Article 7. <https://doi.org/10.7454/mst.v19i1.3028>
24. Ben Amira, A., Besbes, S., Attia, H., Blecker, C. (2017). Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S76–S93. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1289959>
25. Osuna-Ruiz, I., Tiznado-Garzón, R., Salazar-Leyva, J.A., García-Magaña, M. de L., Benítez-García, I., Moreno-Hernández, J.M. et al. (2023). Milk-clotting and proteolytic properties of a partially purified pepsin from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) and its potential for cheesemaking. *Food and Bioprocess Technology*, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03030-3>
26. Eskander, M. (2017). Utilization chicken gizzard lining immobilized pepsin for soft white cheese manufacture. *Syrian Journal of Agricultural Research*, 4(4), 49–58. (In Arabic)
27. Creamer, L. K., Iyer, M., Lelievre, J. (1987). Effect of various levels of rennet addition on characteristics of Cheddar cheese made from ultrafiltered milk. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 22(3), 205–214.
28. McSweeney, P. L. H. (2007). Cheese problems solved. (2007). Woodhead Publishing, 2007
29. Visser, S., Slangen, C. J., Robben, A. J. P. M. (1992). Determination of molecular mass distributions of whey protein hydrolysates by high-permeance size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 599(1–2), 205–209. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85474-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85474-8)
30. Fox P. F., Guinee T. P., Cogan T. M., McSweeney P. L. H. (2017). *Cheese Yield*. Chapter in a book: *Fundamentals of Cheese Science*. Springer, Boston, MA, 2017. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_10
31. Смыков И. Т. (2018). Определение момента готовности молочного стврка к разрезке при производстве сыров. *Пищевые системы*, 1(2), 12–20. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2018-1-2-12-20>
32. Smykov, I. T. (2019). Self segmenting of rennet induced milk gel in cheesemaking tank. *International Journal of Dairy Technology*, 72(4), 591–600. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12650>
33. Montgomery, D. C. (2013). Design and analysis of experiments. Wiley, 2013
34. Мягконосов, Д. С., Мординова, В. А., Абрамов, Д. В., Овчинникова, Е. Г., Муничева, Т. Э. (2020). Сычужная проба — важный инструмент для получения сыра высокого качества. *Сыроделие и маслоделие*, 2, 30–33. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-2-28-31>
35. Мягконосов, Д. С., Мординова, В. А., Абрамов, Д. В., Овчинникова, Е. Г., Муничева, Т. Э. (2020). Технологические свойства монокосвертывающих ферментов разного происхождения. Часть II. Влияние вида используемого МФП на процессы протеолиза при созревании сыров. *Сыроделие и маслоделие*, 5, 10–13. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-5-10-13>
36. Myagkonosov, D. S., Mordvinova, V. A., Delitskaya, I. N., Abramov, D. V., Ovchinnikova, E. G. (2020). The influence of milk-clotting enzymes on the functional properties of pizza-cheeses. *Food Systems*, 3(3), 42–50. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-3-42-50>
37. Garg, S. K., Johri, B. N. (1994). Rennet: Current trends and future research. *Food Reviews International*, 10(3), 313–355. <https://doi.org/10.1080/87559129409541005>
38. Jacob, M. (2011). Milk coagulation enzymes of various origins and their influence on cheese yield and cheese quality. Dissertation. Dresden: Technical University of Dresden, 2011. Retrieved from <https://d-nb.info/1067190643/34> Accessed March 01, 2023. (In German)

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Dmitry S. Myagkonosov , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Head of Research Department in Applied Biochemistry and Enzymology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-915-973-63-13 E-mail: d.myagkonosov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4443-7573 * corresponding author	Мягконосов Дмитрий Сергеевич — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, руководитель направления исследований по прикладной биохимии и энзимологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-915-973-63-13 E-mail: d.myagkonosov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4443-7573 * автор для контактов
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
Dmitry V. Abramov , Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Head of Biochemical Research in Cheesemaking and Buttermaking, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-970-42-97 E-mail: d.abramov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8326-1932	Абрамов Дмитрий Васильевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, руководитель направления биохимических исследований по сыроделию и маслоделию, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-970-42-97 E-mail: d.abramov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8326-1932
Irina N. Delitskaya , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Department of Cheesemaking, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-48532-98-1-28 E-mail: i.delitskaya@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3587-4050	Делицкая Ирина Николаевна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, отдел сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-98-1-28 E-mail: i.delitskaya@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3587-4050
Elena G. Ovchinnikova , Researcher, Department of Biochemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Krasnoarmeysky Boulevard, 19. Tel.: +7-48532-98-1-94 E-mail: e.ovchinnikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4891-4330	Овчинникова Елена Григорьевна — научный сотрудник, отдел биохимии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-98-1-94 E-mail: e.ovchinnikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4891-4330
Contribution	Критерии авторства
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-117-125>

Поступила 27.02.2023

Поступила после рецензирования 21.03.2023

Принята в печать 27.03.2023

© Зайцева Л. В., Мазукабзова Э. В., Богачук М. Н., 2023



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

Научная статья

Open access

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕКТИНОВ ПЛОДООВОЩНЫХ ПОРОШКОВ НА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОНДИТЕРСКОЙ ГЛАЗУРИ

Зайцева Л. В.^{1,*}, Мазукабзова Э. В.¹, Богачук М. Н.²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности, Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр питания и биотехнологии», Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

кондитерская глазурь,
плодоовощные порошки,
пищевые волокна, пектин,
степень этерификации
пектина, предел текучести
по Кассону

АННОТАЦИЯ

Плодоовощное сырье и продукты его переработки содержат пищевые волокна и биологически активные вещества, поэтому за счет использования такого сырья в производстве продуктов питания повышается их пищевая ценность. Кроме того, пищевые волокна плодоовощного сырья могут оказывать влияние на технологические свойства пищевых систем. Цель данной работы — определение количества пищевых волокон, пектинов и степени их этерификации в плодоовощных порошках, а также установление влияния этих показателей на технологические свойства кондитерских глазурей с добавлением плодоовощных порошков (с учетом способности последних поглощать жир). Объектами исследований являются порошки из моркови, яблока, свеклы, малины и модельные образцы кондитерских глазурей с их добавлением. Реологические показатели кондитерских глазурей определяли по методу Кассона на ротационном вискозиметре. Содержание пищевых волокон устанавливали ферментативно-гравиметрическим методом. Пектины из порошков выделяли кислотным гидролизом сырья с последующим осаждением этанолом. Степень этерификации пектинов рассчитывали на основании результатов полученных методом потенциометрического титрования. Установлено, что исследуемые плодоовощные порошки из отечественного сырья характеризовались высоким количеством пищевых волокон (24–38%), основная часть которых была представлена пектином. В порошках из свеклы и малины содержались низкоэтерифицированные пектины (18 и 33 г/100 г); в порошках из яблока и моркови — высокоэтерифицированные пектины (16 и 27 г/100 г). Порошки с низкоэтерифицированными пектинами демонстрировали умеренное увеличение предела текучести по Кассону глазурей с их добавлением, не превышающее оптимальных значений этого показателя. С повышением концентрации порошков с высокоэтерифицированными пектинами наблюдалось резкое возрастание предела текучести глазурей по Кассону, при концентрациях 13% и более этот показатель выходил за оптимальные значения. Таким образом, при разработке кондитерских глазурей с плодоовощными порошками прогнозирование их предельной концентрации может осуществляться при установлении содержания в них пищевых волокон, пектинов и степени их этерификации, а также с учетом рН и способности порошков поглощать жир.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают благодарность директору ООО «ВИТБИОКОР» Густиничу Владимиру Васильевичу за предоставление образцов плодоовощных порошков для проведения исследований.

