

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ  
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

---

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ  
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](http://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 29.06.2023.  
Дата выхода в свет 30.06.2023.  
Тираж 300 экз. Заказ № 487.

**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 Азбу, Сагамихара, Япония

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

**Горбунова Наталия 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 биоорганического синтеза» Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

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

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

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

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

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

The national peer reviewed journal is dedicated to the main problems of food science. The main mission is to create, aggregate, support and distribute the scientific content in the field of the food industry, join the efforts of researchers from scientific centers and universities, bridge the gap between publications at the regional, national and federal levels. The journal serves to highlight topical problems in the food and related industries, promote new promising technologies among the wide audience of scientific and practical professionals, lecturers, students, postgraduate students and entrepreneurs. The scientific concept of the journal envisages publication of new knowledge in the field of food systems and scientific foundations of the resource saving technologies for deep processing of agricultural raw materials, breakthrough technical solutions for producing food of general and specialized purpose. The journal publishes scientific and review papers, reports, communications, critical reviews, short scientific communications (letters to the editorial office), information materials concerned with food technology, processes, equipment and apparatus for food production, nutritional hygiene, biotechnology, standardization, certification, quality and safety, economics, automation and informatization of technological processes. The detailed information is given on the site: [www.fsjour.com](http://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](http://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](mailto: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 29.06.2023.

Released from press 30.06.2023.

Circulation – 300 copies. Order № 487.

**16+**

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, Sagamihara, 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, Mytischi, 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

---

Дубинина Е. В., Моисеева А. А., Андриевская Д. В., Трофимченко В. А. ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА СТАБИЛЬНОСТЬ КАЧЕСТВА ИГРИСТЫХ ВИН В ПРОЦЕССЕ ИХ ХРАНЕНИЯ .....	130
Eti-obong S. Ema, Jude E. Obidegwu, Emmanuel M. Akpabio THE SOCIO-CULTURAL AND PRODUCTIVITY NEXUS IN YAM FARMING IN NIGERIA .....	139
Anatoly V. Samoylov, Tatiana B. Tsyganova, Evgeny A. Yakovlev, Elena V. Dudkina STUDY OF OLEOGEL BASED ON COMPONENTS <i>HELIANTHUS ANNUUS L.</i> AND <i>ROSMARINUS OFFICINALIS L.</i> AS FRYING OIL .....	148
Дегтярев И. А., Фоменко И. А., Мижева А. А., Серба Е. М., Машенцева Н. Г. БЕЛКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ РАПСА: ОБЗОР СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ И ПЕРСПЕКТИВ РАЗВИТИЯ СУЩЕСТВУЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ .....	159
Нициевская К. Н., Станкевич С. В., Бородай Е. В. ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИШАЙНИКА <i>CETRÁRIA ISLÁNDICA</i> ПОСЛЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ .....	171
Вафин Р. Р., Михайлова И. Ю., Агейкина И. И. ИДЕНТИФИКАЦИЯ UFGT-ГЕН-АССОЦИИРОВАННЫХ ГРУПП <i>VITIS VINIFERA L.</i> РАЗРАБОТАННЫМ СПОСОБОМ ПЦР-ПДРФ-ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ВИНОГРАДА .....	180
Кондратенко В. В., Кондратенко Т. Ю. ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ФРАГМЕНТАЦИИ ОСНОВНОЙ ЦЕПИ РАМНОГАЛАКТУРОНАНОВЫХ УЧАСТКОВ ПРОТОПЕКТИНОВОГО КОМПЛЕКСА РАСТИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ .....	188
Сухих С. А., Долганюк В. Ф., Кремлева О. Е., Ульрих Е. В., Каширских Е. В., Бабич О. О. ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАКЦИИ, КОЛИЧЕСТВЕННОГО ВЫХОДА ПОЛИСАХАРИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПСИХРОФИЛЬНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ .....	202
Панасюк А. Л., Кузьмина Е. И., Свиридов Д. А., Ганин М. Ю. ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА .....	211
Семенова Е. С., Симоненко Е. С., Симоненко С. В., Зорин С. Н., Петров Н. А., Мазо В. К. ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ МОЛОКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА .....	224
Пивненко Т. Н. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ТЕХНОЛОГИИ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ	
Гончарова Г. Ю., Борзов С. С., Борщев Г. В. НОВЫЕ ЛЕДОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ НЕПРЕРЫВНОЙ ХОЛОДИЛЬНОЙ ЦЕПИ В СЕВЕРНЫХ РЕГИОНАХ РОССИИ .....	245
Roman V. Nekrasov, Nadezhda V. Bogolyubova, Magomed G. Chabaev, Konstantin S. Ostrenko, Roman A. Rykov, Anastasia A. Semenova, Viktoriya V. Nasonova ROLE OF FEED ADAPTOGENS IN FORMING THE CONCEPT OF ORGANIC PIG PRODUCTION .....	255
Ландиховская А. В., Творогова А. А. ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА МОЛОЧНОГО МОРОЖЕНОГО С ЦИТРУСОВЫМИ ВОЛОКНАМИ И КАМЕДЯМИ .....	261

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-130-138>

Поступила 22.02.2023

Поступила после рецензирования 19.04.2023

Принята в печать 24.04.2023

© Дубинина Е. В., Моисеева А. А., Андреевская Д. В., Трофимченко В. А., 2023

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

Обзорная статья

Open access

# ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА СТАБИЛЬНОСТЬ КАЧЕСТВА ИГРИСТЫХ ВИН В ПРОЦЕССЕ ИХ ХРАНЕНИЯ

Дубинина Е. В., Моисеева А. А.,\* Андреевская Д. В., Трофимченко В. А.

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

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**  
*игристые вина, срок годности, изменение качества, цвет бутылки, условия хранения, влияние температуры, влияние света*

## АННОТАЦИЯ

Срок годности игристого вина представляет собой показатель, который может изменяться в зависимости от воздействия на продукт большого количества внешних факторов. К таким факторам относятся условия транспортирования, температура хранения, влажность, воздействие света, а также качество упаковки. В действующей нормативной документации регламентируются определенные требования к условиям транспортирования и хранения игристых вин, однако, они часто нарушаются, что приводит к значительному ухудшению качества продукции. Настоящий обзор посвящен вопросам изучения изменений качественных характеристик вин в процессе их хранения и транспортирования. Показано, что интенсивность физико-химических изменений, происходящих в вине при хранении, зависит от температурных режимов, наличия вибрации и воздействия света. Вопрос влияния температурных режимов хранения на качественные характеристики винодельческой продукции, в том числе игристых вин, изучен довольно подробно. Большинство исследователей считают, что для поддержания стабильного качества игристого вина необходимо его хранить и транспортировать при постоянной температуре, не превышающей 20 °C. В научных публикациях существуют различные мнения о проблеме влияния цвета бутылки на изменение химического состава и сохранение качественных характеристик как тихих, так и игристых вин при хранении. Установлено, что бутылки из более темного стекла позволяют в большей степени защитить вино от воздействия света, особенно в его ультрафиолетовом и видимом коротковолновом ( $\lambda=400$  нм) диапазонах, и предотвратить появление в вине так называемого «вкуса света» (gout de lumière). Показано, что причинами появления «вкуса света» в шампанском являются серосодержащие соединения, образующиеся в результате фотохимических реакций. Установлено, что интенсивность этих реакций зависит от степени освещенности, а также от присутствия в вине рибофлавина и ионов железа (III). Сделан вывод о том, что контроль за количеством света, воздействию которого подвергаются вина, может предотвратить ухудшение их качества при хранении и продлить срок годности. Рассмотрена также возможность предупреждения фотодеградации вина за счет использования различных антиоксидантов. Исходя из имеющихся в научных публикациях сведений, изучение условий развития негативных изменений в вине под действием света является важным аспектом с точки зрения оценки рисков при хранении продукции.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Работа выполнена в рамках Федеральной программы «Научное обоснование проектирования технологий новых видов напитков на основе изучения характеристических особенностей традиционного и нетрадиционного сырья растительного происхождения» FGUS-2022-0012.

Received 22.02.2023

Accepted in revised 19.04.2023

Accepted for publication 24.04.2023

© Dubinina E. V., Moiseeva A. A., Andrievskaya D. V., Trofimchenko V. A., 2023

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

Review article

Open access

# EFFECT OF EXTERNAL FACTORS ON THE STABILITY OF SPARKLING WINE QUALITY DURING STORAGE

Elena V. Dubinina, Aleksandra A. Moiseeva,\* Darya V. Andrievskaya, Vladimir A. Trofimchenko

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

## KEY WORDS:

*sparkling wines, shelf life, quality changes, bottle color, storage conditions, influence of temperature, light exposure*

## ABSTRACT

The shelf life of sparkling wine is an indicator that can vary depending on the impact of a large number of external factors on the product. These factors include transportation conditions, storage temperature, humidity, exposure to light, and packaging quality. The current regulatory documentation regulates certain requirements for the storage conditions of sparkling wines, but they are often violated during transportation and storage, which leads to a significant deterioration in the quality of products. This review is devoted to the study of changes in the quality characteristics of wines during their storage and transportation. It is shown that the intensity of physico-chemical changes occurring in wine during storage depends on temperature conditions, the presence of vibration and exposure to light. The issue of the influence of temperature storage conditions on the quality characteristics of wine products, including sparkling wines, has been studied in some detail. Most researchers are of the opinion that in order to maintain a stable quality of wine, it is necessary to store and transport it at a constant temperature not exceeding 20 °C. In scientific publications, there are different views on the problem of the influence of bottle color on the change in chemical composition and the preservation of the quality characteristics of both still and

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Дубинина, Е. В., Моисеева, А. А., Андреевская, Д. В., Трофимченко, В. А. (2023). Использование современных инструментальных методов для идентификации кофе. Пищевые системы, 6(2), 130-138. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-130-138>

FOR CITATION: Dubinina, E. V., Moiseeva, A. A., Andrievskaya, D. V., Trofimchenko, V. A. (2023). Using modern instrumental methods for coffee identification. Food Systems, 6(2), 130-138. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-130-138>

sparkling wines during storage. It has been found that bottles made of darker glass allow protecting wine to a greater extent from the effects of light, especially in its ultraviolet and visible short-wave ( $\lambda=400$  nm) range, and prevent the appearance of the so-called "taste of light" (gout de lumière) in the wine. It is shown that the causes of the appearance of the "taste of light" in champagne are sulfur-containing compounds formed as a result of photochemical reactions. It has been found that the intensity of these reactions depends on the degree of illumination, as well as the presence of riboflavin and iron (III) ions in the wine. It is concluded that controlling the amount of light to which wines are exposed can prevent deterioration of their quality during storage and extend the shelf life. The possibility of preventing photodegradation of wine through the use of various antioxidants is also considered. Based on the information available in scientific publications, the study of the development of negative changes in wine under the influence of light is an important aspect from the point of view of risk assessment during product storage.

FUNDING: The work was carried out within the framework of the Federal program "Scientific justification for the design of technologies for new types of drinks based on the study of the characteristic features of traditional and non-traditional raw materials of plant origin" FGUS-2022-0012.

## 1. Введение

Как известно, качество игристых вин, популярность которых в последние годы постоянно растет, определяется в первую очередь совокупностью их органолептических и физико-химических характеристик. Эти показатели должны соответствовать не только требованиям действующей нормативной документации, но и ожиданиям потребителей. Игристое вино ассоциируется у большинства людей с праздником, поэтому его особые органолептические свойства, включая пенообразование, количество и размер пузырьков, а также продолжительность игры, должны быть неизменными на протяжении всего срока его годности. В соответствии с требованиями ГОСТ 33336–2015<sup>1</sup>, срок годности игристых вин устанавливает производитель, который, как правило, не ограничивает его определенными временными рамками. Вместе с тем известно, что стабильность качества игристого вина в потребительской упаковке, произведенного любым регламентированным способом, определяется прежде всего соблюдением обязательных требований к используемому исходному сырью [1], а также к материалам [2,3]. Важными факторами качества игристого вина являются особенности технологического процесса производства [4,5], включая купажирование [6] и соблюдение установленных условий хранения готового продукта [7]. Таким образом, срок годности вина представляет собой довольно трудно оцененный показатель, который может изменяться в зависимости от химического состава вина, а также ввиду воздействия многих положительных и отрицательных факторов, влияющих на качество игристого вина при хранении.

## 2. Влияние упаковки

К факторам, оказывающим существенное влияние на сохранение качества игристого вина при хранении, относятся: температура хранения [8], влажность, воздействие электромагнитного излучения, в том числе видимого света [9], а также качество упаковки [10]. Классическим видом упаковки игристых вин являются бутылки из натрий-кальций-силикатного стекла, обеспечивающего прозрачность, непроницаемость для кислорода и инертность в отношении продукта. Стеклянные бутылки, предназначенные для упаковки игристых вин, согласно действующей классификации относятся к первой группе и выдерживают давление диоксида углерода не менее 300–350 кПа. Кроме того, бутылки должны соответствовать еще ряду требований нормативной документации, в том числе выдерживать определенный перепад температур, а также быть водостойкими в соответствии с требованиями ГОСТ 32131–2021<sup>2</sup>. Исследования

российских специалистов [11] показали, что в целом стеклянные бутылки, используемые для упаковки винодельческой продукции, соответствуют установленным нормам. При этом было отмечено, что длительное хранение стеклянных бутылок на складах предприятий (свыше 6 месяцев) приводит к необратимым изменениям в структуре стекла, что в свою очередь отрицательно отражается на сохранении качества готовой продукции.

В настоящее время в Российской Федерации в качестве упаковки для игристых вин используют бутылки из бесцветного, коричневого или оливкового, реже — классического зеленого стекла. Выбор цвета бутылок игристого вина производителями, как правило, основан на получении наиболее привлекательного внешнего вида продукта для потребителя. Однако, как известно, правильный выбор цвета бутылки может повысить продолжительность срока годности вина за счет снижения негативного влияния электромагнитного излучения на его качество [12]. По некоторым данным, бутылки из более темного стекла в большей степени защищают вино от воздействия электромагнитного излучения, так как снижают пропускание ультрафиолетового излучения [13]. Ранее было показано, что УФ-лучи и голубая часть видимого спектра ( $\lambda=350$ –500 нм) оказывают негативное влияние на химический состав и органолептические характеристики вина и других продуктов, таких как, например, пиво и молоко [14].

При исследовании влияния цвета бутылок на сохранение качества вина при хранении без контроля температуры, что характерно для множества небольших торговых организаций, установлено, что в зеленых бутылках исходный цвет белого вина Шардоне сохранялся лучше по сравнению с вином, содержащимся в бесцветных бутылках [15,16]. Это согласовывалось с характеристиками бутылок, причем даже самые темные бутылки (антично-зеленые) пропускали некоторое количество ультрафиолетовых лучей. Эксперимент, проведенный с выдержанной виной под воздействием ламп накаливания при контролируемой температуре ( $(38\pm 2)$  °C), показал усиление интенсивности цвета белого вина, хранящегося в бесцветных бутылках [16,17].

Позже проводились исследования [17] по оценке изменений химического состава и органолептических свойств белого вина Совиньон блан во время его хранения. Вино хранилось при температуре 14–20 °C в течение 8 месяцев в условиях искусственного освещения в бутылках из коричневого, зеленого, янтарного и бесцветного стекла. В результате были выявлены существенные различия между образцами по цвету и по содержанию общего количества фенольных веществ и отдельных соединений. Было установлено, что после одного месяца хранения во всех образцах, находящихся в цветных бутылках, общее содержание фенольных веществ было несколько выше, по сравнению с образцами в бесцветных бутылках. Уменьшение концентрации фенольных

<sup>1</sup> ГОСТ 33336–2015. Вина игристые. Общие технические условия. М.: Стандартинформ, 2019. — с. 11.

<sup>2</sup> ГОСТ 32131–2021 Упаковка стеклянная. Бутылки для алкогольной и безалкогольной пищевой продукции. Общие технические условия. М.: Российский институт стандартизации, 2021. — с. 15.

веществ в бесцветных бутылках на первом этапе хранения авторы связывали с протеканием реакций гидролиза и образования определенных комплексов [18]. Кроме того, исследования Maury C. и др. [13] с использованием бутылок различного цвета показали снижение абсорбции, соответствующее снижению концентрации общих фенолов, при длине волны 280 нм. Уменьшение абсорбции наблюдалось образцах, хранившихся в бесцветных и зеленых бутылках. Установлено, что при хранении вина в бесцветной бутылке снижалась общая концентрация фенольных веществ и мономерных соединений, таких, например, как оксикоричная кислота, особенно в последний период хранения. При хранении в бесцветных бутылках также снижалась величина интенсивности поглощения при 420 нм более чем на 30% от первоначального значения. При использовании темных бутылок (коричневых, зеленых и янтарных) этот показатель снижался крайне незначительно, причем минимальные изменения величины поглощения при 420 нм были зафиксированы для янтарной бутылки.

Авторы исследования [17] также отметили, что интенсивность окраски образцов белого вина, хранившихся в бесцветных бутылках, в конце эксперимента была существенно ниже, чем в образцах, хранившихся в темных бутылках. Этот результат ученые связывали с повышенной способностью темных бутылок сохранять тепло, что при высокой концентрации ионов железа, как было показано ранее [19], может способствовать образованию окрашенных соединений, усиливающих интенсивность цвета вина в темных бутылках. При этом было установлено, что использование бесцветной бутылки в результате хранения в течение 8 месяцев приводило к усилению растительных оттенков в аромате белого вина, а при хранении в темных бутылках к концу эксперимента в аромате образцов преобладали более приятные тропические и цитрусовые тона [17].