Received 27.02.2023

Accepted in revised 21.03.2023

Accepted for publication 27.03.2023

© Zaytseva, L. V., Mazucabzova, E. V., Bogachuk, M. N., 2023

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

Original scientific article

Open access

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF PECTINS OF FRUIT AND VEGETABLE POWDERS ON THE TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF CONFECTIONERY GLAZE

Larisa V. Zaytseva^{1,*}, Ella V. Mazucabzova¹, Maria N. Bogachuk²

¹ All-Russian Research Institute of the Confectionery Industry, Moscow, Russia

² Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

KEY WORDS:

confectionery glaze, fruit and
vegetable powders, dietary
fiber, pectin, degree of pectin
esterification, Casson yield stress

ABSTRACT

Fruit and vegetable raw materials and processed products contain dietary fibers and biologically active substances, so the use of such raw materials in the manufacture of foods increases their nutritional value. In addition, dietary fibers of fruit and vegetable raw materials can influence the technological properties of food systems. The purpose of this work is determination of the amount of dietary fibers, pectins and the degree of their esterification in fruit and vegetable powders, as well as establishment of an impact of these parameters on the technological properties of confectionery glazes with the addition of fruit and vegetable powders (taking into account the ability of the

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Зайцева, Л. В., Мазукабзова Э. В., Богачук М. Н. (2023). Исследование влияния пектинов плодоовощных порошков на технологические свойства кондитерской глазури. *Пищевые системы*, 6(1), 117-125. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-117-125>

FOR CITATION: Zaytseva, L. V., Mazucabzova, E. V., Bogachuk, M. N. (2023). Investigation of the effect of pectins of fruit and vegetable powders on the technological properties of confectionery glaze. *Food Systems*, 6(1), 117-125. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-117-125>

latter to absorb fat). Objects of research are powders of carrots, apples, beets, raspberries and model samples of confectionery glazes with their addition. Rheological parameters of confectionery glazes were determined by the Casson method on a rotary viscometer. The content of dietary fibers was established by the enzymatic-gravimetric method. Pectins from powders were isolated by acid hydrolysis of raw materials followed by ethanol precipitation. A degree of esterification of pectins was calculated on the basis of the results obtained by potentiometric titration. It has been found that the studied fruit and vegetable powders from domestic raw materials were characterized by a high amount of dietary fibers (24–38%), the main part of which was represented by pectin. Beet and raspberry powders contained low esterified pectins (18 and 33 g/100 g); apple and carrot powders contained highly esterified pectins (16 and 27 g/100 g). Powders with low esterified pectins showed a moderate increase in the Casson yield strength of the glazes with their addition that did not exceed the optimal values of this indicator. With increasing concentrations of powders with highly esterified pectins, a sharp increase in the Casson yield strength of the glazes was observed. At concentrations of 13% and more, this indicator exceeded the optimal values. Thus, in the development of confectionery glazes with fruit and vegetable powders, prediction of their maximum concentration can be carried out by determining the content of dietary fibers, pectins and a degree of their esterification, as well as by taking into account pH and the ability of powders to absorb fat.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors express their gratitude to Vladimir V. Gustinovich, Director of VITBIOKOR LLC, for providing samples of fruit and vegetable powders for research.

1. Введение

Пищевая продукция с добавлением натурального плодовоовощного сырья пользуется повышенным спросом у потребителей. Применение плодовоовощного сырья и продуктов его переработки (концентратов, выжимок, порошков и др.) в производстве пищевой продукции повышает ее пищевую ценность. Овощи, ягоды и фрукты содержат биологически активные вещества — витамины, флавоноиды, полифенолы, антоцианы и многие другие фитонутриенты, проявляющие антиоксидантные свойства. В составе красной моркови отмечено высокое содержание каротиноидов и флавоноидов [1], а в черной моркови присутствуют антоцианы [2], высокое содержание которых характерно для ягод малины [3], черники [4] и голубики [5]. Такие ягоды, как смородина, шиповник, облепиха и малина богаты витамином С [3,6]; виноград, черника и голубика являются источником стильбеноидов [5]. Свеклу отличает большое количество в ее составе антиоксиданта β-цианина [1].

Плодовоовощное сырье является богатым источником пищевых волокон [6–8]. Доказано, что эти компоненты принимают участие в профилактике неинфекционных заболеваний, и достаточное поступление пищевых волокон в организм человека в составе рациона способствует нормальной деятельности желудочно-кишечного тракта, предотвращению нарушения обмена веществ, снижению риска развития сердечно-сосудистых, онкологических и многих других заболеваний [9]. Пищевые волокна оказывают огромное влияние на состояние кишечной микробиоты. В свою очередь, входящие в ее состав микроорганизмы участвуют в синтезе некоторых витаминов, в иммунологических реакциях, в метаболизме холестерина, в стимуляции всасывания кальция и др. [9]. Знания о роли пищевых волокон в организме человека продолжают расширяться благодаря проведению все новых и новых исследований. Установлено, что потребление пищевых волокон уменьшает риск переизбытка сладкой и жирной пищи. Эти вещества также влияют на секрецию ключевых гормональных пептидов, участвующих в регуляции пищевого поведения и способствующих контролю аппетита [10,11]. Доказано, что низкоэтерифицированные пектины обладают противовоспалительным действием [12]. При этом в рационе питания всех групп населения Российской Федерации отмечен дефицит пищевых волокон [9], что диктует необходимость обогащения ими различных видов пищевой продукции. Учитывая важность обеспечения населения пищевыми волокнами на рекомендуемом уровне, в Техническом регламенте ТР ТС 022/2011¹

отдельно выделена категория пищевой продукции, обогащенной пищевыми волокнами. Исследование химического состава плодовоовощного сырья, произрастающего на территории РФ, позволило сделать заключение о его высокой пищевой и биологической ценности, что делает целесообразным производство пищевой продукции с его использованием [1,6].

В настоящее время имеются разработки различных видов пищевой продукции с применением плодовоовощного сырья: хлебобулочные и мучные кондитерские изделия [13–18], сахаристые кондитерские изделия [19], макаронные изделия [2,20], сметанные соусы [21], мягкие сыры [22] и многое другое [23]. Чаще всего исследователи уделяют внимание повышению пищевой ценности продукта за счет внесения в него плодовоовощного сырья. Значительно меньше работ посвящено вопросам влияния общего количества пищевых волокон на технологические свойства пищевых систем, в которые они вносятся. Показано, что добавление пищевых волокон в рецептуру мучных кондитерских изделий (кексы, маффины) в значительных количествах (более 15% от массы муки) приводило к уменьшению объема изделия и к уплотнению его структуры; присутствие пищевых волокон в составе печенья способствовало увеличению его твердости [13,14]. Внесение тыквенной мякоти в рецептуру макаронных изделий потребовало изменения технологических режимов их производства [20], а добавление порошка черной моркови приводило к сокращению времени варки макаронных изделий [2]. Было установлено, что внесение пищевых волокон в сметанные соусы, в частности морковного пюре и пшеничной или ржаной клетчатки, повышало вязкость жидкой пищевой системы [21]. При этом практически отсутствуют исследования по установлению взаимосвязи между химическим составом пищевых волокон плодовоовощного сырья и его влиянием на технологические свойства пищевых систем, в которые оно вносится. Таким образом, определение содержания в плодовоовощном сырье растворимых и нерастворимых пищевых волокон, пектина и степени его этерификации, а также наличия других некрахмальных полисахаридов, будет способствовать прогнозированию изменений в поведении и свойствах пищевых систем [13,18].