Исследования влияния цвета бутылок на стабильность качества белого вина Шардоне, проведенные в Австралии, показали, что при хранении продукции, упакованной в бутылки разного цвета, в темном помещении при комнатной температуре цвет бутылки не оказывал влияния на интенсивность окислительных процессов. В то же время было установлено, что бутылки из бесцветного стекла в большей степени пропускают ультрафиолетовые лучи, чем бутылки из зеленого стекла, что приводило к образованию соединений ксантилиевого типа и к развитию желтой пигментации вина [20].

В 2021 году итальянские специалисты [21] изучали процессы хранения сладкого вина *Malvasia delle Lipari*. Для проведения исследования была создана имитация торгового зала розничного магазина с искусственным освещением. Продукция хранилась под холодным белым светом и флуоресцентными лампами. Результаты показали, что цвет бутылок (бесцветные, зеленые, янтарные) не оказывал существенного влияния на качественные характеристики вина. Авторами было установлено, что наиболее сильно на процессы изменения химического состава вина влияла интенсивность освещенности и температура хранения.

Также исследования условий хранения мускатного игристого вина в зеленых, янтарных и бесцветных бутылках в течение 12 месяцев, проведенные бразильскими специалистами, не выявили существенного влияния цвета бутылки на изменение качества продукта [22]. Изменения качественных характеристик игристого вина исследователи связывали с продолжительностью хранения. Было показано, что в процессе хранения значительно возрастало содержание катехина, сопровождающееся усилением желтизны во всех образцах, независимо от цвета бутылки. Кроме того, при

изучении влияния цвета бутылки на антиоксидантную активность (AOA) *in vitro* с применением DPPH-метода было установлено повышение этого показателя в игристом вине, хранившемся в прозрачных бутылках шесть месяцев. А при хранении вина в зеленых и янтарных бутылках AOA увеличивалась на девятый месяц хранения. При использовании ABTS-метода показатель AOA возрастал в зеленых и янтарных бутылках на шестой месяц хранения, а в бесцветных бутылках — на девятый месяц. Как известно, повышение AOA обусловлено протеканием различных ферментативных и неферментативных реакций (гидролиза, полимеризации, конденсации, окисления), изученных в ряде работ [23–25]. Увеличение AOA белого вина при хранении было также зафиксировано ранее в других исследованиях [26,27].

В ходе изучения влияния цвета бутылки на сохранение качественных характеристик белого вина, упакованного в бутылки из зеленого и бесцветного стекла, при хранении в типичных условиях на полке супермаркета в течение 50 дней было установлено, что в целом бутылки из зеленого стекла обеспечили сохранение качества вина на протяжении всего периода тестирования. Напротив, у всех испытуемых образцов вина, упакованного в бутылки из бесцветного стекла, обнаружилось ухудшение аромата и вкуса из-за попадания внутрь света через 20–40 дней с начала проведения эксперимента [28].

Таким образом, в научных публикациях отражены результаты отдельных исследований влияния цвета бутылки на изменение химического состава и на сохранение качественных характеристик как тихих, так и игристых вин при хранении. Как показывает анализ литературных источников, более темное стекло бутылок в большей степени защищает вино от вредного воздействия электромагнитного излучения и предупреждает появление в вине так называемого «вкуса света» (*gout de lumière*).

### 3. Влияние условий хранения

Срок годности вина по существу начинается с его розлива в бутылки. С этого момента, как показали исследования [29], качество продукта может изменяться на протяжении всего периода хранения и доставки до потребителя. Известно, что при транспортировании винодельческой продукции и при ее хранении на складах, а затем на полках магазинов, рекомендуемые производителем условия хранения зачастую нарушаются, что может вызывать изменения физико-химического состава и органолептических характеристик продукта. Основными условиями, влияющими на механизм и кинетику реакций, протекающих в вине при хранении, являются колебания температуры [30,31], наличие растворенного кислорода [32] и воздействие света [28,33].

Ранее было установлено, что температура является ключевым фактором, влияющим на качество вина при его транспортировании и хранении [34,35]. Так, Ough [36] показал, что длительное хранение вина при температуре выше 25 °C приводит к необратимому ухудшению его качества. То же самое происходит при более коротком сроке хранения при температуре 40 °C. Воздействие повышенной температуры на продукт может проявляться в изменении цвета вина, а также его аромата и вкуса. Появление коричневых оттенков в цвете игристого вина *Cava* при выдержке исследователи связывали с процессами окисления фенольных веществ [37,38]. Эти изменения могут являться индикатором влияния относительно высокой температуры на качество вина при его длительном транспортировании и хранении [39].

Результаты исследования влияния температуры на качественные характеристики розового игристого вина показали значительные различия в цветовых характеристиках

и вкусо-ароматических свойствах образцов, хранившихся в течение 9 месяцев в темноте при температуре 5 °C и 30 °C [40]. Автором показано, что более подходящие условия для сохранения стабильного качества розового игристого вина в процессе хранения создаются при температуре 5 °C. Хранение при повышенной температуре (30 °C) в темноте приводило к усилению желтой пигментации, результатом чего являлось преобладание желтого оттенка в цвете испытуемых образцов. Кроме того, повышенная температура хранения способствовала значительному снижению цветочных оттенков и появлению в аромате розового игристого вина жженых тонов.

Исследования влияния температуры на состав и концентрацию летучих компонентов белых и красных вин, проведенные зарубежными специалистами, показали, что хранение вина при повышенной температуре приводило к увеличению концентрации витиспирана и 1,1,6-триметил-1,2-дигидрофталина (ТДН), ответственного за появление в аромате Рислинга тонов керосина [41]. При этом концентрация изоамилацетата, гексилацетата и 2-фенилацетата снижалась. Максимальные изменения состава летучих компонентов и трансформация аромата белых и красных вин были зафиксированы при температуре около 40 °C. В меньшей степени на изменение состава летучих компонентов влияли колебания температуры в пределах от 20 °C до 40 °C, а хранение при температуре 20 °C в течение 21 дня практически не привело к изменениям состава летучих компонентов испытуемых вин. Также было отмечено снижение концентрации важных этиловых эфиров и ацетатов, отвечающих за наличие фруктовых оттенков в аромате вин, в частности изоамилацетата, при хранении в условиях неконтролируемой температуры. При температуре 5 °C сокращения концентрации этих веществ не наблюдалось [42]. Было показано, что после воздействия переменной температуры на вина в бутылках в их составе повышалась концентрация таких эфиров, как этиллактат, диэтилсукинат, этил-моносукинат и диэтилмалат. Авторы делают вывод о том, что хранение бутилированных вин при низкой температуре позволяет лучше сохранять тип молодого белого вина, так как при этом замедляются основные химические процессы, проходящие при более высоких температурах.

В научных публикациях довольно часто встречаются исследования, в которых говорится о приглушении цветочных и фруктовых оттенков в аромате белых вин при повышении температуры их хранения. Это обусловлено интенсификацией процессов окисления и гидролиза. Хранение вин при более низких температурах, напротив, способствует сохранению фруктовых ароматов в вине [43, 44]. При помощи методов математической статистики (PCA и LDA) было установлено, что температура оказывает наиболее сильное влияние на состав и концентрацию летучих компонентов, по сравнению с другими изучаемыми факторами, включая время и положение бутылок с вином. Выявлено, что концентрация изоамилацетата снижалась в результате хранения вина в условиях колебания температуры от 10,5 °C до 25,3 °C, по сравнению с вином, хранившимся при температуре в пределах 15–20 °C. Также колебания температуры хранения привели к повышению концентрации этилбутират, этиллактата и диэтилсукината, что, по мнению авторов [45], объясняет появление тонов перезревших фруктов и пряных оттенков в аромате и вкусе вина. Сделан вывод о важности и необходимости поддержания температуры хранения вина на постоянном уровне.

Таким образом, анализ научных публикаций показал, что вопрос влияния температурных режимов хранения на качественные характеристики винодельческой продукции, в том

числе игристых вин, изучен довольно подробно. Большинство исследователей придерживаются мнения о том, что для поддержания стабильного качества вина необходимо его хранить и транспортировать при постоянной температуре, не превышающей 20 °C. Это отражено в действующих нормативных и технических документах (ГОСТ, ТУ).

В современных научных публикациях кроме изучения влияния температуры на продукцию важное место занимают исследования воздействия света (электромагнитного излучения) от различных источников на изменение качественных характеристик вин при хранении.

Французские ученые [46] определили, что причинами появления «вкуса света» в шампанском являются серосодержащие соединения, образующиеся в результате фотохимических реакций, происходящих под воздействием флуоресцентного или солнечного света. Авторы показали, что рибофлавин, активируемый коротковолновым светом с длиной волны 370 нм и 440 нм, способен присоединять два протона от метионина, содержащегося в вине. Продуктом этой реакции является метиональ, из которого в результате цикла фотохимических превращений образуется диметилсульфид (ДМС), диметилдисульфид (ДМДС), метантиол и сероводород. Все эти вещества обладают довольно неприятным запахом, который в значительной степени ухудшает органолептическую характеристику игристого вина. Изучалось также влияние катионов меди ( $Cu^{++}$ ), дитионита натрия ( $Na_2S_2O_4$ ) и танинов в составе вина на негативные процессы, протекающие при воздействии света. Было показано, что катионы меди наиболее сильно задерживают развитие посторонних тонов в игристом вине.

Исследования с использованием флуоресцентных ламп и методов органолептического анализа, направленные на определение характерных тонов «вкуса света» (LST) в игристом вине, были проведены в Калифорнии [47]. Лампы мощностью 40 Вт располагали на расстоянии 35 см от поверхности вертикально стоящих бутылок с игристым вином. Источники света были подобраны так, чтобы их спектр включал ультрафиолетовую и видимую часть световых волн, имитируя таким образом солнечный свет. Эксперимент проводили в течение 72 часов с периодической органолептической оценкой аромата. Было установлено, что воздействия таким излучением в течение 3 часов достаточно для заметной трансформации аромата в игристом вине. Также было установлено, что бутылки даже из зеленого стекла не полностью защищают игристое вино от воздействия света — ощущимые изменения аромата в этом случае были определены на вторые сутки эксперимента. Основные трансформации аромата под действием света характеризовались снижением интенсивности цитрусовых тонов и повышением интенсивности негативных оттенков аромата, описываемых как «вареная капуста», «жареная кукуруза», «мокрая шерсть» и «соя», что привело к значительному ухудшению органолептической характеристики игристого вина.

Было обнаружено, что ультрафиолетовый и в меньшей степени видимый свет с низкой длиной волны способствовал образованию желтого пигmenta в белом вине шардоне [15]. Опыт с добавлением рибофлавина в вино показал, что он быстро разлагался при воздействии излучения с длиной волны менее 400 нм. Авторы установили, что продукт разложения рибофлавина может способствовать увеличению поглотительной способности вина в видимой области. Такой эффект возникает при воздействии света на состав продукта. Кроме того, было показано, что рибофлавин, присутствующий в вине даже в небольших концентрациях, в результате фоторазрушения может вызвать появление «вкуса света»

(LST), характеризующегося неприятными запахами [48]. Авторами описаны фотохимические реакции, которые, как считается, играют определенную роль в изменениях цвета, аромата, состава летучих веществ, концентрации кислорода и диоксида серы в белом вине в бутылках [49,50]. К ним относится сенсибилизированное рибофлавином окисление метионина, приводящее к образованию метантиола и диметилдисульфида, а также фотодеградация тартрата железа (III), которая приводит к появлению глиоксиловой кислоты. Последняя реагирует с флаван-3-олами с образованием желтых катионных пигментов ксантилия [51].

Таким образом, воздействие света может быть причиной значительных изменений аромата и вкуса вина, в том числе в результате образования летучих серосодержащих соединений, а также приводит к окислительному покоричневению. Неприятный привкус и аромат, вызванные светом и обусловленные присутствием рибофлавина, ассоциируются с «овощными» тонами — капусты и лука.

Исследования влияния степени освещенности холодным белым светом на изменение качественных характеристик вина *Malvasia delle Lipari* показали, что изменение цветовых характеристик образцов вина в процессе хранения в течение 90 дней происходили пропорционально увеличению освещенности с 2671 лк (1 флуоресцентная лампа) до 16 127 лк (6 флуоресцентных ламп) [21]. Так, при использовании только одной лампы значение величины «*a\**» (хроматическая характеристика красных оттенков в цвете вина) повысилось за время хранения в 1,5 раза, в то время как при применении 6 ламп — в 2,3 раза. В образцах, хранившихся при более высокой освещенности, величина насыщенности цвета через три месяца хранения была в среднем выше на 2,8–5,2 ед., по сравнению с образцами, хранившимися при минимальной освещенности. Кроме того, было установлено, что увеличение степени освещенности приводило к значительному повышению концентрации таких высокотоксичных веществ, как гидроксиметилфурфурол (в 2,8–4,7 раза) и фурфурол (в 0,6–1,9 раза).

Было рассмотрено и оценено по сенсорным, спектрофотометрическим и колориметрическим параметрам использование портативного прибора для светового облучения белых вин Пино-гри и Шардоне в различном диапазоне длин волн разной продолжительности [52]. Результаты эксперимента показали, что воздействие света с различными длинами волн приводит к изменению сенсорных характеристик вина и к появлению тонов окисленности. Воздействия света в течение 20 минут оказалось достаточно, чтобы установить значительные изменения органолептических свойств вина. Особенно сильно эти изменения проявлялись под влиянием белого и голубого света. Была выявлена хорошая корреляция ( $R_2 > 0,89$ ) между освещенностью и оптической плотностью при 420 нм, а также между другими хроматическими характеристиками вина. Авторами работы предложена методология для оценки окислительной стабильности белых вин при хранении, предусматривающая совместное использование портативной установки для проведения окислительного стресса образца и колориметрического измерения.

В работе [53] показано, что хранение вин в течение года при освещении светодиодными лампами способствовало большей потере общего и свободного SO<sub>2</sub> по сравнению с винами, хранившимися темноте. Также в условиях имитации прилавка супермаркета в винах появлялось больше коричнево-желтоватых тонов за счет окисления флаван-3-олов, в отличие от образцов, на которые не воздействовал свет. Так, снижение общего диоксида серы в образцах, хранившихся в темноте, в среднем составляло около 40% от

первоначальной концентрации, а в образцах, хранившихся при свете — почти 50%. Наиболее существенные изменения были отмечены в содержании биологически активных компонентов: в образцах, хранившихся под действием света, концентрация катехина составила всего 32%, а транс-ресвератрола — 25% от его первоначального содержания; при хранении в темноте в вине сохранилось более 67% катехина и 97% транс-ресвератрола. Кроме того, под воздействием света в вине наблюдались значительные изменения в концентрации отдельных летучих компонентов: если в исходном вине концентрация изоамилацетата составляла 6,0–6,8 мг/дм<sup>3</sup>, а в образцах, хранившихся в темноте — 2,5–2,7 мг/дм<sup>3</sup>, то в образцах, находящихся под действием света — не более 0,2 мг/дм<sup>3</sup>. За счет влияния света в вине также повышалась концентрация этиллактата и этил-2-гидрокси-3-метилбутиноата — более чем в 2,5 и 2 раза соответственно. Сильной трансформации под действием света подвергались также терпеновые спирты; например, линалоол почти полностью окислялся с образованием транс- и цис-оксидов. Эти изменения привели к снижению интенсивности фруктовых и цветочных ароматов. В то же время увеличилось содержание летучих соединений, связанных с признаками старения продукта, таких как витиспиран, 1,1,6-триметил-1,2-дигидронафталин и производные фурана.

Установлено, что вина в бутылках из бесцветного стекла, хранившиеся на нижней полке, где попадание света минимальное, проявили большую устойчивость к воздействию света по сравнению с винами на верхней полке. Более того, хранение вин в темноте и холде после периода воздействия света не устранило выявленные дефекты [28].

В другой работе [54] показано, что кратковременное (не более 10 дней) воздействие света от светодиодных (LED) источников не оказывает существенного негативного влияния на органолептические свойства белых и розовых вин, в отличие от ультрафиолетового света, который способствовал образованию высоких концентраций летучих сульфосоединений, разрушению рибофлавина (RF) и ухудшению органолептической характеристики испытуемых вин. С целью повышения устойчивости вина к воздействию света было предложено использовать определенные расы дрожжей *S. cerevisiae* и *S. bayanus*, вырабатывающих минимальное количество рибофлавина (RF) (менее 30 мкг/дм<sup>3</sup>), в то время как большинство штаммов дрожжей *S. cerevisiae* во время спиртового брожения выделяют от 80 до 170 мкг/дм<sup>3</sup> рибофлавина [55].

Отрицательное воздействие ультрафиолетового и флуоресцентного света на вино было отмечено и в другом исследовании [56]. Его результаты показали, что эти виды освещения вызывали значительные изменения в содержании свободного диоксида серы, а также приводили к нарушению соотношения Fe (III) к Fe (II) и снижению концентрации мальвидин-3-О-глюкозида. Как ультрафиолетовое излучение, так и белый флуоресцентный свет оказывали негативное влияние на качество розового вина. Изучение химизма изменений состава вина под действием света с использованием модельной системы на основе раствора винной кислоты, содержащей железо в концентрации 5 мг/дм<sup>3</sup>, показало, что световое воздействие ксеноновой дуговой лампы приводило к окислительной деградации винной кислоты и к образованию глиоксиловой кислоты, в то время как в условиях отсутствия железа и/или света глиоксиловая кислота не образовывалась [57].

Многие авторы делают вывод, что контроль за количеством света, воздействию которого подвергаются вина, может предотвратить ухудшение качества продукции при хранении и продлить срок ее годности [17, 21, 52, 53].

В ряде работ [50,58–61] была оценена возможность использования диоксида серы, глутатиона и дубильных веществ каштана в качестве антиоксидантов, предотвращающих отрицательное влияние света и появление посторонних тонов в аромате и вкусе вина, путем добавления их по отдельности или в различных комбинациях. Высокая эффективность совместного использования этих антиоксидантов для предотвращения появления «вкуса света» (LST) была доказана в результате работы с модельными растворами вина и в серии экспериментов с молодым белым вином [58]. Причем по степени эффективности предотвращения фотодеградации вина вышеуказанные антиоксиданты были распределены в следующем порядке: дубильные вещества каштана > глутатион > диоксид серы [62].

Таким образом, в научных публикациях довольно подробно описан механизм образования веществ, отвечающих за ухудшение качества вина при его хранении под действием различных факторов внешней среды. При этом большое внимание было уделено влиянию света, в том числе были предложены различные способы, позволяющие снизить его негативное воздействие. Изучение причин и условий развития негативных изменений в вине под действием электромагнитного излучения является важным аспектом с точки зрения оценки рисков при хранении продукции.

#### 4. Выводы

Анализ данных, представленных в научных публикациях, показал, что хранение вин, в том числе игристых, является важным этапом, влияющим на их качественные характеристики. Во время хранения продукции в бутылках могут происходить глубокие изменения цвета, аромата и вкуса вина, интенсивность которых во многом зависит от воздействия внешних факторов, в том числе от температурных режимов, наличия вибрации, воздействия света. Установлено, что свет в видимой и ультрафиолетовой частях спектра является одним из важнейших факторов, снижающих качество винодельческой продукции. Довольно подробно изучен химизм и кинетика процессов, проходящих при хранении отдельных видов тихих вин. В данном аспекте рассматривались определенные условия хранения и влияние упаковки на качество продукта. Было показано, что правильный выбор используемой для хранения вина бутылки способствует защите продукции от воздействия внешней среды и продлению срока ее годности.

В бутылках с игристыми винами, в отличие от тихих, в определенных концентрациях содержится газообразный, растворенный и связанный диоксид углерода, который может оказывать влияние на стабильность качества продукции при хранении. Поэтому дальнейшие исследования должны быть направлены на определение реальных сроков годности игристых вин с учетом их физико-химического состава.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Оганесянц, Л. А., Панасюк, А. Л. (2022). Специальная технология виноделия. СПб.: Профессия, 2022.
2. Авидзба, А. М., Макаров, А. С., Яланецкий, А. Я., Шмидельская, Н. А., Лутков, И. П., Шалимова, Т. Р. и др. (2017). Исследование качества виноматериалов из различных сортов винограда для возможного использования их в производстве игристых вин. *Магарач. Винодельство и виноделие*, 2, 31–35.
3. Оганесянц, Л. А., Песчанская, В. А., Дубинина, Е. В. (2018). Совершенствование оценки качества столовых виноматериалов для игристых вин. *Пиво и напитки*, 3, 72–75.
4. Христюк, В. Т., Струкова, В. Е., Лазутин, А. А., Агеева, Н. М. (2000). Влияние технологических приемов подготовки шампанских виноматериалов на их игристые и пенистые свойства. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 1, 49–52.
5. Рейтблат, Б. Б., Оганесянц, Л. А., Дубинчук, Л. В., Моисеева, А. А. (2016). Исследование процесса обогащения игристых вин биологически активными веществами осадочных дрожжей. *Виноделие и виноградарство*, 5, 20–24.
6. Оганесянц, Л. А., Дубинчук, Л. В., Ротару, И. А., Драган, В. М. (2013). Влияние танинсодержащих соединений на качественные показатели ликёра. *Виноделие и виноградарство*, 3, 9–11.
7. Echave, J., Barral, M., Fraga-Corral, M., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J. (2021). Bottle aging and storage of wines: A review. *Molecules*, 26(3), Article 713. <https://doi.org/10.3390/molecules26030713>
8. Ricci, A., Parpinello, G. P., Versari, A. (2017). Modelling the evolution of oxidative browning during storage of white wines: Effects of packaging and closures. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 472–479. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13303>
9. Del Caro, A., Piombino, P., Genovese, A., Moio, L., Fanara, C., Piga, A. (2014). Effect of bottle storage on colour, phenolics and volatile composition of Malvasia and Moscato white wines. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 35(1), 128–138. <https://doi.org/10.21548/35-1-992>
10. Худякова, О. Д. (2012). Тара для напитков как фактор сохранения качества готовой продукции. *Сибирский торгово-экономический журнал*, 16, 116–119.
11. Агеева, Н. М., Чемисова, Л. Э., Марковский, М. Г. (2014). Влияние качества упаковки на сохранность напитков в процессе их хранения [Электронный ресурс]. *Плодоводство и виноградарство Юга России*, 30(6), 143–158.
12. Сарышвили, Н. Г., Новикова, В. Н., Горшкова, А. Т., Полякова, Г. И. (1987). Влияние цвета стекла бутылки на качество вина. *Виноделие и виноградарство*, 2, 35–37.
13. Maury, C., Clark, A., Scollary, G. (2010). Determination of the impact of bottle colour and phenolic concentration on pigment development in white wine stored under external conditions. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.048>
14. Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I. D., Inglis, D., Pickering, G. J. (2010). Effect of light and temperature on 3-alkyl-2-methoxyprazine concentration and other impact odourants of Riesling and Cabernet franc wine during bottle ageing. *Food Chemistry*, 119(3), 935–944. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.052>
15. Dias, D. A., Smith, T. A., Ghiggino, K. P., Scollary, G. A. (2012). The role of light, temperature and wine bottle colour on pigment enhancement in white wine. *Food Chemistry*, 135(4), 2934–2941. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.068>
16. Dias, D. A., Clark, A. C., Smith, T. A., Ghiggino, K. P., Scollary, G. R. (2013). Wine bottle colour and oxidative spoilage: Whole bottle light exposure experiments under controlled and uncontrolled temperature conditions. *Food Chemistry*, 138(4), 2451–2459. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.024>
17. Cáceres-Mella, A., Flores-Valdivia, D., Laurie, V. F., López-Solís, R., Peña-Neira, Á. (2014). Chemical and sensory effects of storing Sauvignon blanc wine in colored bottles under artificial light. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 7255–7262. <https://doi.org/10.1021/jf501467f>
18. Recamales, A., Sayago, A., González-Miret, M. L., Hernanz, D. (2006). The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Research International*, 39(2), 220–229. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.009>
19. Clark, A., Vestner, J., Barril, C., Maury, C., Prenzler, P., Scollary, G. (2010). The influence of stereochemistry of antioxidants and flavanols on oxidation processes in a model wine system: Ascorbic acid, erythorbic acid, (+)-catechin and (-)-epicatechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1004–1011. <https://doi.org/10.1021/jf903233x>
20. Dias, D. A., Ghiggino, K. P., Smith, T. A., Scollary, G. R. (2010). Wine Bottle Colour and Oxidative Spoilage. School of Chemistry: The University of Melbourne, 80.
21. Arena, E., Rizzo, V., Licciardello, F., Fallico, B., Muratore, G. (2021). Effects of light exposure, bottle colour and storage temperature on the quality of Malvasia Delle Lipari sweet wine. *Foods*, 10(8), Article 1881. <https://doi.org/10.3390/foods10081881>
22. De Souza, J. F., De Souza Nascimento, A. M., Silva Linhares, M. S., Prudêncio Dutra, M. C., Lima, M. S., Pereira, G. E. (2018). Evolution of phenolic compound profiles and antioxidant activity of Syrah red and sparkling Moscatel wines stored in bottles of different colors. *Beverages*, 4(4), Article 89. <http://doi.org/10.3390/beverages4040089>
23. Родопуло, А. К. (1983). Основы биохимии виноделия. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983.
24. Garrido, J., Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International*, 54(2), 1844–1858. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
25. Оганесянц, Л. А., Андриевская, Д. В., Песчанская, В. А., Урусова, Л. М., Ревина, А. А., Ульянова, Е. В. и др. (2010). Влияние различных сроков

- хранения на биологическую активность вин. *Виноделие и виноградарство*, 6, 11–14.
26. Muselík, J., García-Alonso, M., Martín-López, M. P., Žemliča, M., Rivas-Gonzalo, J. C. (2007). Measurement of antioxidant activity of wine catechins, procyanidins, anthocyanins and pyranoanthocyanins. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(8), 797–809. <https://doi.org/10.3390/i8080797>
  27. Kallthraka, S., Salacha, M. I., Tzourou, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, 113(2), 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.083>
  28. Arapitas, P., Dalledonne, S., Scholz, M., Catapano, A., Carlin, S., Mattivi, F. (2020). White wine light-strike fault: A comparison between flint and green glass bottles under the typical supermarket conditions. *Food Packaging and Shelf Life*, 24(5), Article 100492. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100492>
  29. Hartley, A. (2008). Bulk shipping of wine and its implications for product quality Retrieved from <https://vineandwine.vin/en/articles/the-bulk-shipping-of-wine-versus-bottling-at-source/> Accessed January 19, 2023
  30. Benítez, P., Castro, R., Natera, R., Barroso, C. G. (2006). Changes in the polyphenolic and volatile content of "Fino" Sherry wine exposed to high temperature and ultraviolet and visible radiation. *European Food Research and Technology*, 222(3), 302–309. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0126-7>
  31. Butzke, C. E., Vogt, E. E., Chacon-Rodríguez, L. (2012). Effects of heat exposure on wine quality during transport and storage. *Journal of Wine Research*, 23(1), 15–25. <https://doi.org/10.1080/09571264.2011.646254>
  32. Lopes, P., Saucier, C., Teissèdre, P.-L., Glories, Y. (2006). Impact of storage position on oxygen ingress through different closures into wine bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6741–6746. <https://doi.org/10.1021/jf0614239>
  33. Maujean, A., Haye, M., Feuillat, M., Thomas, J. C., Petit, D. (1978). Contribution à l'étude des «goûts de lumière» dans le vin de champagne. II. Influence de la lumière sur le potentiel d'oxydoreduction. Corrélation avec la teneur en thiols du vin. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 12(4), 277–290. <https://doi.org/10.20870/oenone.1978.12.4.1427>
  34. Presa-Owens, C. D. L., Noble, A. C. (1997). Effect of storage at elevated temperatures on aroma of Chardonnay wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(3), 310–316. <https://doi.org/10.5344/ajev.1997.48.3.310>
  35. Marquez, L., Dunstall, S., Bartholdi, J., MacCawley, A. (2012). «Cool or hot»: A study of container temperatures in Australian wine shipments. *Australasian Journal of Regional Studies*, 18(3), 420–443.
  36. Ough, C. S. (1992). Winemaking basics. Binghamton, N. Y.: The Haworth Press, Inc., 1992.
  37. Ibern-Gómez, M., Andrés-Lacueva, C., Lamuela-Raventós, R. M., Buxaderas, S., Singleton, V. L., de la Torre-Boronat, M. C. (2000). Browning of Cava (sparkling wine) during aging in contact with lees due to the phenolic composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(1), 29–36. <https://doi.org/10.5344/ajev.2000.51.1.29>
  38. Serra-Cayuela, A., Aguilera-Curiel, M. A., Riu-Aumatell, M., Buxaderas, S., Lopez-Tamames, E. (2013). Browning during biological aging and commercial storage of Cava sparkling wine and the use of 5-HMF as a quality marker. *Food Research International*, 55(1), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.010>
  39. Betnga, P. F. T., Longo, E., Poggesi, S., Boselli, E. (2021). Effects of transport conditions on the stability and sensory quality of wines. *OENO One*, 2, 197–208. <https://doi.org/10.20870/oeno-ne.2021.55.2.4524>
  40. Benucci, I. (2019). Impact of post-bottling storage conditions on colour and sensory profile of a rosé sparkling wine. *LWT*, 118, Article 108732. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108732>
  41. Robinson, A. L., Mueller, M., Heymann, H., Ebeler, S. E., Boss, P. K., Solomon, P. S. et al. (2010). Effect of simulated shipping conditions on sensory attributes and volatile composition of commercial white and red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(3), 337–347. <https://doi.org/10.1163/09789004187993.i-382.372010>
  42. Pérez-Coella, M. C., González-Viñas, M. A., García-Romero, E., Díaz-Maroto, M. C., Cabezudo, M. D. (2003). Influence of storage temperature on the volatile compounds of young white wines. *Food Control*, 14(5), 301–306. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00094-4](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00094-4)
  43. Scrimgeour, N., Nordestgaard, S., Lloyd, N. D. R., Wilkes, E. N. (2015). Exploring the effect of elevated storage temperature on wine composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(S1), 713–722. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12196>
  44. Vázquez-Pateiro, I., Arias-González, U., Mirás-Avalos, J. M., Falqué, E. (2020). Evolution of the aroma of treixadura wines during bottle aging. *Foods*, 9(10), Article 1419. <https://doi.org/10.3390/foods9101419>
  45. Recamales, A. F., Gallo, V., Hernanz, D., González-Miret, M. L., Heredia, F. J. (2011). Effect of time and storage conditions on major volatile compounds of Zalema white wine. *Journal of Food Quality*, 34(2), 100–110. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2011.00371.x>
  46. Maujean, A., Seguin, N. (1983). Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne. 3. Les réactions photochimiques responsables des goûts de lumière dans le vin de Champagne. *Sciences des Aliments*, 3(4), 589–601. (In French).
  47. Dozon, N. M., Noble, A. C. (1989). Sensory study of the effect of fluorescent light on a sparkling wine and its base wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40(4), 265–271. <https://doi.org/10.5344/ajev.1989.40.4.265>
  48. Grant-Preece, P., Barril, C., Schmidtke, L. M., Scollary, G. R., Clark, A. C. (2015). Light-induced changes in bottled white wine and underlying photochemical mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(4), 753–754. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.919246>
  49. Grant-Preece, P., Barril, C., Leigh, M., Schmidtke, L. M., Clark, A. C. (2018). Impact of fluorescent lighting on the browning potential of model wine solutions containing organic acids and iron. *Food Chemistry*, 243, 239–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.093>
  50. Fracassetti, D., Limbo, S., Pellegrino, L., Tirelli, A. (2019). Light-induced reactions of methionine and riboflavin in model wine: Effects of hydrolysable tannins and sulfur dioxide. *Food Chemistry*, 298, Article 124952. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124952>
  51. Fracassetti, D., Canito, A. D., Bodon, R., Messina, N., Vigentini, I., Foschino, R. et al. (2021). Light-struck taste in white wine: Reaction mechanisms, preventive strategies and future perspectives to preserve wine quality. *Trends in Food Science and Technology*, 112, 547–558. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.013>
  52. Celotti, E., Lazaridis, G., Figelj, J., Scutaru, Y., Natolino, A. (2022). Comparison of a rapid light-induced and forced test to study the oxidative stability of white wines. *Molecules*, 27(1), Article 326. <https://doi.org/10.3390/molecules27010326>
  53. Díaz-Maroto, M. C., Viñas, M. L., Marchante, L., Alañón, M. E., Díaz-Maroto, I. J., Pérez-Coello, M. S. (2021). Evaluation of the storage conditions and type of cork stopper on the quality of bottled white wines. *Molecules*, 26(1), Article 232. <https://doi.org/10.3390/molecules260>
  54. Mislata, A. M., Puxeu, M., Nadal, M., de Lamo, S., Mestres, M., Ferrer-Gallego, R. (2022). Influence of different types of LEDs lights on the formation of volatile sulfur compounds in white and rosé wines. *Food Chemistry*, 371, Article 131144. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131144>
  55. Lan, H., Li, S., Yang, J., Li, J., Yuan, C., Guo, A. (2020). Effects of light exposure on chemical and sensory properties of storing Meili rosé wine in colored bottles. *Food Chemistry*, 345(6), Article 128854. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128854>
  56. Fracassetti, D., Limbo, S., Tirelli, A. (2019). Antioxidants for limiting the light-struck taste during the shelf-life. *BIO Web of Conferences*, 12, Article 02016. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191202016>
  57. Clark, A. C., Dias, D. A., Smith, T. A., Ghiggino, K. P., Scollary, G. R. (2011). Iron(III) tartrate as a potential precursor of light-induced oxidative degradation of white wine: Studies in a model wine system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3575–3581. <https://doi.org/10.1021/jf104897z>
  58. Asaduzzman, M., Scampicchio, M., Biasioli, F., Bremer, P. J., Silcock, P. P. (2020). Methanethiol formation during the photochemical oxidation of methionine-riboflavin system. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(1), 34–41. <https://doi.org/10.1002/ff.3536>
  59. Diaz, I., Castro, R. I., Ubeda, C., Loyola, R., Laurie, V. F. (2021). Combined effects of sulfur dioxide, glutathione and light exposure on the conservation of bottled Sauvignon blanc. *Food Chemistry*, 356(12), Article 129689. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129689>
  60. Vignault, A., González-Centeno, M. R., Pascual, O., Gombau, J., Jourdesa, M., Moine, V. et al. (2018). Chemical characterization, antioxidant properties and oxygen consumption rate of 36 commercial oenological tannins in a model wine solution. *Food Chemistry*, 268, 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.031>
  61. Fracassetti, D., Limbo, S., Messina, N., Pellegrino, L., Tirelli, A. (2021). Light-struck taste in white wine: Protective role of glutathione, sulfur dioxide and hydrolysable tannins. *Molecules*, 26(17), Article 5297. <https://doi.org/10.3390/molecules26175297>
  62. Fracassetti, D., Limbo, S., Pellegrino, L., Tirelli, A. (2019). The light-struck taste in white wine: Effect and evolution during the storage. *BIO Web of Conferences*, 15, Article 02028. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124952>