Глазированная пищевая продукция, благодаря ее внешнему виду и пролонгированным срокам хранения, пользуется повышенным спросом. Поэтому производство глазури с плодовоовощным сырьем является перспективным и регулируется в соответствии с ГОСТ Р 53897–2010². Согласно нормативным документам, на территории Российской

¹ Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки» (с изменениями на 14 сентября 2018 года). Утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 881

² ГОСТ Р 53897–2010 «Глазурь. Общие технические условия» Москва: Стандартинформ, 2019. — 14 с.

Федерации кондитерская глазурь может изготавливаться на основе заменителей масла какао нетемперируемых лауринового или нелауринового типа. Техническое регулирование состава этих заменителей до 2026 года не предполагает ограничений по содержанию атерогенных транс-изомеров жирных кислот, способных вызывать риск развития сердечно-сосудистых, онкологических и других заболеваний. С учетом того, что в производстве заменителей масла какао нелауринового типа в основном используются гидрированные растительные масла с высоким содержанием транс-изомеров, для глазирования обогащенной пищевой продукции целесообразно применение кондитерских глазурей на заменителях масла какао лауринового типа [24].

Целью работы является определение количества пищевых волокон, пектинов и степени их этерификации в плодовоовощных порошках из отечественного сырья и установление влияния этих показателей во взаимосвязи со способностью порошков поглощать жир на технологические свойства кондитерских глазурей, выработанных на основе заменителей масла какао лауринового типа с добавлением плодовоовощных порошков взамен части сахара.

2. Объекты и методы

Объектами исследований являлись плодовоовощные порошки из следующих видов сырья, произрастающего на территории Российской Федерации и Беларуси: свекла, морковь, яблоко, малина (ООО «ВИТБИОКОР», Беларусь), а также модельные образцы кондитерской глазури, выработанные на основе заменителя масла какао лауринового типа, не содержащего атерогенных транс-изомеров жирных кислот, с добавлением этих порошков. Рецептуры исследованных глазурей представлены в Таблице 1. Модельные образцы выработывали с внесением ПАВ в количествах, обеспечивающих оптимальные технологические свойства кондитерских глазурей на заменителях масла какао лауринового типа.

Таблица 1. Рецептурные соотношения кондитерских глазурей с добавлением плодовоовощных порошков

Table 1. Recipe ratios for confectionery glazes produced with the addition of fruit and vegetable powders

Наименование сырья	Количество ингредиента в зависимости от варианта рецептуры, %						
	1	2	3	4	5	6	7
Сахарная пудра	51	48	46	42	38	36	31
Какао-порошок алкализованный				17			
Плодовоовощной порошок	0	3	5	9	13	15	20
Заменитель масла какао лауринового типа				32			
ИТОГО				100			

Содержание пищевых волокон определяли ферментативно-гравиметрическим методом в соответствии с МИ 01.00282–2008/0174.01.07.13 (ФР 1.31.2020.37150)³. Реологические показатели модельных образцов кондитерских глазурей определяли по методу Кассона на ротационном вискозиметре RV1 фирмы «ХААКЕ» (Германия).

Жиропоглотительную способность (СПЖ) порошков определяли по методике, разработанной во ВНИИКП. В складчатый фильтр из обезжиренной фильтровальной бумаги, установленный в химический стакан вместимостью

100 см³, помещали навеску порошка массой 1 г и постепенно приливали 25 г рафинированного дезодорированного подсолнечного масла. Через 2 часа взвешивали стакан с маслом и рассчитывали СПЖ (г/100 г продукта) по формуле (1):

$$\text{СПЖ} = \frac{25 - (m_2 - m_1)}{m} \quad (1),$$

где m — масса навески образца, г;

m_1 — масса стакана, г;

m_2 — масса стакана с отделившимся количеством масла, г.

Конечным результатом расчета считали среднее арифметическое значение результатов трех параллельных измерений, расхождение между которыми не превышает 0,1 г жира/г образца порошка.

Экстракцию пектина проводили согласно Р 4.1.1672–03⁴. Навеску плодовоовощного порошка помещали в коническую колбу и приливали определенный объем 0,05 М соляной кислоты, закрывали крышкой и ставили на водяную баню при температуре 95–100 °С на 30 мин. Затем колбу охлаждали до комнатной температуры и фильтровали полученную смесь через капроновую ткань. Процедуру повторяли два раза. К объединенному экстракту пектина добавляли 1,5 объема 96%-ного этилового спирта и оставляли на 30–40 мин. После чего раствор процеживали на приборе для фильтрации пищевых волокон с использованием фильтровальных тиглей и модуля для фильтрации в системе Fibertec System E1023 (FOSS, Швеция). Полученный осадок пектина промывали 96%-ным этиловым спиртом и сушили при 60 °С до постоянной массы.

Определение степени этерификации выделенных пектинов проводили методом потенциометрического титрования по процедуре (вариант 1), описанной в статье [25]. Навеску пектина массой 0,2 г взвешивали на аналитических весах и заливали 60 мл дистиллированной воды. Через 24 часа полученный раствор титровали 0,1 М раствором NaOH на титраторе 916 Ti-Touch, оснащенном автоподатчиком 810 со встроенным насосом и pH-электродом комбинированным i-Solvotrode (Metrohm, Швейцария), до скачка значения pH в области 7–9 (1-е титрование, V_1). Затем к полученному раствору добавляли 10 мл 0,1 М раствора NaOH и в течение двух часов при комнатной температуре проводили гидролиз сложноэфирных связей. Далее в гидролизат вносили 10 мл 0,1 М раствора HCl, и образовавшийся раствор снова титровали щелочью до скачка pH (2-е титрование, V_2). Точка эквивалентности фиксировалась автоматически. Степень этерификации пектина рассчитывали согласно методике [25] по формуле (2).

$$E_{\text{мет}} = \frac{V_2 + \Delta V}{V_1 + V_2 + \Delta V} \cdot 100\% \quad (2),$$

где V_1 — объем щелочи, пошедшей на первое титрование свободных карбоксильных групп, мл;

V_2 — объем щелочи, пошедшей на второе титрование карбоксильных групп после гидролиза сложноэфирных связей, мл;

ΔV — поправка на избыток щелочи в первом титровании, мл.

В экспериментальной части приведены средние арифметические значения полученных данных. Экспериментальные данные были статистически оценены на однородность с целью исключения результатов, отягощенных грубыми ошибками. Различия средних значений выборок с приме-

³ МИ 01.00282–2008/0174.01.07.13 (ФР 1.31.2020.37150). Определение содержания растворимых и нерастворимых пищевых волокон в пищевых продуктах и БАД к пище. Разработана ФГБУ «НИИ питания» РАМН, аттестована, утверждена и зарегистрирована в Федеральном реестре методик выполнения измерений в 2013 г. ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора.

⁴ Р 4.1.1672–03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище: [утверждены главным государственным санитарным врачом РФ Г. Г. Онищенко 30 июня 2003 г.] — М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. — 183 с.

нением t-критерия Стьюдента признавались статистически достоверными при доверительной вероятности $p \leq 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

В исследованиях, проведенных нами ранее, была показана принципиальная возможность выработки кондитерской глазури на заменителях масла какао лауринового типа с заменой части сахара в рецептуре на плодовоовощные порошки [26,27]. Было установлено, что внесение плодовоовощных порошков влияет на структурно-механические показатели отделочного полуфабриката и на его технологичность. Учитывая то, что основной дисперсионной средой в кондитерских глазури является жировая фракция, характер взаимодействия с ней будет определять технологические свойства глазури. На основании этого было предложено классифицировать плодовоовощные порошки по их способности адсорбировать (поглощать) жир (СПЖ) на три группы:

- с низкой СПЖ, менее 2 г жира/г продукта (порошок из свеклы);
- со средней СПЖ, 2–4 г жира/г продукта (порошок из яблока);
- с высокой СПЖ, более 4 г жира/г продукта (порошок из моркови).