## REFERENCES

1. Oganesyants, L. A., Panasyuk, A. L. (2022). Special technology of wine-making. St. Petersburg: Profession, 2022. (In Russian)
2. Avidzba, A. M., Makarov, A. S., Yalanetskii, A. Y., Shmigelskaia, N. A., Lutkov, I. P., Shalimova, T. R. et al. (2017). Quality of wine materials from grapes of different varieties for their possible use in the production of sparkling wines. *Magarach. Viticulture and Winemaking*, 2, 31–35 (In Russian)
3. Oganesyants, L. A., Peschanskaya, V. A., Dubinina, E. V. (2018). Improvement of quality assessment of table wine materials for sparkling wines. *Beer and Drinks*, 3, 72–75. (In Russian)
4. Khristyuk, V. T., Strukova, V. E., Lazutin, A. A., Ageeva, N. M. (2000). Influence of technological methods of preparation of champagne wine materials on their sparkling and foamy properties. *Izvestiya VUZOV. Food Technology*, 1, 49–52. (In Russian)

5. Reitblat, B. B., Oganesyants, L. A., Dubinchuk, L. V., Moiseeva, A. A. (2016). The research of the enrichment process with biologically active substances of sedimentary yeast in sparkling wine. *Winemaking and Viticulture*, 5, 20–24. (In Russian)
6. Oganesyants, L. A., Dubinchuk, L. V., Rotaru, I. A., Dragan, V. M. (2013). Influence of tannin containing compounds on qualitative measures of liquor. *Winemaking and Viticulture*, 3, 9–11. (In Russian)
7. Echave, J., Barral, M., Fraga-Corral, M., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J. (2021). Bottle aging and storage of wines: A review. *Molecules*, 26(3), Article 713. <https://doi.org/10.3390/molecules26030713>
8. Ricci, A., Parpinello, G. P., Versari, A. (2017). Modelling the evolution of oxidative browning during storage of white wines: Effects of packaging and closures. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 472–479. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13303>
9. Del Caro, A., Piombino, P., Genovese, A., Moio, L., Fanara, C., Piga, A. (2014). Effect of bottle storage on colour, phenolics and volatile composition of Malvasia and Moscato white wines. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 35(1), 128–138. <https://doi.org/10.21548/35-1-992>
10. Khudyakova, O. D. (2012). Beverage containers as a factor of preserving the quality of finished products. *Siberian Trade and Economic Journal*, 16, 116–119. (In Russian)
11. Ageeva, N. M., Chemissova, L. E., Markovskiy, M. G. (2014). Influence of quality of glass container on the safety of beverages during storage. *Fruit Growing and Viticulture of the South of Russia*, 30(6), 143–158. (In Russian)
12. Sarishvili, N. G., Novikova, V. N., Gorshkova, A. T., Polyakova, G. I. (1987). Influence of bottle glass color on wine quality. *Winemaking and Viticulture*, 2, 35–37. (In Russian)
13. Maury, C., Clark, A., Scollary, G. (2010). Determination of the impact of bottle colour and phenolic concentration on pigment development in white wine stored under external conditions. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.048>
14. Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I. D., Inglis, D., Pickering, G. J. (2010). Effect of light and temperature on 3-alkyl-2-methoxypyrazine concentration and other impact odourants of Riesling and Cabernet franc wine during bottle ageing. *Food Chemistry*, 119(3), 935–944. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.052>
15. Dias, D. A., Smith, T. A., Ghiggino, K. P., Scollary, G. A. (2012). The role of light, temperature and wine bottle colour on pigment enhancement in white wine. *Food Chemistry*, 135(4), 2934–2941. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.068>
16. Dias, D. A., Clark, A. C., Smith, T. A., Ghiggino, K. P., Scollary, G. R. (2013). Wine bottle colour and oxidative spoilage: Whole bottle light exposure experiments under controlled and uncontrolled temperature conditions. *Food Chemistry*, 138(4), 2451–2459. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.024>
17. Cáceres-Mella, A., Flores-Valdivia, D., Laurie, V.F., López-Solís, R., Peña-Neira, Á. (2014). Chemical and sensory effects of storing Sauvignon blanc wine in colored bottles under artificial light. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 7255–7262. <https://doi.org/10.1021/jf501467f>
18. Recamales, A., Sayago, A., González-Miret, M. L., Hernanz, D. (2006). The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Research International*, 39(2), 220–229. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.009>
19. Clark, A., Vestner, J., Barril, C., Maury, C., Prenzler, P., Scollary, G. (2010). The influence of stereochemistry of antioxidants and flavanols on oxidation processes in a model wine system: Ascorbic acid, erythorbic acid, (+)-catechin and (-)-epicatechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1004–1011. <https://doi.org/10.1021/jf903233x>
20. Dias, D. A., Ghiggino, K. P., Smith, T. A., Scollary, G. R. (2010). Wine Bottle Colour and Oxidative Spoilage. School of Chemistry: The University of Melbourne, 80.
21. Arena, E., Rizzo, V., Licciardello, F., Fallico, B., Muratore, G. (2021). Effects of light exposure, bottle colour and storage temperature on the quality of Malvasia delle Lipari sweet wine. *Foods*, 10(8), Article 1881. <https://doi.org/10.3390/foods100818812021>
22. De Souza, J. F., De Souza Nascimento, A. M., Silva Linhares, M. S., Prudêncio Dutra, M. C., Lima, M. S., Pereira, G.E. (2018). Evolution of phenolic compound profiles and antioxidant activity of Syrah red and sparkling Moscatel wines stored in bottles of different colors. *Beverages*, 4(4), Article 89. <https://doi.org/10.3390/beverages4040089>
23. Rodopulo, A. K. (1983). Fundamentals of biochemistry of winemaking. Moscow: Light and food industry, 1983. (In Russian)
24. Garrido, J., Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols – A chemical perspective. *Food Research International*, 54(2), 1844–1858. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
25. Oganesyants, L. A., Andrievskaya, D. V., Peschanskaya, V. A., Urusova, L. M., Revina, A. A., Uljyanova, E. V. et al (2010). Influence of various periods of storage on biological value of wines. *Winemaking and Viticulture*, 6, 11–14. (In Russian)
26. Muselík, J., García-Alonso, M., Martín-López, M. P., Žemliča, M., Rivas-Gonzalo, J.C. (2007). Measurement of antioxidant activity of wine catechins, procyanidins, anthocyanins and pyranoanthocyanins. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(8), 797–809. <https://doi.org/10.3390/i8080797>
27. Kallthraka, S., Salacha, M. I., Tzourou, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, 113(2), 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.083>
28. Arapitsas, P., Dalledonne, S., Scholz, M., Catapano, A., Carlin, S., Mativiti, F. (2020). White wine light-strike fault: A comparison between flint and green glass bottles under the typical supermarket conditions. *Food Packaging and Shelf Life*, 24(5), Article 100492. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100492>
29. Hartley, A. (2008). Bulk shipping of wine and its implications for product quality Retrieved from <https://vineandwine.vin/en/articles/the-bulk-shipping-of-wine-versus-bottling-at-source/> Accessed January 19, 2023
30. Benitez, P., Castro, R., Natera, R., Barroso, C. G. (2006). Changes in the polyphenolic and volatile content of "Fino" Sherry wine exposed to high temperature and ultraviolet and visible radiation. *European Food Research and Technology*, 222(3), 302–309. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0126-7>
31. Butzke, C. E., Vogt, E. E., Chacón-Rodríguez, L. (2012). Effects of heat exposure on wine quality during transport and storage. *Journal of Wine Research*, 23(1), 15–25. <https://doi.org/10.1080/09571264.2011.646254>
32. Lopes, P., Saucier, C., Teissédre, P.-L., Glories, Y. (2006). Impact of storage position on oxygen ingress through different closures into wine bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6741–6746. <https://doi.org/10.1021/jf0614239>
33. Maujean, A., Haye, M., Feuillat, M., Thomas, J. C., Petit, D. (1978). Contribution à l'étude des «goûts de lumière» dans le vin de champagne. II. Influence de la lumière sur le potentiel d'oxydoreduction. Corrélation avec la teneur en thiols du vin. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 12(4), 277–290. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1978.12.4.1427> (In French)
34. Presa-Owens, C. D. L., Noble, A. C. (1997). Effect of storage at elevated temperatures on aroma of Chardonnay wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(3), 310–316. <https://doi.org/10.5344/ajev.1997.48.3.310>
35. Marquez, L., Dunstall, S., Bartholdi, J., Maccawley, A. (2012). «Cool or hot»: A study of container temperatures in Australian wine shipments. *Australasian Journal of Regional Studies*, 18(3), 420–443.
36. Ough, C. S. (1992). Winemaking basics. Binghamton. N. Y.: The Haworth Press, Inc., 1992.
37. Ibern-Gómez, M., Andrés-Lacueva, C., Lamuela-Raventós, R. M., Buxaderas, S., Singleton, V. L., de la Torre-Borónat, M. C. (2000). Browning of Cava (sparkling wine) during aging in contact with lees due to the phenolic composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(1), 29–36. <https://doi.org/10.5344/ajev.2000.51.1.29>
38. Serra-Cayuela, A., Aguilera-Curiel, M. A., Riu-Aumatell, M., Buxaderas, S., Lopez-Tamames, E. (2013). Browning during biological aging and commercial storage of Cava sparkling wine and the use of 5-HMF as a quality marker. *Food Research International*, 53(1), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.010>
39. Betruga, P. F. T., Longo, E., Poggesi, S., Boselli, E. (2021). Effects of transport conditions on the stability and sensory quality of wines. *OENO One*, 2, 197–208. <https://doi.org/10.20870/oeno-ne.2021.55.2.4524>
40. Benucci, I. (2019). Impact of post-bottling storage conditions on colour and sensory profile of a rosé sparkling wine. *LWT*, 118, Article 108732. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108732>
41. Robinson, A. L., Mueller, M., Heymann, H., Ebeler, S. E., Boss, P. K., Solomon, P. S. et al. (2010). Effect of simulated shipping conditions on sensory attributes and volatile composition of commercial white and red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(3), 337–347. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004187993.i-382.372010>
42. Pérez-Coella, M. C., González-Viñas, M. A., García-Romero, E., Díaz-Maroto, M. C., Cabezudo, M. D. (2003). Influence of storage temperature on the volatile compounds of young white wines. *Food Control*, 14(5), 301–306. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00094-4](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00094-4)
43. Scrimgeour, N., Nordestgaard, S., Lloyd, N. D. R., Wilkes, E. N. (2015). Exploring the effect of elevated storage temperature on wine composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(S1), 713–722. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12196>
44. Vázquez-Pateiro, I., Arias-González, U., Mirás-Avalos, J.M., Falqué, E. (2020). Evolution of the aroma of treixadura wines during bottle aging. *Foods*, 9(10), Article 1419. <https://doi.org/10.3390/foods9101419>
45. Recamales, A. F., Gallo, V., Hernanz, D., González-Miret, M. L., Heredia, F. J. (2011). Effect of time and storage conditions on major volatile compounds of Zalema white wine. *Journal of Food Quality*, 34(2), 100–110. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2011.00371.x>
46. Maujean, A., Seguin, N. (1983). Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne. 3. Les réactions photochimiques responsables des goûts de lumière dans le vin de Champagne. *Sciences des Aliments*, 3, 589–601. (In French)
47. Dozon, N. M., Noble, A. C. (1989). Sensory study of the effect of fluorescent light on a sparkling wine and its base wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40(4), 265–271. <https://doi.org/10.5344/ajev.1989.40.4.265>
48. Grant-Preece, P., Barril, C., Schmidtke, L. M., Scollary, G. R., Clark, A. C. (2015). Light-induced changes in bottled white wine and underlying photochemical mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(4), 753–754. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.919246>
49. Grant-Preece, P., Barril, C., Leigh, M., Schmidtke, L. M., Clark, A. C. (2018). Impact of fluorescent lighting on the browning potential of model wine

- solutions containing organic acids and iron. *Food Chemistry*, 243, 239–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.093>
50. Fracassetti, D., Limbo, S., Pellegrino, L., Tirelli, A. (2019). Light-induced reactions of methionine and riboflavin in model wine: Effects of hydrolysable tannins and sulfur dioxide. *Food Chemistry*, 298, Article 124952. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124952>
51. Fracassetti, D., Canito, A. D., Bodon, R., Messina, N., Vigentini, I., Foschino, R. et al. (2021). Light-struck taste in white wine: Reaction mechanisms, preventive strategies and future perspectives to preserve wine quality. *Trends in Food Science and Technology*, 112, 547–558. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.013>
52. Celotti, E., Lazaridis, G., Figelj, J., Scutaru, Y., Natolino, A. (2022). Comparison of a rapid light-induced and forced test to study the oxidative stability of white wines. *Molecules*, 27(1), Article 326. <https://doi.org/10.3390/molecules27010326>
53. Díaz-Maroto, M. C., Viñas, M. L., Marchante, L., Alañón, M. E., Díaz-Maroto, I. J., Pérez-Coello, M. S. (2021). Evaluation of the storage conditions and type of cork stopper on the quality of bottled white wines. *Molecules*, 26(1), Article 232. <https://doi.org/10.3390/molecules2601>
54. Mislata, A. M., Puxeu, M., Nadal, M., de Lamio, S., Mestres, M., Ferer-Gallego, R. (2022). Influence of different types of LEDs lights on the formation of volatile sulfur compounds in white and rosé wines. *Food Chemistry*, 371, Article 131144. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131144>
55. Lan, H., Li, S., Yang, J., Li, J., Yuan, C., Guo, A. (2020). Effects of light exposure on chemical and sensory properties of storing Meili rosé wine in colored bottles. *Food Chemistry*, 345(6), Article 128854. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128854>
56. Fracassetti, D., Limbo, S., Tirelli, A. (2019). Antioxidants for limiting the light-struck taste during the shelf-life. *BIO Web of Conferences*, 12, Article 02016. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191202016>
57. Clark, A. C., Dias, D. A., Smith, T. A., Ghiggino, K. P., Scollary, G. R. (2011). Iron(III) tartrate as a potential precursor of light-induced oxidative degradation of white wine: Studies in a model wine system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3575–3581. <https://doi.org/10.1021/jf104897z>
58. Asaduzzman, M., Scampicchio, M., Biasioli, F., Bremer, P. J., Silcock, P. (2020). Methanethiol formation during the photochemical oxidation of methionine-riboflavin system. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(1), 34–41. <https://doi.org/10.1002/ffj.3536>
59. Diaz, I., Castro, R. I., Ubeda, C., Loyola, R., Laurie, V. F. (2021). Combined effects of sulfur dioxide, glutathione and light exposure on the conservation of bottled Sauvignon blanc. *Food Chemistry*, 356(12), Article 129689. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129689>
60. Vignault, A., González-Centeno, M. R., Pascual, O., Gombau, J., Jourdesa, M., Moine, V. et al. (2018). Chemical characterization, antioxidant properties and oxygen consumption rate of 36 commercial oenological tannins in a model wine solution. *Food Chemistry*, 268, 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.031>
61. Fracassetti, D., Limbo, S., Messina, N., Pellegrino, L., Tirelli, A. (2021). Light-struck taste in white wine: Protective role of glutathione, sulfur dioxide and hydrolysable tannins. *Molecules*, 26(17), Article 5297. <https://doi.org/10.3390/molecules26175297>
62. Fracassetti, D., Limbo, S., Pellegrino, L., Tirelli, A. (2019). The light-struck taste in white wine: Effect and evolution during the storage. *BIO Web of Conferences*, 15, Article 02028. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124952>

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

### Принадлежность к организации

**Дубинина Елена Васильевна** — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7  
Тел.: +7-499-246-75-85  
E-mail: elena-vd@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8364-9539>

**Моисеева Александра Анатольевна** — младший научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7  
Тел.: +7-499-246-75-85  
E-mail: oltiv@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1591-6084>  
\* автор для контактов

**Андреевская Дарья Владиславовна** — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7  
Тел.: +7-499-246-66-12  
E-mail: d.andrievskaya@fncps.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5167-9074>