Проведенные исследования реологических и кристаллизационных свойств модельных образцов кондитерской глазури при уровне статистической достоверности ($p \leq 0,05$) показали, что структурно-механические свойства отделочного полуфабриката зависят как от количества порошка, так и от его СПЖ [25]. Увеличение количества порошка из свеклы (СПЖ = 1,70) в рецептуре глазури с 3 до 15% оказывало незначительное влияние на изменение предела текучести по Кассону (с 1,72 до 2,44 Па). Тогда как внесение порошка из яблока (СПЖ = 3,63) и моркови (СПЖ = 4,81) приводило к резкому увеличению предела текучести по Кассону с 1,83 до 13,03 Па и с 2,44 до 10,77 Па соответственно. При содержании этих порошков в рецептуре 13% и более предел текучести глазури превысил оптимальные значения (3–9 Па), что делало глазури нетехнологичной (Таблица 2).

В ходе дальнейших работ было установлено, что результат внесения в глазури порошка из малины (средняя СПЖ; 3,13) не согласовывался с полученными ранее итогами исследований [26]. Влияние этого порошка на предел текучести глазури по Кассону в зависимости от вносимого количества не было однозначным (Таблица 2). При невысоких концентрациях в рецептуре порошка из малины (3–9%) предел текучести глазури по Кассону превышал значение этих показателей у глазури с добавлением порошка из яблока. Однако последующее увеличение концентрации (11% и более) порошка из малины не оказывало столь сильного влияния на реологические свойства глазури, по сравнению с порошком из яблока, и предел текучести при всех исследуемых концентрациях не превышал оптимальных значений. На основании этого было сделано предположение, что на технологические свойства глазури с плодовоовощными по-

рошками влияет не только СПЖ последних, но также количество и характер входящих в их состав пищевых волокон.

Для проверки этого предположения был проведен анализ порошков из свеклы, яблока, малины и моркови на содержание в них пищевых волокон и пектина при уровне статистической достоверности ($p \leq 0,05$) (Таблица 3).

Таблица 3. Физико-химические показатели плодовоовощных порошков и содержание в них пищевых волокон

Table 3. Physico-chemical parameters of fruit and vegetable powders and their dietary fiber content

Плодовоовощной порошок	Физико-химические показатели			
	pH	СПЖ, г/100 г	Содержание, г/100 г	
			пищевых волокон	пектина
из свеклы	6,93±0,08	1,70±0,09	25,80±2,58	18,0±1,8
из малины	4,16±0,01	3,13±0,04	37,80±3,78	33,0±3,3
из яблока	4,40±0,02	3,63±0,02	23,90±2,39	16,0±1,6
из моркови	4,71±0,02	4,81±0,12	31,70±3,17	27,0±2,7

В результате было установлено, что все образцы имели высокое содержание пищевых волокон. При этом больше всего пищевых волокон содержалось в порошке из малины и меньше всего — в порошке из яблока. Анализ полученных данных не позволил установить однозначной корреляции между содержанием пищевых волокон или пектина в плодовоовощных порошках и влиянием их концентрации на предел текучести глазури. Только при низких концентрациях порошков (3%) значение предела текучести по Кассону коррелировало с общим содержанием в них пищевых волокон, но с увеличением количества порошков корреляция исчезала. Доля пектина во всех порошках составляла от 67 до 87% от общего содержания пищевых волокон, то есть именно химическая природа пектина должна была в большей степени оказывать влияние на характер взаимодействия порошков с остальными компонентами глазури в расплавленном состоянии.

Известно, что пектины с различной степенью этерификации по-разному ведут себя в пищевых системах, в частности в реакции структурообразования. Высокоэтерифицированные пектины (степень этерификации > 50%) образуют гели в кислой дисперсионной среде в присутствии высоких концентраций сахара (55–75%). Гелеобразование низкоэтерифицированных пектинов (степень этерификации < 50%) происходит при широком диапазоне pH независимо от наличия сахара. Основным требованием для этого процесса является присутствие ионов двухвалентных металлов, в пищевых средах для этих целей чаще всего используют ионы кальция [28]. Было выдвинуто предположение о том, что в кондитерских глазури в жидком (расплавленном) состоянии плодовоовощные порошки, содержащие высокоэтерифицированные пектины, также могут вступать во взаимодействие с частицами мелкодисперсной сахарной пудры, что будет способствовать повышению вязкости пищевой системы. Это взаимодействие, вероятно, также будет усиливаться при наличии кислых

Таблица 2. Изменение предела текучести по Кассону кондитерских глазури в зависимости от концентрации добавленных плодовоовощных порошков

Table 2. Change in the Casson yield strength of confectionery glazes depending on the concentration of added fruit and vegetable powders

Плодовоовощное сырье для получения порошка	Предел текучести глазури по Кассону (Па) при различных концентрациях плодовоовещных порошков в рецептуре						
	3%	5%	7%	9%	11%	13%	15%
из свеклы	1,72±0,04	1,82±0,02	1,85±0,05	2,01±0,02	2,14±0,02	2,19±0,02	2,44±0,02
из малины	3,31±0,07	3,61±0,05	4,06±0,04	4,33±0,06	4,57±0,07	4,92±0,07	5,53±0,08
из яблока	1,83±0,02	2,82±0,03	3,17±0,06	4,51±0,06	6,10±0,04	9,57±0,08	13,03±0,09
из моркови	2,44±0,02	3,93±0,09	5,75±0,03	7,74±0,05	8,92±0,06	10,02±0,07	10,77±0,08

Значения являются средними ±SD (n = 3).

значений pH вносимого порошка, дополнительно повышая вязкость пищевой системы.

Исследования по влиянию сухих компонентов рецептуры шоколадных масс на ее реологические свойства были начаты сравнительно недавно. Так, в работе 2019 года впервые сообщалось о том, что молочный шоколад в расплавленном состоянии обладает свойствами геля. Авторы считают, что молочные белки могут действовать как поверхностно-активные вещества и стабилизаторы, способные вызывать образование сферических мицеллярных агрегатов внутри структуры шоколада [29].

В работах по изучению реологических свойств шоколадных масс также было отмечено, что внесение в рецептуру молочного шоколада взамен части сухого обезжиренного молока молочной сыворотки сопровождалось снижением предела текучести шоколадной массы по Кассону с увеличением ее количества. По мнению авторов, это было связано с внедрением частиц молочной сыворотки в высокоорганизованные кристаллические агрегаты масла какао, что способствует повышению текучести шоколадной массы [30]. Установлено, что внесение инулина наряду с мальтитолом вместо сахара в белый шоколад привело к увеличению температуры плавления изделия [31].

Существуют исследования влияния характера жирового продукта — заменителя масла какао лауринового или нелауринового типа — на характеристики кристаллизации готовых глазурей [32]. Научные труды, посвященные изучению воздействия различных порошкообразных добавок на реологические свойства кондитерских глазурей, в настоящее время отсутствуют. В этой связи представляет интерес как с научной, так и с практической точки зрения исследование влияния химической природы пищевых волокон плодовоовощных порошков на реологические свойства кондитерских глазурей.

В связи с тем что способ получения порошков из плодовоовощного сырья влияет на свойства содержащихся в нем пектинов, было проведено определение степени этерификации пектинов, входящих в исследуемые плодовоовощные порошки. За счет выявления характера влияния плодовоовещных порошков на реологические показатели получаемых кондитерских глазурей было высказано предположение, что в порошках из свеклы и малины содержатся низкоэтерифицированные пектины, а в порошках из яблока и моркови — высокоэтерифицированные.

На Рисунках 1–4 приведены кривые титрования пектинов, выделенных из порошков моркови, свеклы, яблока и малины.

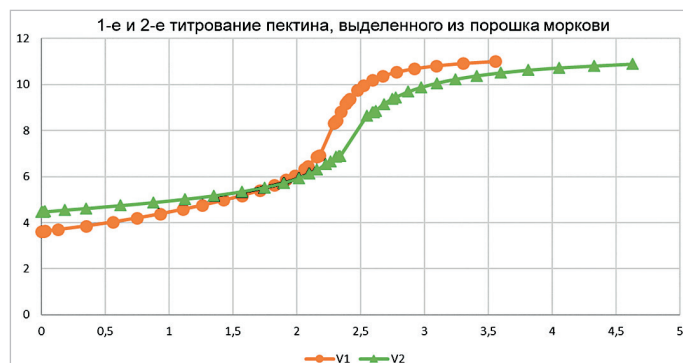


Рисунок 1. Пример кривых титрования пектинов, выделенных из порошка моркови: V_1 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 1-е титрование; V_2 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 2-е титрование

Figure 1. Example of titration curves for pectins isolated from carrot powder: V_1 — volume of 0.1M alkaline solution for the 1st titration; V_2 — volume of 0.1M alkaline solution for the 2nd titration

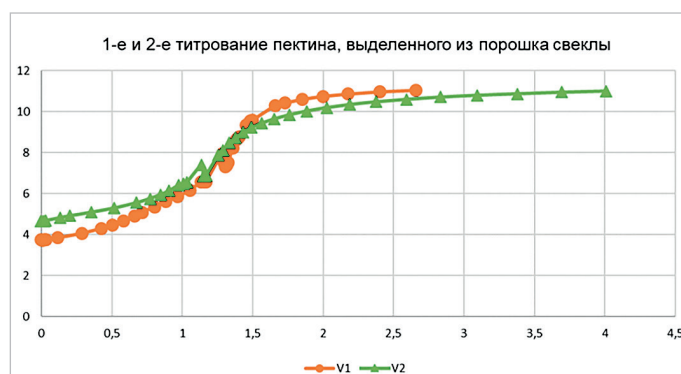


Рисунок 2. Пример кривых титрования пектинов, выделенных из порошка свеклы: V_1 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 1-е титрование; V_2 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 2-е титрование

Figure 2. Example of titration curves for pectins extracted from beet powder: V_1 — volume of 0.1M alkaline solution used for the 1st titration; V_2 — volume of 0.1M alkaline solution used for the 2nd titration

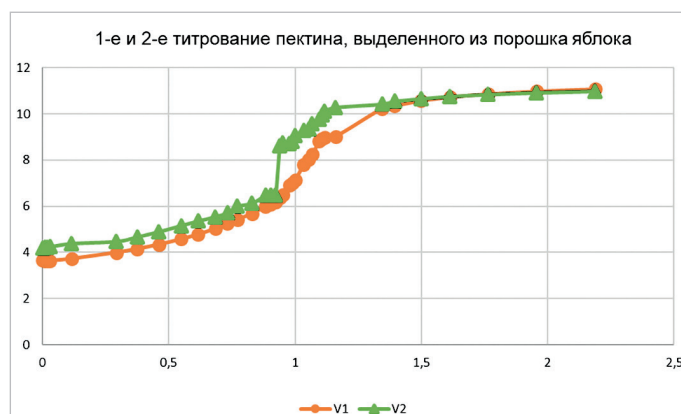


Рисунок 3. Пример кривых титрования пектинов, выделенных из порошка яблока: V_1 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 1-е титрование; V_2 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 2-е титрование

Figure 3. Example of titration curves for pectins extracted from apple powder: V_1 — volume of 0.1M alkaline solution for the 1st titration; V_2 — volume of 0.1M alkaline solution for the 2nd titration

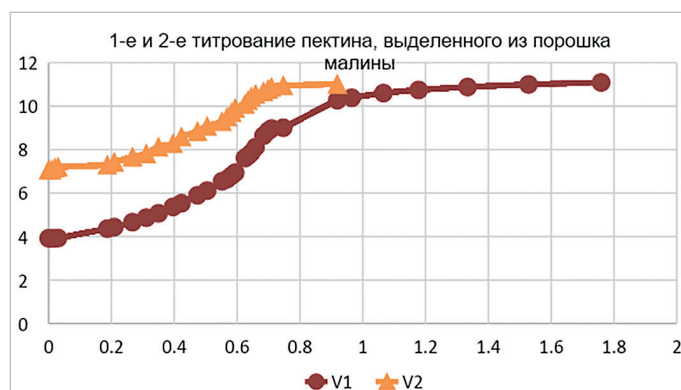


Рисунок 4. Пример кривых титрования пектинов, выделенных из порошка малины: V_1 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 1-е титрование; V_2 — объем 0,1M раствора щелочи, пошедшей на 2-е титрование

Figure 4. Example of titration curves of pectins isolated from raspberry powder: V_1 — volume of 0.1M alkali solution that was used for the 1st titration; V_2 — volume of 0.1M alkali solution that was used for the 2nd titration

Исходя из результатов первого и второго титрования пектинов, по формуле (2) рассчитывали степень этерификации (СЭ) вышеперечисленных пектинов (Таблица 4).

Таблица 4. Количество щелочи (0,1 М), пошедшее на первое и второе титрование свободных гидроксильных групп в пектинах из плодовоовощных порошков, и степень этерификации пектинов

Table 4. Quantity of alkali (0.1 M) for the first and second titration of free hydroxyl groups in pectins from fruit and vegetable powders and the degree of pectin esterification

Плодовоовощной порошок	Объем 0,1М раствора NaOH, пошедшего на титрование			Степень этерификации пектинов, %
	V ₁	V ₂	ΔV	
из свеклы	1,1796±0,1181	0,8840±0,0885	0,1	45,50
из малины	0,6755±0,0675	0,0672±0,0068	0,1	19,84
из яблока	1,0807±0,1091	1,2973±0,1298	0,1	56,39
из моркови	2,3499±0,2350	2,4679±0,2468	0,1	52,20

Пектины, выделенные из порошков свеклы (СЭ=45,5) и малины (СЭ=19,8%), были низкоэтерифицированными, а пектины из порошков яблока (СЭ=56,4) и моркови (СЭ=52,2) оказались высокоэтерифицированными. На основании полученных результатов было решено, что для прогнозирования влияния плодовоовощных порошков на технологические свойства кондитерских глазурей с их включением необходимо разделить порошки на две группы по степени этерификации пектинов, входящих в их состав. Такая классификация позволила выявить более тесную корреляцию между пределом текучести глазурей по Кассону в зависимости от их СПЖ при различных концентрациях порошков. Данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение»/ $M \pm m$ (Рисунок 5).

Порошки с низкоэтерифицированными пектинами из свеклы (низкая СПЖ) и малины (средняя СПЖ) демонстрировали умеренное увеличение предела текучести по Кассону глазурей с их добавлением. Даже при высоких concentra-

циях порошков (13–15%) предел текучести не превышал оптимальных значений и глазурь сохраняла хорошие технологические характеристики (текучесть, время и температуру застывания) [27]. При этом практически в 2 раза большее содержание пектина в порошке из малины (средняя СПЖ) способствовало получению глазурей с более высоким пределом текучести (Рисунок 5(а)). СПЖ порошков с низкоэтерифицированными пектинами коррелировала с количеством в них пектинов — в порошке из малины содержалось в 1,8 раза больше пектинов, и его СПЖ была в 1,8 раза выше, чем соответствующие показатели у порошка из свеклы. Таким образом, при добавлении в состав глазури плодовоовещных порошков с низкоэтерифицированными пектинами их предельная концентрация будет определяться органолептическими характеристиками глазурей, во многом зависящими от показателя pH порошков. Ранее было установлено, что внесение в глазури порошков с кислыми значениями pH (4,16–4,40) в количестве более 11% способствует появлению резкого кислого привкуса, тогда как добавление порошков с нейтральным значением pH (6,93) приводит к возникновению мучнистого привкуса при концентрации порошков 20% [26,27].