**Трофимченко Владимир Александрович** — кандидат технических наук, научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7  
Тел.: +7-499-246-66-12  
E-mail: labcognac@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8856-9768>

### Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## AUTHOR INFORMATION

### Affiliation

**Elena V. Dubinina**, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Department of Spirits Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry  
7, Rossolimo Str., 119021, Moscow, Russia  
Tel.: +7-499-246-75-85  
E-mail: elena-vd@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8364-9539>

**Aleksandra A. Moiseeva**, Junior Researcher, Department of Spirits Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry  
7, Rossolimo Str., 119021, Moscow, Russia  
Tel.: +7-499-246-75-85  
E-mail: oltiv@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1591-6084>  
\* corresponding author

**Darya A. Andrievskaya**, Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Department of Spirits Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry  
7, Rossolimo Str., 119021, Moscow, Russia  
Tel.: +7-499-246-66-12  
E-mail: d.andrievskaya@fncps.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5167-9074>

**Vladimir A. Trofimchenko**, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Department of Spirits Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry  
7, Rossolimo Str., 119021, Moscow, Russia  
Tel.: +7-499-246-66-12  
E-mail: labcognac@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8856-9768>

### Contribution

Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-139-147>

Received 22.12.2022

Accepted in revised 08.04.2023

Accepted for publication 17.04.2023

© Ema E. S., Obidegwu J. E., Akpabio E. M., 2023

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

Original scientific article

Open access

## THE SOCIO-CULTURAL AND PRODUCTIVITY NEXUS IN YAM FARMING IN NIGERIA

Eti-obong S. Ema<sup>1,\*</sup>, Jude E. Obidegwu<sup>2</sup>, Emmanuel M. Akpabio<sup>1</sup><sup>1</sup> University of Uyo, Uyo, Akwa Ibom State, Nigeria<sup>2</sup> National Root Crops Research Institute Umudike, Umuahia, Abia State, Nigeria**KEY WORDS:***sustainability, socio-cultural, yam production***ABSTRACT**

Socio-cultural structures of yam production are largely shaped by the tradition, religion, beliefs, taboos, myths, spirituality and social relationships. Obudu community was the focus to examine the implications of these structures on yam productivity and sustainability. Data was collected through 60 interviews, 2 public meetings, 3 focus group discussions, local informants, review of literature, including secondary and grey literature and keen observation. Our findings reveal a range of indices of respondents' perception as measures of productivity. The native and the 'aged' majority of the population were more conservative in their farming practice exhibiting deeper attachment to traditional practices and ecological wholesomeness with decreasing material productivity and performance in yield outputs, though not so significant. The socially mobile non-natives and the younger demographic groups were open to the modern farming approach targeting the quantity and tons of yam tubers and were not so keen on the overall health and integrity of the ecological system that makes sustainable production and human existence possible. The results emphasize the need to look beyond the improvement in material productivity as other non-material indices of productivity should be explored. More rigorous quantitative and long-term trend analysis should be conducted to assess the productivity performance trend associated with the natural ecological health and yam outputs for the study area.

**FUNDING:** Yam Research Program of National Root Crops Research Institute Umudike, Abia State, Nigeria, has provided the Seed Grant for the field work.

Поступила 22.12.2022

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

Поступила после рецензирования 08.04.2023

Научная статья

Принята в печать 17.04.2023

Open access

© Эма Э.-О. С., Обидегву Дж.Э., Акпабио Э. М., 2023

## СОЦИАЛЬНО-КУЛЬТУРНЫЕ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ СВЯЗИ В ВЫРАЩИВАНИИ ЯМСА В НИГЕРИИ

Эма Э.-О. С.<sup>1,\*</sup> Обидегву Дж.Э.<sup>2</sup>, Акпабио Э. М.<sup>1</sup><sup>1</sup> Университет Уйо, Уйо, штат Аква Ибон, Нигерия<sup>2</sup> Национальный научно-исследовательский институт корнеплодов Умудике, Умуахия, штат Абия, Нигерия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:***рациональное и экологически устойчивое производство, социокультурный, производство ямса***АННОТАЦИЯ**

Социокультурные факторы при производстве ямса в значительной степени формируются традицией, религией, убеждениями, запретами, мифами, духовностью и социальными отношениями внутри общества. Чтобы изучить влияние этих факторов на уровень урожайности ямса, а также на рациональное и экологически устойчивое производство ямса было выбрано сообщество Обуду. Данные были собраны в ходе 60 интервью, 2 общественных встреч, 3 обсуждений в фокус-группах, в рамках бесед с местными информаторами, обзора литературы, включая вторичную и малоизвестную литературу, а также за счет внимательного наблюдения. Наши результаты выявили ряд показателей восприятия респондентами показателей урожайности ямса. Большинство коренного и пожилого населения были более консервативными в своих методах ведения сельского хозяйства, проявляя глубокую привязанность к традиционным методам и экологической чистоте при возделывании корнеплода при снижении производительности и показателей урожайности, хотя и не столь значительных. Социально мобильные респонденты, не являющиеся аборигенами, и более молодые демографические группы проявляли открытость для современных сельскохозяйственных подходов, ориентированных на количество корнеплодов и общий вес клубней ямса, и не были так заинтересованы в сохранении общего благополучия и целостности экологической системы, которая делает возможным рациональное и экологически устойчивое производство в процессе человеческого существования. Результаты подчеркивают необходимость не ограничиваться лишь улучшением показателей материальной производительности, поскольку необходимо изучить и другие, нематериальные показатели производительности. Должен быть проведен более строгий количественный и долгосрочный анализ тенденций, чтобы оценить тенденцию производительности, связанную с естественным экологическим благополучием и урожайностью ямса на изучаемой территории.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Грант на проведение исследований на местности был предоставлен программой исследования ямса Национального научно-исследовательского института корнеплодов г. Умудике, штат Абия, Нигерия.

FOR CITATION: Ema, E. S., Obidegwu, J.E., Akpabio, E.M. (2023). The socio-cultural and productivity nexus in yam farming in Nigeria. *Food Systems*, 6(2), 139-147. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-139-147>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Эма, Э.-О. С., Обидегву, Дж.Э., Акпабио, Э.М. (2023). Социально-культурные и производственные связи в выращивании ямса в Нигерии. *Пищевые системы*, 6 (2), 139-147. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-139-147>

## 1. Introduction

The importance of food to human existence has been given higher pre-eminence under the sustainable development goals (SDGs). SDGs 1, 2 and 3 primarily touch on human well-being and health reflected in their emphasis on zero hunger (SDG 2), good health and well-being (SDG 3) and poverty alleviation (SDG 1). These goals are at the core of human search for food security through sufficient production and distribution, enhanced access and improvement in nutrition [1]. Attaining the SDG food security goals by 2030 has the potential of addressing other elements bordering on reduced inequality (SDG 10) and responsible consumption and production (SDG 12), among other targets in several other goals.

[1,2] noted that 239 million people in sub-Saharan Africa were still afflicted by hunger due to inadequate supply, soaring prices, and of course we would like to mention the challenge of poor institutional coordination. The recent projection from [3,4] shows that one in every four people in sub-Saharan Africa is undernourished. Compared to other regions of the world, sub-Saharan Africa is shown to be lagging behind in the battle to achieve food security for its population primarily due to a range of factors including low productivity challenge, rising unproductive population growth, climate and soil quality problem as well as slavery in African history and weak health care [5,6,7]. Other challenges include conflicts and wars, and poor optimization of the agricultural value chains, among others. The climate change impact has recently been one of the challenges to achieving food security in sub-Saharan Africa through excessive flood and drought spells, which affect food supplies, distribution and seasonal cultivation.

These are mostly biophysical and socio-economic factors. The cultural perspectives underpinning agricultural productivity, sustainability and associated issues are often overlooked. Besides human capital, research and development (R & D), technology, finance and innovations, other factors such as values, beliefs, attitudes, taboos, myths and behaviors do influence agricultural factor productivity in many ways. Culture and religion have shaped labor, capital and material productivity from the perspectives of work ethics, achievement motivation and individualistic or collective practices [8,9,10]. The mainstream definition of productivity focuses on the relationship between input and output in a linear manner of growth or non-growth [11]. Very limited studies have paid attention to the broader impact of socio-cultural factors of productivity [8,9,10,12]. In the study on the social meanings and cultural functions associated with yam (*Dioscorea* spp.) cultivation in southern Nigeria, Obidiegwu et al. [12] argue that yam farming and production are associated with many spiritual, religious, social and cultural meanings and values that have traditionally and historically shaped the existence, relationship and livelihood pattern of the population in the region (see also [13]).

Yam farming supports food security goals being one of the major sources of calories and micronutrients for a greater proportion of the world's population in the tropical and sub-tropical environment [14,15]. Yam exists in multiple varieties (about 600) cultivated in Africa, Asia, parts of South America, as well as the Caribbean and the South Pacific islands [16]. Yam-based agriculture in West Africa is recorded to be over 500 years old [17], but actual domestication is noted to have taken place along an axis at the forest-savannah ecotone in the eastern part of West Africa [18] and along the Niger River plains [19]. Nigeria is credited with the most advanced yam culture and civilization in the world [20]. According to the FAOSTAT statistic database [3], Nigeria is at the forefront of yam production with about 65% (about 50 million metric tons) contribution to the world's output. But yam farming has been linked with a range of biophysical and socio-cultural issues that impact productivity. Much less is known of how the socio-cultural meanings and values linked

to yam and its production process influence their productivity. Our present study moves beyond understanding the biophysical, socio-cultural, religious and spiritual issues to examine their implications for yam productivity within the broader context of further untangling the challenges associated with food security attainment for Nigeria. We explored these issues by the example of the Obudu community in northern Cross River State, south eastern Nigeria. Our paper is organized into segments. We discussed the geography of the Obudu community, Nigeria, in relation to the geographical, historical and socio-cultural aspects of yam farming immediately following our introduction. The second segment describes the study methods including communities under study, methods of data collection, analysis, ethical procedures and possible limitations. The findings section follows the study methods. The final segment focuses on discussions of findings and concluding remarks.

## 2. Obudu community: environment, socio-cultural issues and yam farming

### 2.1. Location, ethnic and demographic structures

Obudu is located at latitude 6°40' and longitude 9°10'. It has a total land size of 459.458 km<sup>2</sup> [22] and is bordered in the south by Boki, in the east by Obanliku, in the west by Ogoja and Bekwarra local government areas in Cross River State and in the north by Vandeika local government area in Benue State. Obudu is home to the clans of Bette, Obanliku, Bendi, Utugwang, Ukpape-Alege, Utanga-Becheve, Bekwarra and Mbube, who all lived as autonomous communities sharing kinship being the sons of Agba. [23] (Figure 1). These traditional clans are now composed into the local government political administrative area called Obudu. They are locally administered by a traditional structure led by village chiefs and clan heads who are coordinated by the Paramount traditional ruler who is answerable to the Local Government Political Chairman who is the head of the political administrative structure of Obudu local government area.

The Obudu people speak five languages based on the number of tribes above. These five languages are inter-spoken by the eight clans as listed above with Bette ranking the largest. There is no clear cut demographic delimitation classifying which languages are spoken by each tribe as diverse tribes adopt several languages as it appeals to each family's preference. In Ubang, men speak a different language from women, though they understand each other. There is a local belief that God stepped his mighty feet on Ubang land as a gigantic footprint, which is left indelible in the community till date [23]. Settlements in the local government area include Akim, Atikpe, Begiaba, Beniabe, Betukwe, Babwabie uya, Babwabie, Betukwe, Igalaba, Obudu, Obuabung, Okolo obudu, Ohong, Okoshe. Obudu have some clusters of heterogeneous national and ethnic groups comprising of the Cameroonians, Hausas, Igbos, Igedes, Yorubas and Tivs, among others, who have integrated into the various sub-communities on account of migration, marriages and businesses. Obudu has a total population of 161,457 with 81,537 males and 79,920 females [22], most of whom have achieved various levels of basic formal and higher education.

### 2.2. Socio-cultural beliefs and practices

Over 90% of the population are Christians, who co-exist with other religious groups including the Muslims and the traditional religion worshippers. There is, however, a tendency of syncretism among the various religious groups, which manifests through ancestral worship, sacrifices, libation, and beliefs in witchcrafts, myths, taboos, charms etc. Eko et al. [24] explain that the prevalence of these beliefs has shaped the course of many practices, ceremonies, and festivals, for instance, the

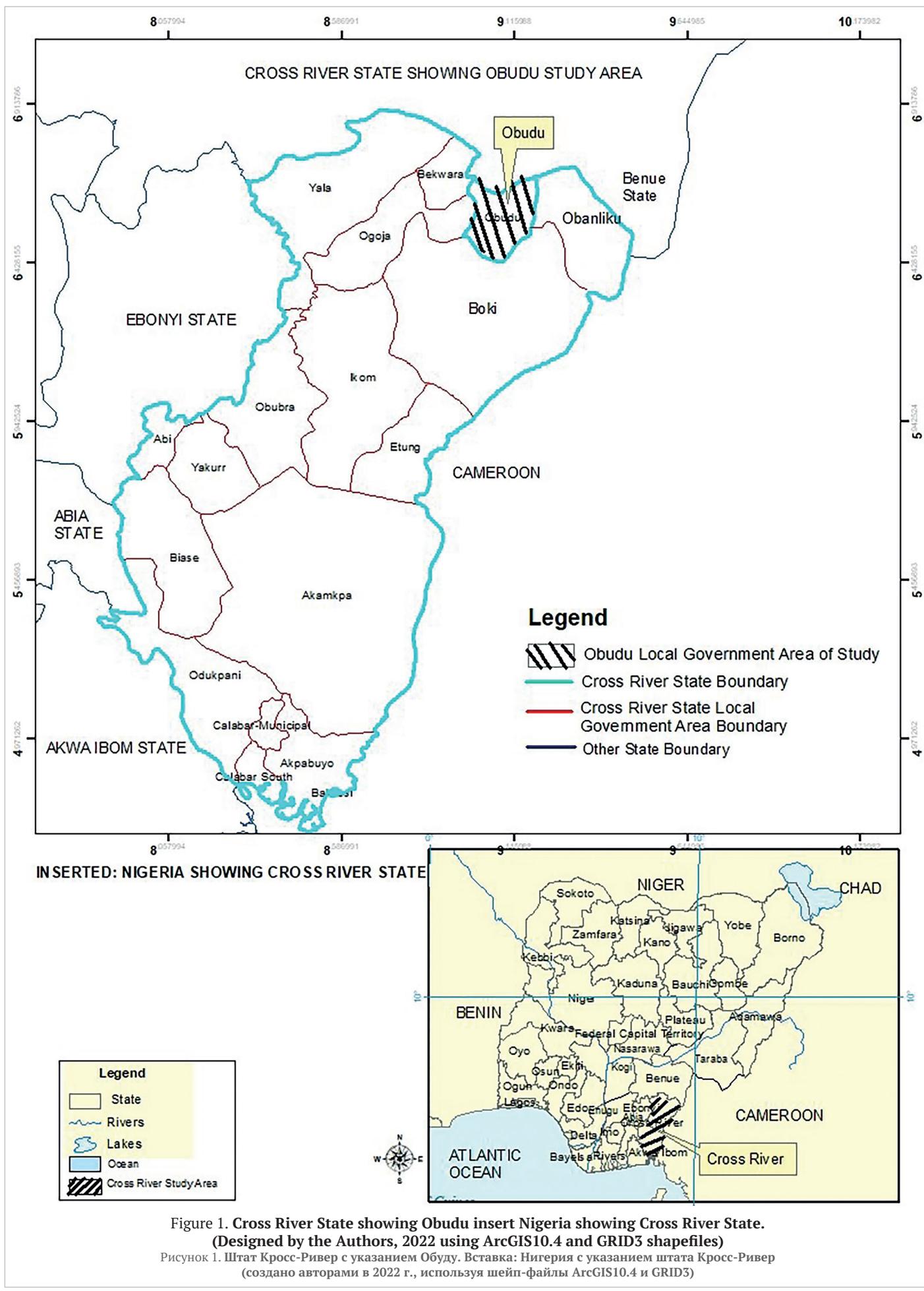


Figure 1. Cross River State showing Obudu insert Nigeria showing Cross River State.  
(Designed by the Authors, 2022 using ArcGIS10.4 and GRID3 shapefiles)

Рисунок 1. Штат Кросс-Ривер с указанием Обуду. Вставка: Нигерия с указанием штата Кросс-Ривер (создано авторами в 2022 г., используя шейп-файлы ArcGIS10.4 и GRID3)

designation of special days, when no economic and related activities can be conducted. Saturdays are popularly reserved for major traditions and festivals during which all forms of farming activities are prohibited.

### 2.3. Economic activities

Obudu is dominantly a rural region. Consequently, the larger proportion of the population (over 90%) is estimated to live in the rural areas and are involved in subsistent and semi-subsistent activities dominated by farming, trades, skill crafts, commerce, among others. Farming and related land-based activities are rainfed and seasonal, shaped by the rhythm of rainfall and temperature. Typically, public education is poor in rural settlements in Nigeria, which is reflected in low literacy level among the population. Under this circumstance, most social and economic activities are shaped by the tradition, cultural beliefs and local knowledge of the ecological environment with implications for productivity and sustainable practices.

## 3. Study methods, ethics and limitations

This paper is a product of a fieldwork activity on a doctoral program on 'food systems, livelihood and culture: a study on yam in South-South Nigeria' in September 2021. The fieldwork took place in the Obudu community in northern Cross River, Nigeria. The fieldwork process was largely qualitative and used interviews, public meetings, focus group discussions, local informants, review of literature, including secondary and grey literature and keen observation. Our interviews mostly targeted two demographic categories (60 years and above, and below 60 years) to understand generational differences and associated impact on yam farming. We also classified the population into native and non-native groups to be able to delve deep into their socio-cultural differences and associated impacts on yam farming.

We successfully conducted a total of sixty in-depth and semi-structured interviews, three focus groups with women, native and non-native population (each focus group had a maximum of eight participants), two public meetings (initial public meeting was used to explain the project and seek cooperation while the last public meeting was used to share and triangulate findings). The public meetings were organized at the villages' Council with wider representation from all demographic and gender-based categories. The first public meeting had thirteen participants, while the second had eighteen. Apart from the farming population, we also interviewed two traditional rulers and eight opinion holders. A single interview lasted, on average, between 55 minutes and one hour. Four local informants were used to facilitate our community entry, interaction with interviewees, clarification of issues and communication with the local elders and chiefs. Our respective individual experiences and familiarities with the local customs and traditions were equally useful.

We took notes of important information and issues that helped to clarify and strengthen our discussions. We had several follow-up interviews through mobile phones and e-mails, as well as in-person interviews to clarify issues, share findings and probe into some unexpected results. We used the Internet in search of relevant literature and visited public libraries and institutions for grey and other local publications. We applied the highest ethical standard of anonymity, confidentiality, informed consents and ability to withdraw from participation at any time. Our project also passed through stringent ethical approval from the Department of Geography Ethical Approval Board during the process of approving the doctoral project title and proposal, for which this paper is a part. All our data were interpreted, coded, thematized and analyzed. Narratives were collected and used for strengthening discussions. We also used tables, percentages and some quotes to strengthen our discussion of findings.

A limitation of this study is that it was performed in a single community (Obudu) as the starting point. We acknowledge that Obudu alone cannot give adequate representation of the vast, diverse and heterogeneous population of South-South Nigeria with hundreds of ethnic groups. These heterogeneous ethnic groups have vast and diverse perspectives, knowledge and norms associated with yam agriculture, which can hardly be captured by this small study area. Our study only focused on the qualitative perspective. It would make good sense to situate analysis on crop productivity in a balance of qualitative and quantitative parameters. These limitations relate much to funding limitations. Given that research on this subject is rare in Nigeria, this study stands to benefit the international community with literature, stimulate debate and lay good foundation and opportunity for further studies including cross-cutting thematic issues.

## 4. Results and discussion

### 4.1. Socio-demographic and economic characteristics of the respondents

Fifty-three percent of the respondents were in the age group of 60 years and above, while 47% were in the group of below 60 years of age. Fifty-six percent of the respondents were males and 44% were female participants. Fifty-four percent of the respondents acknowledged Christianity as their religion. Six percent admitted that they occasionally attend church especially during thanksgiving services for new yam harvest. They see themselves as practicing traditional religion insisting that most of the other respondents that claim to be Christians do so because of the social stigmatization attached with public association with the traditional religion. Forty-eight percent of the respondents were natives of Obudu with strong family and kinship, while 12% were the first or second generation of non-native settlers. Twelve percent of the respondents have attained tertiary level of education, 18% have attained secondary education, while 24% have achieved different levels of primary education. Eight percent admitted not having participated in formal education. Occupationally, 18% of the respondents combined yam farming with public services. Forty-two percent of the respondents were employed in other small scale economic activities including trading, masonry, processing, and all kinds of skill crafts, to mention but a few.

### 4.2. Socio-cultural perspectives on yam farming

Native farmers dominated farming operation (90%) over non-natives (10%), and largely depended on the traditional methods of farming practices including soil fertility determination, manual labor, non-use of chemicals (fertilizers, herbicides, pesticides), use of native seedlings, gendered distribution of farming tasks and responsibilities, the practice of shifting cultivation, and adherence to traditional beliefs and ritual practices, among several others (Table 1).

The majority of the non-natives were migrants from the neighboring ethnic regions of Igbo, Bekwara and Ogoja (all in Nigeria). They arrived in the region mostly for reasons of trade and marital relationships. Non-natives were noted to be more business minded, and more likely to embrace modern yam farming methods: '*...they are more aggressive, businesslike, individualistic and more likely to experiment on innovative and modern methods...*', stated a male respondent in his early 50s. A female respondent in her early 40s who relocated from Bekwara for the marital reason argued that non-natives are not clearly bound by most of the traditions of the natives. She, however, stated that few general restrictions in fulfillment of traditional religious ceremonies and beliefs also affect non-natives including traditional restriction of farming activities on certain days.

Table 1. Yam related cultural practices and implication for productivity  
Таблица 1. Связанные с ямсом культурные практики и их значение для производительности

Yam related cultural practices and routines	Remarks
Worship of yam deities and ancestors	<ul style="list-style-type: none"> <li>— varies among ethnic groups</li> <li>— manifests in sacrifices of living beings</li> <li>— productivity of yam is believed to be determined by spiritual forces</li> <li>— excessive devotion to the gods of yam limits the introduction and acceptability of modern methods of farming and improving yam productivity</li> </ul>
Yam ownership and cultivation is highly gendered	<ul style="list-style-type: none"> <li>— culturally, women do not own or inherit land and cannot take an independent decision on yam farming</li> <li>— yam cultivation is exclusively the preserve of the male gender</li> <li>— 9oor or absence of participation of women limits labor expansion in the business</li> </ul>
Excessive fixation on indigenous and native species (varieties)	<ul style="list-style-type: none"> <li>— only indigenous and native species (varieties) are acceptable for traditional and ritual ceremonies</li> <li>— this attitude rarely allows for experimentation on improved varieties</li> </ul>
Land rotation is still a traditional land-use management practice	<ul style="list-style-type: none"> <li>— land inheritance is generational</li> <li>— traditional approach to soil fertility and quality management</li> <li>— in the context of rising population, excessive fragmentation limits mechanization and large-scale cultivation</li> </ul>
The cultural practice of throwing outside pieces of harvested yams to prevent the deceased owner from gaining access to farm	<ul style="list-style-type: none"> <li>— much yam tubers are wasted in the process once the owner dies</li> </ul>
Twins in a family	<ul style="list-style-type: none"> <li>— yam farming families publicly show off their twins signifying fertility and blessings. Associating marital fecundity with the 'goddesses' of yam</li> </ul>
Exponential rise in marriage during harvesting season A yam test reveals the potential of a bride distinguishing who can manage a home or not. The potential bride is given a yam tuber to peel while the family gathers and watch	<ul style="list-style-type: none"> <li>— procreation is encouraged</li> <li>— a strategy for increasing the family labor pool</li> <li>— a wife's ineffectiveness in home management is identified... if she peels from the head down. It is then concluded she will be incapable of managing the home.</li> </ul>
Farming close to river banks/watersheds	<ul style="list-style-type: none"> <li>— has conservation values</li> </ul>
Yam and its symbolic values	<ul style="list-style-type: none"> <li>— yam symbolizes status, wealth and privileges</li> <li>— in some aspect, full scale commercialization amounts to a taboo and is unacceptable</li> <li>— commercial cultivation is severely restricted</li> </ul>

Authors, 2021 (Field work)

In determining the fertility of soils for yam cultivation, all the respondents who adhered to the traditional methods claimed they always look out for the coloration of the soil, with the fertile soil taking on the black or reddish color, while the white soil has to be avoided: '*...it is not every land that is fertile...we depend on the color of the soil to determine its yield prospects...fertile land range from the black to reddish color ...*' noted a respondent aged 62. Soil fertility determination alone is often not the key deciding principle for improvement in yam yields and outputs. Careful choice of species (varieties) and other management practices are critical. All the respondents placed premium on varieties with 70% indicating high preference for the native species (varieties). Taste, texture and cost differences, in addition to availability and easy access were listed to support their preference: '*...yam cultivated with chemical fertilizers hardly attract sales patronage among our people who are adept at spotting the taste difference...if you need urgent money, you may likely not secure market because most people is not likely to buy...*' argued a male respondent in his late 40s. Limited exposure or non-exposure to many other yam varieties as well as the rare use of yam tubers cultivated with the aid of chemical fertilizers probably account for inability to gain fast adjustments in attitudes toward other species.

Other cultural beliefs and practices bordering on gender discrimination, religious ceremonies and land management were also explored (Table 2).

Sixty percent of the respondents said yam farming was highly gendered, 10% agreed on gender-based workload imbalance to a certain extent, another 10% disagreed, while 20% of the respondents were neutral. Most of the respondents (80%) in the 'disagree' category were non-natives, while the remaining 20% have been shaped by educational attainment and some measure of social mobility including exposure to best practices. Men's tasks traditionally revolve around construction of yam molds, planting, stalking, trailing and harvesting. Women, on the other hand, are traditionally involved in tasks such as weeding and, on rare instances, could be allowed planting. Given that women could be allowed planting yam, it means the traditional and perceived

division of tasks and responsibilities may not be spiritually sacrosanct between the genders, it is rather historically and socially entrenched through a long period of socialization and practices. Regarding the 'weeding' task, a male respondent in his late 60s noted as follows: '*...women's traditional role in yam cultivation is weeding, reason being that it is a meticulous task which demands an appropriate attention and skills, which most men do not have the time and patience to engage in...*'

Table 2. Yam related beliefs and traditions

Таблица 2. Связанные с ямсом убеждения и традиции

	SUBSCRIPTION SCALE							
	YAM RELATED TRADITION				SOMEHOW			NEUTRAL
	Yes	%	No	%	Somehow	%	Neutral	%
Deification	42	70	6	10	12	20	Nil	Nil
Gendered practices	36	60	6	10	6	10	12	20
Native species (varieties)	42	70	6	10	Nil	Nil	12	20
Land rotation/ inheritance	48	80	6	10	Nil	Nil	6	10
Throwing pieces of yam outside for the gods	36	60	18	30	Nil	Nil	6	10
Twins in family	30	50	12	20	6	10	12	20
Marriage during yam festivals	36	60	12	20	6	10	6	10
Farming close to river banks	12	20	36	60	6	10	6	10

Authors, 2021 (Field Work)

The religious festival popularly called the 'new yam' festival is an important element in the Obudu age-long religious festivals that feature rites of sacrifices, obeisance, libation, fetish and other practices in referential respect to the 'goddesses' of yam fertility. Different ethnic groups designate special days for their respective yam ceremonies. Obudu's yearly festivals traditionally called 'Kipam fufua' are fixed on the first Saturday in September every year always coinciding with new yam harvest. A female respondent in her early 60s gave some details of the Obudu yam ceremony as follows: '*...this period is reserved for*

*merrymaking...most youths are often carefree in partying...falling victims to fatal accidents...often believed to be part of the sacrifices to the gods...*' She insisted that opting out of the tradition endangers families, and misfortunes such as low yam yield and farm accidents are attributable to their unwillingness to comply.

Other forms of labor and land management practices were equally identified in the process of yam farming. Shared, communal and rotational labor practices and exchanges, shifting cultivation and avoidance of farming in fragile ecologies were part of the traditional mode of yam farming in Obudu. The majority of the respondents practiced communal/shared/exchange labor and on rotational basis among themselves. This has been noted to save cost and achieve optimal labor power output with minimal cost inputs for members. Land management practices also formed part of our interview. Common practices identified include shifting cultivation and land rotation, and avoidance of farming in fragile and marginal areas. Sixty percent of the respondents would clearly avoid farming close to river banks/watersheds, while 20% would go ahead. We have learnt that violating the tradition will carry some spiritual and ecological consequences that reflect negatively on yam yield and performance. Our findings resonate with previous findings by [14,25] to the effect that ecological consequences of inappropriate land use management are linked to some spiritual breaches through human activities. These findings were reported in the geographical region similar to this study, and clearly underline the role of the traditional religion in fostering land use conservation and ecological sustainability.

#### 4.3. Implication for yam productivity

'Yield abundance', 'bumper harvest', 'soil fertility', 'output/seed input ratio', 'yield per yam crop stand' were all the indices that were used to discuss the fecundity and productivity of farmlands and yam yield per planting season. Productivity was assessed on the basis of the difference in yearly returns on investment in labor, inputs and finances, though such assessment was not based on quantitative parameters. Most importantly, communal happiness is believed to rest on the harmonious relationship with the 'goddesses' of fertility, which is partly expressed in their annual merry making events that come with their yearly celebration in 'new yam festival'. Yam farming was perceived by over 70% of the respondents as more of a cultural occupation nested in beliefs, taboos, myths, sacrifices and spirituality, serving as a rallying driver for collective and social engagements. How much do these beliefs shape yield, fertility and profit outcomes?

All the native farmers made some references directly or indirectly to the 'goddess' of fertility when discussing yield outcomes, and perceive all yam related traditional practices as normal referential respect to the 'goddess': '*...from the planting to harvesting phase, our community has to follow the laid-down tradition that encourages sacrifices, libation, taboos and many forms of ceremonies to protect our yam crop and sustain their yield...*', argued an elderly male respondent who should be in his early 70s. He cited an instance bordering on how human twins are often treated: '*...if a family has twins as members during cultivation, the first two sticks are inserted into the ground and made to cross. Upon harvest time, yam is harvested early and the twins eat first before other members of the household...*' Associating marital fecundity with the 'goddesses' of yam broadens the notion of productivity beyond quantitative and material outputs. Yam farming families tend to desire this prestigious public show of fertility if blessed with a twin. However, if this ritual is violated due to ignorance of the tradition by any twin family, there will probably be no disastrous results unlike the so-called 'nsobo udia' (decreased yam production), which would happen according to the belief of the Ibibio ethnic group.

The yield trend was also estimated over the 30-year period as a measure to assess how perceived cultural factors contribute to productivity of yam. The yield trend displays a decreasing pattern measured from 1992 to 2022 (Table 3).

Table 3. Ratio of yield trend and yam crop yield trend

Таблица 3. Соотношение урожайности и урожайности ямса

YEARS	INCREASING		DECREASING		STAGNANT		CANNOT SAY	
		%		%		%		%
1992–2002	42	70	6	10	6	10	12	20
2003–2012	30	50	6	10	6	10	18	30
2013–2022	30	50	12	20	6	10	12	20

Authors, 2021. (Field work)

Seventy percent of the respondents agreed that the yields in 1992–2002 were significantly higher. A male respondent in his late 60s argued that there used to be higher yield output and bumper harvest compared to current yields, though they are not bad.

The 2003–2012 and 2013–2022 periods indicate a fairly stable yield output of 50% for each period, respectively, which is significantly lower than the yields in the period of 1992–2002. Between 20% and 30% of the respondents could not indicate their responses to this particular question. Most of the respondents under this category belong to the non-native farmers. Some respondents who were able to assess the performance trend blamed decreases and declining productivity on inability to adhere strictly to the cultural traditions. However, few other respondents went further and pointed to other human factors that probably led to poor yam yield for the community, including decreasing fallow duration, population pressure and inability to embrace modern farming methods, among other factors. Generally, 80% of the respondents believed traditional and spiritual factors largely shape yam cultivation processes, which tend to undermine farmers' ability to adapt to the innovative and modern production process in some cases. Most of these respondents were not aware of the innovative and modern production process as there were limited extension services across the study area. Ninety percent of the yam farmers owned radio sets, which were supposed to connect them to public information services, with 60% of the socially mobile non-natives and the younger demographic groups acknowledging adoption of one or more innovative modern farming technologies.

Social factors were equally mentioned among the determining drivers of yam crop farming and yield outcome. These included labor management processes, large family size, social and economic mobility of farmers and the availability of financial, self-help and cooperative support structures. As discussed earlier, most of the farmers agreed that shared and communal labor enhances performance and productivity. A respondent in his late 50's explained that in Kutia community shared and communal labor can be divided into two categories. The community farm worker groups are further subdivided into age grade groups. Community age grade groupings include the youths, middle aged and elderly labor groupings. These groupings have different sizes starting from five farmers depending on the demand of a landowner. The norm is that a farmer invites a group to his farm by giving a prior date notice. Upon arrival at the farm, they execute their farming tasks with the farmer supporting them with meals and drinks. This is most often accompanied by singing folklore songs to ensure the resilience and speed in the execution of the task. A respondent, however, explained that singing is an individual task and not a group thing and is done voluntarily depending on the mood influenced by how they are

entertained by the farmer. These communal farm groups contribute to productivity outcome through extensive land cultivation. If some farmers are not in a right relationship with the community, they will depend on paid private groups of small farm workers who are less likely to achieve much compared to a large group of communal farmers. The different farm groupings are known by different names including *Bebua baundie beh* and *Bebua akapaha*. According to the respondents, farm associations are getting increasingly competitive and have variously contributed to enhancing the collective effort and yield performance.