Другая закономерность наблюдалась при сравнении глазурей с порошками, содержащими высокоэтерифицированные пектины, с яблоком (средняя СПЖ) и с морковью (высокая СПЖ). С ростом концентрации этих порошков в рецептуре глазурей наблюдалось резкое увеличение предела текучести глазурей по Кассону, и при концентрациях 13% и более этот показатель выходил за оптимальные значения (Рисунок 5(б)). Интересно отметить, что при концентрациях от 3 до 13% предел текучести у глазури с порошком из моркови был выше, чем у глазури с порошком из яблока. В то же время при концентрации порошков 15% глазурь с порошком из яблока имела существенно более высокое значение предела текучести. Это, вероятно, обусловлено более высокой степенью этерификации пектинов и меньшим значением pH (4,40) у порошка из яблока по сравнению с порошком из моркови, что при высоких концентрациях порошков оказывает решающее влияние на протекание межфазных взаимодействий в расплавленной глазури. Опираясь на результаты исследований молочного шоколада [29], можно предположить, что кондитерские глазури с плодовоовещными порошками с высокоэтерифицированными пектинами в расплавленном состоянии также образуют гелевую структуру, способствуя резкому возрастанию предела текучести глазурей по Кассону.

4. Выводы

Изучено влияние плодовоовещных порошков из различного сырья, добавленных в глазури взамен части сахара, на предел текучести по Кассону кондитерских глазурей на заменителях масла какао лауринового типа. Установлено, что на технологические свойства получаемых глазурей влияет содержание в порошках пектинов и их степень этерификации, наряду с их способностью поглощать жир.

Доказано, что внесение порошков с низкоэтерифицированными пектинами (из свеклы и малины) при всех исследуемых концентрациях (3–15%) не ухудшает технологических свойств получаемых глазурей — их предел текучести по Кассону плавно увеличивался с повышением концентрации порошков, но не превышал оптимальных значений (3–9 Па). Количество вносимых плодовоовещных порошков в этом случае зависит только от органолептических свойств получаемых глазурей.

Показано, что использование плодовоовещных порошков, содержащих высокоэтерифицированные пектины (из ябло-

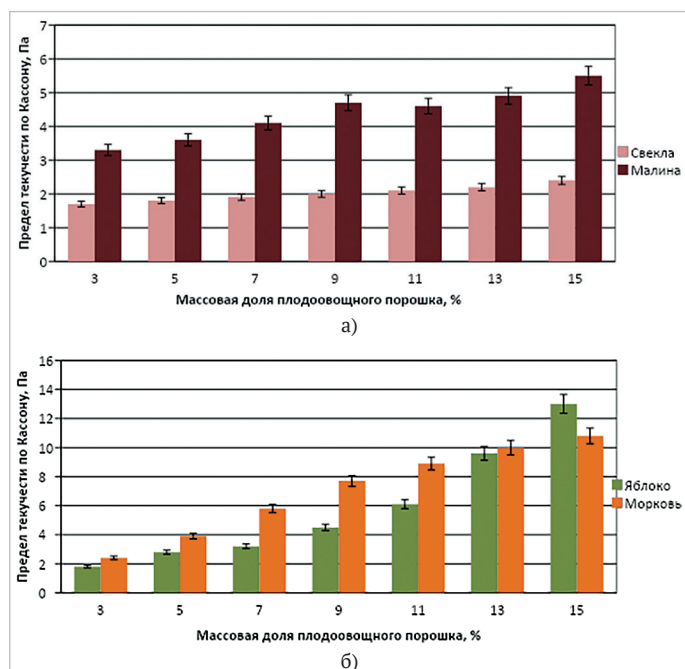


Рисунок 5. Изменение предела текучести по Кассону кондитерских глазурей с плодовоовещными порошками в зависимости от концентрации порошков:

а) из свеклы и малины; б) из яблока и моркови

Figure 5. Variation of the Casson yield strength of confectionery glazes with fruit and vegetable powders depending on powder concentration: а) from beet and raspberry; б) from apple and carrot

ка и моркови), оказывает значительное влияние на увеличение предела текучести по Кассону. Установлено, что их концентрация в кондитерских глазурях должна быть менее 13%, в противном случае глазури становятся нетехнологичными вследствие превышения показателем предела текучести по Кассону оптимальных значений.

Для порошков с низкоэтерифицированными пектинами выявлена корреляция между содержанием в них пектинов и их способностью поглощать жир, что облегчает прогнозирование свойств глазурей с их использованием.

Для порошков с высокоэтерифицированными пектинами установлено, что с увеличением содержания в них пектинов их способность поглощать жир возрастает, но тесной корреляционной зависимости между СПЖ и количеством вносимых порошков не выявлено. Отмечено, что при концентрациях от 3 до 13% предел текучести по Кассону у глазури с порошком с высокой СПЖ (из моркови) был выше, чем у глазури с порошком со средней СПЖ (из яблока). При