Shared and communal labor contributes to the expansion of a farm size as well as enhances an increase in the quantity of yam crop planted per season: '*...it would be practically impossible to increase any farm size and quantity of yam planted with a small labor size...it does not cost much to belong to a group but the benefit is large...*', noted a female respondent who should be in her late 40s. Another female respondent in her late 40s also stated as follows: '*...the involvement of a large number of individuals in weeding through communal efforts incentivizes farmers and potential farmers to expand their farm operation and enhance the productivity of their efforts...*'. Some respondents also described the impact of large family sizes, level of education, extent of social exposure and access to necessary information as vital to the productivity of yam farming. The yam harvesting season provides an opportunity for selecting hardworking ladies for marriage basically aimed at increasing family sizes as security and insurance for farm labor and productivity: '*...it is mostly during this [harvest] season that elders choose wives for their children...in order to be able to identify a good woman, a yam test, in which a potential bride is given a tuber of yam to peel and pound, is conducted while the family watches...if the woman peels from the head down, it is concluded that the woman is bad and will not be able to manage the home...the woman that keeps the head will be judged as good and more likely to preserve the future at least being able to plan for the next yam planting season ...*' Social and economic mobility determined by the level of educational attainment, financial autonomy, access to information and exposure to the best and innovative practices shaped the productivity of yam farming. The majority of the non-natives (over 90%) and few of the natives (less than 10%) who discussed and embraced the positive impact of modern farming were more educationally and economically empowered and could give account of the productivity of their farming efforts as well as the improvement recorded in outputs.

The Obudu yam festival is the traditional public show of yam harvest aimed to thank gods and ancestors for the help in farm yield. The yield is often socio-culturally perceived by different community groups as a result of diligence or god's favor depending on each belief system. Folklore reveals that there used to be great competitions where different farmers gathered with their yam produce to compare which was the largest and to determine the best farmer with traditional farming management skills. The largest yam yield was publicly chosen and the participants were awarded with different prizes by the community and local government to motivate more farmers. These competitions are still carried out, but a respondent explained that they are not as grand as before, hence do not promote competition for more productivity in the next farming season as they used to. However, another respondent believes that the Obudu yam festival still has its awe of yam yield presentation as most farmers during the cultivation seasons strive to be classed amongst the best yam farmers. This prompts exceptional diligence of a farmer in the process of cultivation and also promotes productivity and better yield.

Yam farming in Obudu is largely shaped by the tradition, religion, beliefs, taboos, myths, spirituality and social relationships. Two broad categories of ethnic natives and non-natives,

and two sub-demographic categories consisting of the age group of 60 years and above (majority) and a numerically low group of people aged below 60 years are engaged in yam farming. The native and the 'aged' majority of the population tended to be more conservative in their farming approach exhibiting deeper attachment to the tradition and less likely to embrace modern farming practices. Their socio-demographic and economic status are dominantly low (less educational attainment, low level of social exposure), relatively poor financial autonomy, etc). On the contrary, the non-natives and the younger demographic groups, on average, were relatively better socially exposed, relatively socially mobile, had some measure of higher education, and were relatively more open to the modern farming approach, though not completely averse and dismissive of the traditions of the community. At least 80% in this demographic category voluntarily participated in some elements of the yearly yam festivals, besides some traditionally mandatory activities.

Over 50% of the interviewees believed a declining productivity occurred over the years. About 10% disagreed probably because their judgment may not be based on material outputs alone (the quantity of yam tubers produced). While the non-natives and the relatively young and mobile population advocated for the improvement in yam farming practices through the introduction of chemical and mechanical means, the natives and the relatively older generations never gave consideration to such changes. The fear that they may undermine their socio-cultural tradition may be responsible for such conservative attitudes. Differences in education and social exposure probably could explain such an attitudinal gap. Low population in Obudu implies less pressure on available agricultural land, and may less likely lend the needed impetus for a change in the direction of disrupting the cultural tradition.

Yam farming in Obudu has the relatively stable socio-cultural history. The question of how the mode of cultivation has shaped productivity is best answered from individual or cultural perspectives of what productivity entails. From the capitalist standpoint, productivity may be measured from the perspective of lineal progress and quantitative improvement in terms of financial profit and other forms of improvement in material outcomes, even at the expense of the ecosystem and social stabilization. While this sense may align well with the western capitalist norms of material prosperity, it may not necessarily be consistent with the African concept of prosperity and productivity in the holistic sense of unity of human and nature [26]. Productivity from the perspective of our study population embraces a range of ecological and socio-cultural aspects, as well as human well-being. The respondents placed their emphasis on and gave priority to the health and continuous functioning of the ecosystem. Inability to secure bumper yam harvest at a particular season will most likely force collective imaginations and reflections on what probably went wrong in the harmony and relationship of humans, nature and culture. Our findings demonstrate that most respondents rarely fix their thoughts and expectations on the quantity and tons of yam tubers at the expense of the overall health and integrity of the ecological system that makes sustainable production and human existence possible.

## 5. Conclusion

Our research had set out to qualitatively determine an impact of the socio-cultural tradition on yam farming in Nigeria by the example of the Obudu community, South-South region. We have observed that yam farming in Nigeria is nested in the socio-cultural tradition encapsulated in taboos, myths, customs, beliefs, libation, spirituality etc. We have also found out that ethnic and demographic groups with the strongest influence on

yam economy are the ‘natives’ and ‘older’ generations, who are still fixated on the values of the cultural tradition. This implies that in the coming years between 2023–2032, while natural ecological health of yam farms will be upheld through cultural production, there may be some level of decline in yam crop yield in most farms. The socially mobile and younger generation had 60% positive disposition towards adoption of modern yam production innovations; however this generation is still dominated by the ‘natives’ and ‘older’ generation groupings who are inclined to the cultural tradition of yam production.

When measuring in the quantitative, capitalist and western-based values, we have found out a decreasing productivity and performance in yield outputs, though not so significant. However, if productivity is to be measured outside the prism of the western capitalist standard, our findings have touched on a range of indices of what the respondents perceived as measures of productivity, which are rather more holistic and account for the harmony of ecological, socio-cultural and human interests.

We conclude that a more rigorous quantitative and long-term trend analysis should be conducted to assess the productivity performance trend associated with the natural ecological health and yam outputs for the study area. It is also important for studies to look beyond an improvement in material productivity. Other non-material indices of productivity should be explored.

## 6. Declarations Availability of Data and Material

Primary data was gathered from fieldwork using the qualitative methodology through interviews, public meetings, focus group discussions, local informants and keen observations. There was a review of literature, including secondary and grey literatures. Data was readily available and ethically collected to reveal views of respondents in two demographic categories (60 years and above and below 60 years) in order to understand generational differences and associated impact on yam farming.

## REFERENCES / БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- FAO. (2019). New UN report reveals that hunger in Africa continues to rise. Retrieved from <https://www.fao.org/news/story/en/item/1180443/icode/> Accessed: August 26, 2022
- FAO and ECA. (2018). Regional Overview of Food Security and Nutrition. Addressing the threat from climate variability and extremes for food security and nutrition. Retrieved from <https://www.fao.org/3/CA2710EN/ca2710en.pdf> Accessed: August 26, 2022
- FAO, IFAD, and WFP. (2014). The State of Food Insecurity in the World 2014. Strengthening the enabling environment for Food security and nutrition. Rome, FAO. <https://www.fao.org/3/i4030e/i4030e.pdf> Accessed: August 26, 2022.
- FAO, IFAD and WFP. (2015). The State of Food Insecurity in the World 2015. Meeting the 2015 international hunger targets: taking stock of uneven progress. Rome, FAO. Retrieved from <https://www.fao.org/3/i4646e/i4646e.pdf>. Accessed: August 26, 2022.
- Bjorlund, V., Bjorlund, H., Van Rooyen, A.F. (2020). Why agricultural production in sub-Saharan Africa remains low compared to the rest of the world — a historical perspective. *International Journal of Water Resources Development*, 36(Sup1), S20–S53. <https://doi.org/10.1080/07900627.2020.1739512>
- Chan, C.Y., Tran, N., Pethiyagoda, S., Crissman, C.C., Sulser, T.B., Phillips, M.J. (2019). Prospects and challenges of fish for food security in Africa. *Global Food Security*, 20, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2018.12.002>
- Hall, C., Dawson, T.P., Macdiarmid, J.I., Matthews, R. B. Smith, P. (2017). The impact of population growth and climate change on food security in Africa: looking ahead to 2050. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 15(2), 124–135. <https://doi.org/10.1080/14735903.2017.1293929>
- Kaasa, A. (2016). Culture, religion and productivity: Evidence from European regions. *Business and Economic Horizons*, 12(1), 11–28. <http://doi.org/10.15208/beh.2016.02>
- Gorodnichenko, Yu., Roland, G. (2010). Culture, institutions and the wealth of nations. NBER Working Paper Series, 16368. National Bureau of Economic Research. Retrieved from <https://econpapers.repec.org/paper/nbrnberwo/16368.htm>. Accessed: August 26, 2022.
- Islam, N. (2008). Determinants of productivity across countries: An exploratory analysis. *The Journal of Developing Areas*, 42(1), 201–242.
- Sverson, C. (2011). What determines productivity? *Journal of Economic Literature*, 49(2), 326–365. <http://doi.org/10.1257/jel.49.2.326>
- Obidiegwu, J. E., Akpabio, E. M. (2017). The geography of yam cultivation in southern Nigeria: Exploring its social meanings and cultural functions. *Journal of Ethnic Foods*, 4(1), 28–35. <http://doi.org/10.1016/j.jef.2017.02.004>.
- Akpabio, E. M. (2011). Water and people: Perception and management practices in Akwa Ibom State, Nigeria. *Society and Natural Resources*, 24(6), 584–596. <http://doi.org/10.1080/08941920903496945>
- Degras, L. (1993). The Yam: A Tropical Root Crop. Macmillan, London, 1993
- Asiedu, R. Sartie, A. (2010). Crops that feed the World 1. Yams. *Food Security*, 2, 305–315. <https://doi.org/10.1007/s12571-010-0085-0>
- Obidiegwu, J. E., Lyons, J. B., Chilaka, C. A. (2020). The *Dioscorea* Genus (Yam)-An appraisal of nutritional and therapeutic potentials. *Foods*, 9(9), Article 1304. <https://doi.org/10.3390/foods9091304>
- Alexander, J., Coursey, D.G. (1969). The origins of yam cultivation. Chapter in a book: The domestication and exploitation of plants and animals. Gerald Duckworth and Co. London, 1969.
- Coursey, D. G. (1976). The origins and domestication of yams in Africa. Chapter in a book: Origin of African Plant Domestication in Africa, Mouton, The Hague, 1976. <http://doi.org/10.1515/9783110806373.383>
- Scarcelli, N., Cubry, P., Akakpo, R., Thuillet, A.-C., Obidiegwu, J., Baco, M.N. et al. (2019). Yam genomics supports West Africa as a major cradle of crop domestication. *Science Advances*, 5(5), Article eaaw1947. <http://doi.org/10.1126/sciadv.aaw1947>
- Chukwu, G. O., Ikwelle, M.C. (2000). Yam: Threats to its sustainability in Nigeria. *NRCRI News, Umudike* 171, 1–7.
- Akpabio, E. M., Udom, E.S. (2018). “Borehole race” and the dilemma of governing the “ungoverned”: Understanding the urban political ecology of groundwater exploitation in Nigeria. *Society and Natural Resources*, 31(9), 1030–1044. <https://doi.org/10.1080/08941920.2018.1475586>
- National Bureau of Statistics (2010). Annual Abstract of Statistics 2010. Federal Republic of Nigeria. Retrieved from <http://www.nigerianstat.gov.ng/download/71>. Accessed: August 26, 2022
- Odey, C. O. (2019). Insecurity and Government Provision of Educational Services in Cross River State, Nigeria. *Journal of Social Science*, 2(1), 239–244. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3809359>
- Eko, E. E., Ekpenyong, E. O. (2020). The impact of religion, culture and world view of the people of Cross River State on the slow growth of Seventh-day (sda) Church mission in the State. *International Journal of African Society, Cultures and Traditions*, 8(1), 16–37.
- Akpabio, E. M. (2006). Notions of environment and environmental management in Akwa Ibom State, Southeastern Nigeria. *Environmentalist*, 26, 227–236. <https://doi.org/10.1007/s10669-006-8658-3>
- Akpabio, E. M., Subramanian, S. V. (2012). Water Supply and Sanitation Practices in Nigeria: Applying Local Ecological Knowledge to Understand Complexity. ZEF Working Paper Series 94. Department of Political and Cultural Change. Center for Development Research. University of Bonn, Germany, 2012.

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p><b>Eti-obong S. Ema</b>, PhD candidate, Research Assistant, Department of Geography and Natural Resources Management, University of Uyo P. O. Box 4223, Uyo, Akwa Ibom State, Nigeria Tel: +23-4803-225-23-87 E-mail: etiabasi20@gmail.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-9806-3258">http://orcid.org/0000-0002-9806-3258</a> * corresponding author</p> <p><b>Jude E. Obidegwu</b>, PhD, Dr, Assistant Director, National Root Crops Research Institute Umudike PMB7006 Umuahia, Abia State, Nigeria Tel: +23-4818-372-77-68 E-mail: ejikeobi@yahoo.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-8181-4799">http://orcid.org/0000-0002-8181-4799</a></p> <p><b>Emmanuel M. Akpabio</b>, Associate Professor, Lecturer, Department of Geography and Natural Resources Management, University of Uyo O. Box 4223, Uyo, Akwa Ibom State, Nigeria Tel: +23-4701-858-53-44 E-mail: emakpabio@yahoo.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6105-1782">http://orcid.org/0000-0001-6105-1782</a></p>	<p><b>Эти-обонг С. Эма</b> — PhD, ассистент исследователя, факультет географии и управления природными ресурсами, Университет Уйо Почтовый ящик 4223, Уйо, штат Аква Ибон, Нигерия Тел.: +23-4803-225-23-87 E-mail: etiabasi20@gmail.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-9806-3258">http://orcid.org/0000-0002-9806-3258</a> * автор для контактов</p> <p><b>Джуд Э. Обидегву</b> — PhD, Доктор, помощник директора, Национальный научно-исследовательский институт корнеплодов Умудике Прочтенный ящик 7006 Умуахия, штат Абия, Нигерия Тел.: +23-4818-372-77-68 E-mail: ejikeobi@yahoo.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-8181-4799">http://orcid.org/0000-0002-8181-4799</a></p> <p><b>Эммануэль М. Акпабио</b> — доцент, преподаватель, факультет географии и управления природными ресурсами, Университет Уйо Почтовый ящик 4223, Уйо, штат Аква Ибон, Нигерия Tel: +23-4701-858-53-44 E-mail: emakpabio@yahoo.com ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0001-6105-1782">http://orcid.org/0000-0001-6105-1782</a></p>
Contribution	Критерии авторства
<p>Eti-obong Ema primarily contributed at all stages of this work, which was supervised and edited by Dr. Emmanuel Akpabio, and Jude Ejikeme Obidegwu participated in the final edits and reviews</p>	<p>Эти-обонг Эма внесла основной вклад на всех этапах этой работы, которой руководил и редактировал рукопись доктор Эммануэль Акпабио, а Джуд Эджикеме Обидегву участвовал в окончательном редактировании и корректировке</p>
Conflict of interest	Конфликт интересов
<p>The authors declare no conflict of interest in this study. The authors also declare the funders had no part in the design of the study, nor in the collection, analyses, or interpretation of data. The writing of the manuscript and decision to publish the results rest solely on the authors.</p>	<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в данном исследовании. Авторы также заявляют, что спонсоры не принимали участия ни в разработке исследования, ни в сборе, анализе или интерпретации данных. Написание рукописи и решение о публикации результатов является исключительно результатом решения авторов.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-148-158>

Received 19.12.2022

Accepted in revised 11.04.2023

Accepted for publication 17.04.2023

© Samoylov A. V., Tsyanova T. B., Yakovlev E. A., Dudkina E. V., 2023

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

Original scientific article

Open access

## STUDY OF OLEOGEL BASED ON COMPONENTS *HELIANTHUS ANNUUS L.* AND *ROSMARINUS OFFICINALIS L.* AS FRYING OIL

Anatoly V. Samoylov<sup>1,\*</sup>, Tatiana B. Tsyanova<sup>2</sup>, Evgeny A. Yakovlev<sup>3</sup>, Elena V. Dudkina<sup>3</sup><sup>1</sup> JSC Aquanova RUS, Dubna, Moscow Region, Russia<sup>2</sup> Russian Biotechnology University, Moscow, Russia<sup>3</sup> LLC Group of Companies Rusagro, Tambov, Russia**KEY WORDS:**

*Helianthus annuus L.*,  
*Rosmarinus officinalis L.*,  
*frying oil*, *high oleic sunflower oil*,  
*oleogel*, *sunflower wax*,  
*rosemary extract*

**ABSTRACT**

The aim of this study was to study the oxidation resistance and functional properties of oleogels based on high oleic oil and wax from *Helianthus annuus L.* with the addition of a natural complex antioxidant – an extract from *Rosmarinus officinalis L.* and lecithin from *Helianthus annuus L.* – when used as a frying medium for French-fries. High oleic sunflower oil was structured into an oleogel with sunflower wax at a dosage of 5%. Studies were carried out to determine the possibility of replacing the synthetic antioxidant tert-butylhydroquinone at a dosage of 200 mg/kg with a natural antioxidant based on rosemary extract and sunflower lecithin in an oleogel with a defoamer. It was determined that the introduction of sunflower wax increased the induction period of high-oleic sunflower oil by 1.6 times, and the additional introduction of defoamer and antioxidants increased this figure by 1.8–2 times. The rate of accumulation of oxidation products in oil, which is characterized by the level of total polar materials, decreased when wax and antioxidants were added. The degree of thermal oxidation most quickly reached the limit value in oil without additives; in oleogels, it significantly decreased. The introduction of sunflower wax into oil contributed to a noticeable decrease in the absorption of oil by potatoes: fried in oleogel, it absorbed 34–38% less oil than fried in oil without additives. The addition of 0.07% rosemary extract with sunflower lecithin to the oleogel increased the operating time of frying oil by at least 2 times, approximately the same as that of the oleogel with tert-butylhydroquinone. This makes it possible to replace the synthetic antioxidant in deep-frying oleogel with natural rosemary extract with sunflower lecithin. The developed oleogel is a frying oil that has a longer service life and allows you to get fried products with a lower amount of fat.