концентрации порошков 15% глазурь с порошком из яблока, наоборот, имела более высокое значение предела текучести. Вероятно, это обусловлено более высокой степенью этерификации входящих в ее состав пектинов и меньшим значением pH (4,40) по сравнению с порошком из моркови, за счет чего усиливаются межфазные взаимодействия при высоких концентрациях порошков. Предполагается образование гелевой структуры в кондитерских глазурях (в расплавленном состоянии) с высокоэтерифицированными пектинами добавляемых плодовоовощных порошков.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что при разработке кондитерских глазурей с добавлением плодовоовощных порошков прогнозирование их предельной концентрации может осуществляться при установлении следующих характеристик порошков: содержание в них пищевых волокон, пектинов, степень этерификации пектина, а также физико-химические показатели (pH, способность поглощать жир) порошков.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кожемяко, А. В., Сергеева, И. Ю., Долголюк, И. В. (2021). Экспериментальное определение биологически активных соединений в выжимках свеклы и моркови, районированных в Сибирском регионе. *Техника и технология пищевых производств*, 51(1), 179–187. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-179-187>
2. Singh, J., Kaur, S., Rasane, P. (2018). Evaluation of the nutritional and quality characteristics of black carrot fortified instant noodle. *Current Nutrition and Food Science*, 14(5), 442–449. <https://doi.org/10.2174/1573401313666170724115548>
3. Жбанова, Е. В. (2018). Плоды малины *Rubus idaeus* L. как источник функциональных ингредиентов (обзор). *Техника и технология пищевых производств*, 48(1), 5–14. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-5-14>
4. Сидорова, Ю. С., Петров, Н. А., Бириулина, Н. А., Перова, И. Б., Зорин, С. Н., Кочеткова, А. А. и др. (2022). Физиолого-биохимическая оценка эффективности нового пищевого ингредиента — концентрата полифенолов ягод черники. *Вопросы питания*, 91(5(543)), 43–55. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2022-91-5-43-55>
5. Сокуренок, М. С., Соловьева, Н. Л., Бессонов, В. В., Мазо, В. К. (2019). Полифенольные соединения класса стильбеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации. *Вопросы питания*, 88(1), 17–25. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10002>
6. Акимов, М. Ю., Бессонов, В. В., Коденцова, В. М., Эллер, К. В., Вржесинская, О. А., Бекетова, Н. А. и др. (2020). Биологическая ценность плодов и ягод Российского производства. *Вопросы питания*, 89(4), 220–232. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055>
7. Panditrao, M. P., Yadav, K. C. (2022). Development and quality evaluation of pasta incorporated with beetroot powder. *The Pharma Innovation Journal*, 11(2), 1676–1681.
8. Новикова, А. Е., Скрышник, Л. Н. (2021). Оптимизация условий микцеллярно-ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника (*Crataegus monogyna* Jacq.). *Техника и технология пищевых производств*, 51(4), 733–742. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-733-742>
9. Пырьева, Е. А., Сафронова, А. И. (2019). Роль и место пищевых волокон в структуре питания населения. *Вопросы питания*, 88(6), 5–11. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10059>
10. Падерин, Н. М., Савельев, С. В., Попов, С. В. (2020). Влияние пектина пажиты *Tarapacetum vulgare* L. на тревожность и избыточное потребление мышами сладкой и жирной пищи при моделировании переедания. *Вопросы питания*, 89(6), 14–22. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10074>
11. Ефимцева, Э. А., Челпанова, Т. И. (2021). Пищевые волокна как модуляторы секреции гастроинтестинальных гормональных пептидов. *Вопросы питания*, 90(4(536)), 20–35. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-20-35>
12. Марков, П. А., Волкова, М. В., Хасаншина, З. Р., Мартинсон, Е. А., Попов, С. В. (2021). Противовоспалительное действие высоко- и низкометилэтерифицированных яблочных пектинов in vivo и in vitro. *Вопросы питания*, 90(6(538)), 92–100. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-6-92-100>
13. Gomes, M., Martinez, M. M. (2018). Fruit and vegetable by-products as novel ingredients to improve the nutritional quality of baked goods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(13), 2119–2135. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1305946>
14. Kirbaş, Z., Kumcuoglu, S., Tavman, S. (2019). Effects of apple, orange and carrot pomace powders on gluten-free batter rheology and cake properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 914–926. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03554-z>
15. Theagarajan, R., Narayanaswamy, M., Dutta, Moses, J. A. Chinnaswamy, A. (2019). Valorisation of grape pomace (cv. Muscat) for development of functional cookies development of functional cookies. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1299–1305. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14119>
16. Зайцева, И. И., Шеламова, С. А., Дерканосова, Н. М. (2019). Влияние выжимок из тыквы на процесс ферментации теста для крекера. *Техника и технология пищевых производств*, 49(3), 470–478. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-3-470-478>
17. Алексеев, Е. В., Быстрова, Е. А., Бакуменко, О. Е. (2019). Применение сублимированного порошка брусники при изготовлении мучных кондитерских изделий. *Пищевая промышленность*, 5, 18–21. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10065>
18. Samokhvalova, O., Oliinyk, S., Kasabova, K., Stepankova, G., Bolkhovitin, O. (2021). Prospects for use of new sources of dietary fibers in the technology of flour confectionery products. *BIO Web of Conferences*, 30, Article 01017. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213001017>
19. Бакина, А. П., Камоза, Т. Л. (2020). Перспективы использования пюре из мякоти тыквы и джема из ягод красной смородины при производстве зефира. *Вестник КрасГАУ*, 6(159), 207–214. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-6-207-214>
20. Смирнова, С. О., Фазиулина, О. Ф. (2019). Использование нетрадиционного сырья в производстве макаронных изделий повышенной пищевой ценности. *Техника и технология пищевых производств*, 49(3), 454–469. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-3-454-469>
21. Долматова, О. И., Дошина, А. В. (2019). К вопросу об использовании пищевых волокон в сметанном продукте. *Техника и технология пищевых производств*, 49(2), 201–208. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-201-208>
22. Борисова, А. В., Рузьянова, А. А., Тяглова, А. М., Поликарпова, К. В. (2020). Использование ягодного сырья в технологии мягкого сыра функционального назначения. *Техника и технология пищевых производств*, 50(1), 11–20. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-11-20>
23. Majerska, J., Michalska, A., Figiel, A. (2019). A review of new directions in managing fruit and vegetable processing by-products. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 207–219. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.021>
24. Зайцева, Л. В., Мазукабзова, Э. В., Матюнина, А. В., Осипов М. В. (2021). Современные требования по качеству и безопасности растительных масел и продуктов их переработки для производства пищевой продукции функционального и специализированного назначения. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 200–211. <https://doi.org/10.36107/spfp.2021.196>
25. Бодякина, И. М., Багрянцев, В. А., Котов, В. В., Лукин, А. Л. (2012). Потенциометрическое определение состава и степени этерификации молекул пектина. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*, 2, 9–15.
26. Мазукабзова, Э. В., Зайцева, Л. В. (2022). Органолептические, реологические и кристаллизационные свойства кондитерской глазури с порошком из свеклы. *Пищевые системы*, 5(2), 132–138. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-5-2-132-138>
27. Мазукабзова, Э. В., Зайцева, Л. В. (2022). Влияние плодовоовощных порошков на кристаллизационные и реологические свойства кон-

- дитерской глазури. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 170–186. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.352>
28. Marić, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brnčić, M., Brnčić, S. R. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science and Technology*, 76, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>
 29. Vásquez, C., Henríquez, G., López, J. V., Penott-Chang, E. K., Sandoval, A. J., Müller, A. J. (2019). The effect of composition on the rheological behavior of commercial chocolates. *LWT*, 111, 744–750. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.101>
 30. Lapčíková, B., Lapčík, L., Salek, R., Valenta, T., Lorencová, E., Vašina, M. (2022). Physical characterization of the milk chocolate using whey powder. *LWT*, 154, Article 112669. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112669>
 31. Konar, N., Palabiyik, I., Toker, O. S., Polat, D. G., Kelleci, E., Pirouzian, H. R. et al. (2018). Conventional and sugar-free probiotic white chocolate: Effect of inulin DP on various quality properties and viability of probiotics. *Journal of Functional Foods*, 43, 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.016>
 32. Krasina, I. B., Baranova, Z. A., Krasin, P. S., Brodovaya, E. V. (2017). Studying properties of lauric and non-lauric fats when producing confectionary glazes. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11), 2168–2171.
 33. Kozhemayko, A. V., Sergeeva, I. Yu., Dolgolyuk, I. V. (2021). Experimental determination of biologically active compounds in pomace of Siberian beet and carrot. *Food Processing: Techniques and Technology*, 51(1), 179–187. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-179-187> (In Russian)
 34. Singh, J., Kaur, S., Rasane, P. (2018). Evaluation of the nutritional and quality characteristics of black carrot fortified instant noodles. *Current Nutrition and Food Science*, 14(5), 442–449. <https://doi.org/10.2174/1573401313666170724115548>
 35. Zhanova, E. V. (2018). Fruit of raspberry *Rubus Idaeus L.* as a source of functional ingredients (Review). *Food Processing: Techniques and Technology*, 48(1), 5–14. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-5-14> (In Russian)
 36. Sidorova, Yu. S., Petrov, N. A., Biryulina, N. A., Perova, I. B., Zorin, S. N., Kochetkova, A. A. et al. (2022). Physiological and biochemical evaluation of the effectiveness of a new food ingredient — blueberry polyphenol concentrate. *Problems of Nutrition*, 91(5(543)), 43–55. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2022-91-5-43-55> (In Russian)
 37. Sokurenko, M. S., Solovieva, N. L., Bessonov, V. V., Mazo, V. K. (2019). Polyphenolic compounds of the stilbenoid class: classification, representatives, content in plant raw materials, structural features, use in the food industry and pharmacy. *Problems of Nutrition*, 88(1), 17–25. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10002> (In Russian)
 38. Akimov, M. Yu., Bessonov, V. V., Kodentsova, V. M., Eller, K. I., Vrzhesinskaya, O. A., Beketova, N. A. et al. (2020). Biological value of fruits and berries of Russian production. *Problems of Nutrition*, 89(4), 220–232. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055> (In Russian)
 39. Panditrao, M. P., Yadav, K. C. (2022). Development and quality evaluation of pasta incorporated with beetroot powder. *The Pharma Innovation Journal*, 11(2), 1676–1681.
 40. Novikova, A. E., Skrypnik, L. N. (2021). Combined surfactant and enzyme-assisted extraction of pectin from hawthorn (*Crataegus monogyna Jacq.*) fruits. *Food Processing: Techniques and Technology*, 51(4), 733–742. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-733-742> (In Russian)
 41. Pyryeva, E. A., Safronova, A. I. (2019). The role of dietary fibers in the nutrition of the population. *Problems of Nutrition*, 88(6), 5–11. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10059> (In Russian)
 42. Paderin, N. M., Saveliev, N. Yu., Popov, S. V. (2020). The effect of pectin of tansy, *Tanacetum vulgare* L., on anxiety and overeating food rich in fats and sugars in mice in modeling binge eating. *Problems of Nutrition*, 89(6), 14–22. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10074> (In Russian)
 43. Efimtseva, E. A., Chelpanova, T. I. (2021). Dietary fiber as modulators of gastrointestinal hormonal peptide secretion. *Problems of Nutrition*, 90(4(536)), 20–35. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-20-35> (In Russian)
 44. Markov, P. A., Volkova, M. V., Khasanshina, Z. R., Martinson, E. A., Popov, S. V. (2021). Anti-inflammatory activity of high and low methoxylated apple pectins, in vivo and in vitro. *Problems of Nutrition*, 90(6(538)), 92–100. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-6-92-100> (In Russian)
 45. Gomes, M., Martinez, M. M. (2018). Fruit and vegetable by-products as novel ingredients to improve the nutritional quality of baked goods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(13), 2119–2135. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1305946>
 46. Kirbaş, Z., Kumcuoglu, S., Tavman, S. (2019). Effects of apple, orange and carrot pomace powders on gluten-free batter rheology and cake properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 914–926. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03554-z>
 47. Theagarajan, R., Narayanaswamy, M., Dutta, L., Moses, J. A. Chinnaswamy, A. (2019). Valorisation of grape pomace (cv. Muscat) for development of functional cookies development of functional cookies. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1299–1305. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14119>
 48. Zaitseva, I. I., Shelamova, S. A., Derkanosova, N. M. (2019). Effect of pumpkin husks on cracker dough fermentation. *Food Processing: Techniques and Technology*, 49(3), 470–478. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-3-470-478> (In Russian)
 49. Alekseenko, E. V., Bystrova, E. A., Bakumenko, O. E. (2019). The application of freeze-dried cranberry powder in the flour confectionery production. *Food Industry*, 5, 18–21. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10065> (In Russian)
 50. Samokhvalova, O., Oliinyk, S., Kasabova, K., Stepankova, G., Bolkhovitina, O. (2021). Prospects for use of new sources of dietary fibers in the technology of flour confectionery products. *BIO Web of Conferences*, 30, Article 01017. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213001017>
 51. Bakina, A. P., Kamoza, T. L. (2020). The research on the prospects of using pumpkin pulp puree and red currant jam in marshmallow production. *Bulletin of KrasGAU*, 6(159), 207–214. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-6-207-214> (In Russian)
 52. Smirnova, S. O., Fazullina, O. F. (2019). Non-traditional raw materials in pasta production of high nutrition value. *Food Processing: Techniques and Technology*, 49(3), 454–469. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-3-454-469> (In Russian)
 53. Dolmatova, O. I., Doshina, A. V. (2019). Dietary fiber in sour cream products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 49(2), 201–208. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-201-208> (In Russian)
 54. Borisova, A. V., Ruzyanova, A. A., Tyaglova, A. M., Polikarpova, K. V. (2020). Berry raw materials in functional soft cheese production. *Food Processing: Techniques and Technology*, 50(1), 11–20. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-11-20> (In Russian)
 55. Majerska, J., Michalska, A., Figiel, A. (2019). A review of new directions in managing fruit and vegetable processing by-products. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 207–219. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.021>
 56. Zaitseva, L. V., Mazukabzova, E. V., Matunina, A. V., Osipov, M. V. (2021). Modern requirements for the safety and quality of vegetable oils and their processed products used in functional and specialized food products. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 200–211. <https://doi.org/10.36107/spfp.2021.196> (In Russian)
 57. Bodyakina, I. M., Bagryantsev, V. A., Kotov, V. V., Lukin, A. L. (2012). The potentiometric determination composition and degree etherification molecules of pectin. *Proceedings of Voronezh State University Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2, 9–13. (In Russian)
 58. Mazukabzova, E. V., Zajceva, L. V. (2022). Organoleptic, rheological and crystallization properties of confectionery glaze with beet powder. *Food Systems*, 5(2), 132–138. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-5-2-132-138> (In Russian)
 59. Mazukabzova, E. V., Zaitseva, L. V. (2022). The effect of fruit and vegetable powders on the crystallization and rheological properties of confectionery glaze. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 170–186. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.352> (In Russian)
 60. Marić, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brnčić, M., Brnčić, S. R. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science and Technology*, 76, 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>
 61. Vásquez, C., Henríquez, G., López, J. V., Penott-Chang, E. K., Sandoval, A. J., Müller, A. J. (2019). The effect of composition on the rheological behavior of commercial chocolates. *LWT*, 111, 744–750. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.101>
 62. Lapčíková, B., Lapčík, L., Salek, R., Valenta, T., Lorencová, E., Vašina, M. (2022). Physical characterization of the milk chocolate using whey powder. *LWT*, 154, Article 112669. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112669>
 63. Konar, N., Palabiyik, I., Toker, O. S., Polat, D. G., Kelleci, E., Pirouzian, H. R. et al. (2018). Conventional and sugar-free probiotic white chocolate: Effect of inulin DP on various quality properties and viability of probiotics. *Journal of Functional Foods*, 43, 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.016>
 64. Krasina, I. B., Baranova, Z. A., Krasin, P. S., Brodovaya, E. V. (2017). Studying properties of lauric and non-lauric fats when producing confectionary glazes. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11), 2168–2171.

REFERENCES

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Зайцева Лариса Валентиновна — доктор технических наук, заведующая Технологическим отделом, Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности 107023, Москва, ул. Электрозаводская, 20, стр. 3 Тел.: +7-495-962-17-48 E-mail: l.zaytseva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8176-1650 * автор для контактов	Larisa V. Zaytseva , Doctor of Technical Sciences, Candidate of Chemical Sciences, Head of the Technology Department, All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry 20/3, Elektrozavodskaya str., Moscow, 107023, Russia Tel.: +7-495-962-17-48 E-mail: l.zaytseva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8176-1650 * corresponding author
Мазукабзова Элла Витальевна — научный сотрудник, Технологический отдел, Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности 107023, Москва, ул. Электрозаводская, 20, стр. 3 Тел.: +7-495-962-17-44 E-mail: e.mazukabzova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2884-6767	Ella V. Mazukabzova , Researcher, Technology Department, All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry 20/3, Elektrozavodskaya str, Moscow, 107023, Russia Tel.: +7-495-962-17-44 E-mail: e.mazukabzova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2884-6767
Богачук Мария Николаевна — кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник, лаборатория «Химия пищевых продуктов», Федеральный исследовательский центр питания и биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14, Тел.: +7-495-698-57-36 E-mail: bmariyan@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5820-8336	Maria N. Bogachuk , Candidate of Pharmaceutical Sciences, Researcher, Laboratory «Food Chemistry», Federal Research Centre for Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustinsky passage, Moscow, 109240, Russia Tel.: +7-495-698-57-36 E-mail: bmariyan@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5820-8336
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.