Поступила 19.12.2022

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

Поступила после рецензирования 11.04.2023

Научная статья

Принята в печать 17.04.2023

Open access

© Самойлов А. В., Цыганова Т. Б., Яковлев Е. А., Дудкина Е. В., 2023

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОЛЕОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ КОМПОНЕНТОВ *HELIANTHUS ANNUUS L.* И *ROSMARINUS OFFICINALIS L.* В КАЧЕСТВЕ ФРИТЮРНОГО ЖИРА

Самойлов А. В.<sup>1,\*</sup> Цыганова Т. Б.<sup>2</sup>, Яковлев Е. А.<sup>3</sup>, Дудкина Е. В.<sup>3</sup><sup>1</sup> Акционерное общество «Акванова РУС», Дубна, Московская область, Россия<sup>2</sup> Российский биотехнологический университет, Москва, Россия<sup>3</sup> Группа компаний «Русагро», Тамбов, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

*Helianthus annuus L.*,  
*Rosmarinus officinalis L.*,  
*фритюрный жир*,  
*высокоолеиновое подсолнечное масло*, *олеогель*, *подсолнечный воск*, *экстракт розмарина*

**АННОТАЦИЯ**

Целью настоящего исследования являлось изучение устойчивости к окислению и функциональных свойств олеогелей на основе высокоолеинового масла и воска из *Helianthus annuus L.* с вводом натурального комплексного антиокислителя – экстракта из *Rosmarinus officinalis L.* и лецитина из *Helianthus annuus L.* – при использовании их в качестве жарочной среды для картофеля-фри. Высокоолеиновое подсолнечное масло было структурировано в олеогель подсолнечным воском в дозировке 5%. Проводили исследования по определению возможности замены синтетического антиокислителя трет-бутилгидроquinона в дозировке 200 мг/кг на натуральный антиокислитель на основе экстракта розмарина и подсолнечного лецитина в олеогеле с пеногасителем. Было определено, что внесение подсолнечного воска увеличило индукционный период высокоголиевого подсолнечного масла в 1.6 раза, а дополнительный ввод пеногасителя и антиокислителей увеличил данный показатель уже в 1.8–2 раза. Скорость накопления продуктов окисления в масле, характеризующаяся уровнем общих полярных веществ, при внесении воска и антиокислителей снижалась. Степень термического окисления быстрее всех достигла предельного значения в масле без добавок, в олеогелях она заметно снижалась. Введение в масло подсолнечного воска способствовало заметному снижению впитываемости масла картофелем: обжаренный в олеогеле, он впитывал на 34–38% меньше масла, чем обжаренный в масле без добавок. Внесение в олеогель 0.07% экстракта розмарина с подсолнечным лецитином увеличивало время эксплуатации фритюрного жира не менее чем в 2 раза,

FOR CITATION: Samoylov, A. V., Tsyanova, T. B., Yakovlev, E. A., Dudkina, E. V. (2023). Study of oleogel based on components *Helianthus annuus L.* and *Rosmarinus officinalis L.* as frying oil. *Food Systems*, 6(2), 148–158. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-148-158>ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Самойлов, А.В., Цыганова, Т.Б., Яковлев, Е.А., Дудкина, Е.В. (2023). Исследование олеогеля на основе компонентов *Helianthus annuus L.* и *Rosmarinus officinalis L.* в качестве фритюрного жира. *Пищевые системы*, 6(2), 148–158. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-148-158>

примерно также, как и у олеогеля с трет-бутилгидрохиноном. Это дает возможность произвести замену синтетического антиокислителя в олеогеле для фритюра на натуральный экстракт розмарина с подсолнечным лецитином. Разработанный олеогель является фритюрным жиром, имеющим более длительный срок эксплуатации и позволяющим получать обжаренные продукты с более низким количеством жира.

## 1. Introduction

Development of landmark technologies as solution to the issue of safety and quality of food is of immediate interest and contributes to the sixth wave of innovation in the agro-industrial complex [1]. For example, oleogels constitute a specific continuous form of organogels consisting of liquid at ambient temperature oils and fats – oil and fat products obtained in a new manner by oil modification (oleogel formation). Oleogel is a solid dispersed system, the dispersion medium of which is liquid edible oil, while the dispersed phase is represented by low- and high-molecular weight compounds forming a continuous homogeneous structure [2]. Compared to other classic ways of fat modification (hydrogenation, interesterification and fractionation), oleogel formation allows obtaining analogues of solid at ambient temperature fats – confectionary, baking, frying fats, margarine without or with reduced content of trans and saturated fatty acids. For the purpose of replacement of tropic oils, their fractions, hydrogenated fats and other fatty acids with high content of saturated and trans fats, oleogels were studied as frying fats. Oleogels were studied when deep frying potatoes [3–5], chicken [6], and in the technology of instant noodles [7–9]. Any liquid at ambient temperature oils and fats may be used as the base of oleogel, but the most oxidation-resistant due to reduced content of PUFAs appear the best choice for deep frying: high oleic sunflower oil, rape seed oil, soya bean oil and palm super olein. Being a domestic raw material, high oleic sunflower oil is of immediate interest.

Different organic substances were studied as gelling agents in oleogels [2]. Various waxes can be distinguished due to their market availability [4,7,13,14,18,19,23,28,29]. However, carnauba wax (E903) [6,8,9,16,17], bee wax (901) [5,10,12,15,21,27], candelilla wax (E 902) [21], and rice bran wax (E908) [25], used in such studies, have restrictions in the application and/or acceptable content in products. Sunflower wax was also studied in oleogels [3,11,16,17,21,22,24,26,27,30], though it is not a food additive (does not have E index), but is contained in traditional food items such as sunflower seeds, unrefined sunflower oil. As compared to the most waxes used, the sunflower wax almost does not contain any free fatty alcohol, acids, or hydrocarbons, and 95% of it is wax ester. Today, the use of sunflower wax in food is not restricted by Russian or international laws. However, of course appropriate hygienic studies are required to assess the risks of its use in food. Besides, the sunflower wax is a secondary product of treatment of the sunflower oil refinery waste, which makes it a cost effective domestic raw material to be used in the manufacturing of oleogels. According to the researchers, advantages of using waxes in oleogels include reduced oil absorption by the deep fried product [3–5,8].

Traditional antioxidants for frying oils are synthetic tert-butylhydroquinone (E 319), butylated hydroxyanisole (E320), butylated hydroxytoluene (E321), gallates (E310, E311, E312). Their content in frying oils is restricted by safety requirements CU TR029/2012<sup>1</sup>. The following natural organic compounds were studied as alternative to synthetic antioxidants in frying oils: tocopheranols (tocopherols, tocotrienols), phytosterols, phenolic acids and their esters (gallic, caffeic, rosmarinic, ferulic, gamma oryzanol), lignans (sesamin, sesamol, sesamolin, sesaminol,

sesamolinol), carotenoids (beta-carotene), terpenoids (squalene, carnosic acid, carnosol), phospholipids (phosphatidylcholine), polyphenols (catechins, gallates), flavonoids (quercetine), phenolamides (capsaicine), diarylheptanoids (curcumin) [31–34]. Among natural antioxidants, maximum antioxidant activity and thermal resistance was demonstrated by phenolic compounds contained in the extracts of the following plants: olive leaves, hazel leaves, oregano, thyme, grape seeds, rosemary, sage, green tea, green coffee, bamboo, coriander, etc. [32,34]. Presently, rosemary extracts prevail in the markets.

Phospholipids play a special role among natural antioxidants. Depending on the medium they can demonstrate pro- or antioxidant properties [35]. Prooxidant effect was observed in unrefined oil due to the surface activity of phospholipids, and in products with low humidity. At the same time, phospholipids together with tocopherols and flavonoids demonstrate a synergistic effect and enhance the antioxidant activity due to their regeneration [36–37]. The effect of phospholipids towards tocopherols is determined by a substituted aminogroup in their structure [38]. Due to lecithin availability in the market, incl. domestic sunflower lecithin, it is of interest as a synergist to the antioxidant for frying oils.

Based on the literature analysis and market demands, manufacturing of frying oils out of domestic raw materials with reduced content of saturated fats and clean label seems relevant for the food industry. However, the literature does not contain any data on such manufacturing.

The purpose of this article is to study the effect of rosemary plant extract and sunflower lecithin as compared to synthetic antioxidant tert-butylhydroquinone within oleogels based on high oleic sunflower oil and sunflower wax on the quality indicators in the deep frying technology.

The following tasks were to be solved to achieve the objective:

1. Obtaining of oleogel based on high oleic sunflower oil and sunflower wax.
2. Obtaining of a complex antioxidant based on rosemary extract and sunflower lecithin.
3. Study of the effect of rosemary extract, sunflower lecithin and sunflower wax on the properties of oleogel based on high oleic frying oil in the technology of French-fried potatoes.

It was suggested that rosemary extract and sunflower lecithin can replace the traditional synthetic antioxidant tert-butylhydroquinone in oleogel for frying without loss of its properties during the deep frying of potatoes. It was also supposed that the oil absorption by potatoes would be lower when frying them in oleogel based on high oleic sunflower oil due to sunflower wax.

## 2. Materials and methods

The following materials were used as study objects: refined and deodorised high oleic sunflower oil (HOSFO) (Rusagro Group, Russia); refined and deodorised sunflower oil (Laguna, Russia); refined and deodorised palm oil (Efko Group, Russia); sunflower wax (SFW) (Koster Keunen Holland B. V., Netherlands); sunflower lecithin (SFL) (Lasenor, Russia); rosemary extract (RE) (20% carnosol and carnosic acid) (Synthite, India), polydimethyl siloxane (PDMS) (Dew, USA), synthetic antioxidant Grindox 443 (30% tert-butylhydroquinone (TBHQ)) (DuPont, USA).

The following physicochemical and organoleptic methods of analysis were used in Aquanova RUS and Rusagro Group laboratories:

<sup>1</sup> CU TR 029/2012 Customs Union Technical Regulation "On safety requirements for food additives, flavouring agents and processing supplements", adopted by the Decree No. 5 of July 20, 2012 of the Council of the Eurasian Economic Commission. (In Russian)

- in oil: peroxide value (PV) — according to GOST ISO 3960–2020<sup>2</sup>, acid value (AV) — according to GOST 31933–2012<sup>3</sup>, total polar materials (TPM) by device FOM 320, thermal oxidation (TO) by spectrophotometric method, colour, taste and odour organoleptically — according to GOST R 54607.3–2014<sup>4</sup>, induction period (IP) by device Rancimat — according to GOST 31758–2012<sup>5</sup>, and by device Oxitest — according to GOST 34815–2021<sup>6</sup>, dynamic viscosity (DV) — by rheometer Haake Viscotester iQ equipped with Peltier temperature module, using the cylinder in cylinder measuring system CC25 DIN/Ti — 02200715, fatty acid content (FAC) — according to GOST 30418–96<sup>7</sup>, GOST 31663–2012<sup>8</sup>;
- in deep fried potatoes: fat weight ratio by gravimetric method with extraction using chloroform and spirit mix — according to GOST 8756.21–89<sup>9</sup>, colour, taste, odour and texture — according to GOST 33314–2015<sup>10</sup>.

The oleogel was obtained at the laboratory of Saratov Fat-Processing Plant (Rusagro Group) by mixing HOSFO heated to 85 °C with SFW in a dose of 1, 3 and 5% until its complete melt-down and further cooling in water bath with ice to 52–55 °C at a speed of 5–7 °C/min. while agitation in IKA RW 20 D at the rate of 700 rpm. Cooling to ambient temperature was performed in static condition. The cool samples were put into a fridge for 24 h. Oil binding capacity of the SFW in oleogels at ambient temperature, and organoleptic characteristics at consumer testing of French – fries were evaluated. Oil binding capacity of the SFW was evaluated as described below. One mL of melted oleogel was added to pre-weighed empty tubes and left for 2 days at ambient temperature for crystallisation completion. The tubes were centrifugated at 3000 rpm for 30 min. at ambient temperature. Then the tubes were turned upside down and left for a night on filter paper for drainage of separated oil. The tubes were weighed to calculate the quantity of the separated oil.

The complex antioxidant was obtained at Aquanova RUS laboratory by mixing RE with SFL in a dose of 5–10% and sunflower oil, so that the content of the extract's active substances in the mixture (carnosol and carnosic acid) was 6.75% (determined in the previous studies when antioxidants were obtained). The antioxidant activity of the complex antioxidant was evaluated by its dilution in melted palm oil in a dose of 0.07% (determined in the previous studies of the authors) and IP assessment in the samples of oil with antioxidant in Rancimat (sample weight: 4 g, temperature: 120 °C) [34].

The following samples of frying oil were made at Rusagro Group laboratory:

<sup>2</sup> GOST ISO 3960–2020 Animal and vegetable fats and oils. Determination of peroxide value. Iodometric (visual) endpoint determination. — M.: Standartinform, 2021. — 18 p. (In Russian)

<sup>3</sup> GOST 31933–2012 as amended by Amendment 1. Vegetable oils. Methods for determination of acid value. — M.: Standartinform, 2019. — 14 p. Amendment No. 1 was introduced by the database author in the text IUS No. 10, 2020. (In Russian)

<sup>4</sup> GOST R 54607.3–2014 Public catering services. Methods of laboratory quality control of products catering. Part 3. Methods of control of manufacturing processes of products of public catering. — M.: Standartinform, 2020. — 15 p. (In Russian)

<sup>5</sup> GOST 31758–2012 Animal and vegetable fats and oils. Determination of oxidative stability (accelerated oxidation test). — M.: Standartinform, 2019. — 16 p. (In Russian)

<sup>6</sup> GOST 34815–2021 Foods. Accelerated oxidation test using the oxidation test reactor. — M.: Standartinform, 2022. — 12 p. (In Russian)

<sup>7</sup> GOST 30418–96 Vegetable oils. Method for determination of fatty acid content. — Minsk: MGSSMS, 1996. — 116 p. (In Russian)

<sup>8</sup> GOST 31663–2012 Vegetable oils and animal fats. Determination of methyl esters of fatty acids by gas chromatography method. — M.: Standartinform, 2013. — 8 p. (In Russian)

<sup>9</sup> GOST 8756.21–89 Products of fruits and vegetables processing. Methods for determination of fat. — M.: Standartinform, 2010. — 68 p. (In Russian)

<sup>10</sup> GOST 33314–2015 Quick-frozen potatoes. General specifications. — M.: Standartinform, 2016. — 9 p. (In Russian)

1. Absolute control — HOSFO without additives;
2. Control — oleogel: HOSFO with SFW without other additives;
3. Oleogel + PDMS + TBHQ: oleogel with PDMS 0.001% and synthetic antioxidant Grindox 443 in a standard dose of 0.066% (200 mg/kg TBHQ according to CU TR 029/2012<sup>11</sup>);
4. Oleogel + PDMS + Rosemary extract AR 2506 0.05%: oleogel with PDMS 0.001% and complex antioxidant based on RE and SFL in optimum ratio (Rosemary Extract AR 2506) in a dose of 0.05%;
5. Oleogel + PDMS + Rosemary Extract AR 2506 0.07%: oleogel with PDMS 0.001% and complex antioxidant based on RE and SFL in optimum ratio (Rosemary Extract AR 2506) in a dose of 0.07%.

PDMS was used as a standard antifoamer for frying oils in the maximum allowable dose of 0.001% according to CU TR 029/2012<sup>11</sup>.

The effect of RE, SFL and SFW on the characteristics of HOSFO-based oleogel for frying oils in the technology of French-fried potatoes was studied at Aquanova RUS laboratory by deep frying of potatoes using 5 samples of frying oil presented by Rusagro Group. Potatoes pre-sliced into matchsticks of equal size were frozen at -18 °C, and then defrosted before frying. Potatoes were fried in a semi-professional deep fryer with the volume of 4 L with a metal basket. Frying parameters: required quantity of fresh frying oil: 3 kg, frying temperature: 170–175 °C, portion of potatoes: 100 g, frying time per portion: 8 min. Frying process: the oil was heated to 180 °C, 2 portions of potatoes were fried one after the other, then 2 h of idle heating, then again 2 portions of potatoes were fried, etc. up to the end of the work day (total 4 frying cycles at 10 a. m., 12 a. m., 2 p. m., 4 p. m.), after that the deep fryer was switched off and closed with the lid, the oil was not filtered. The next day the same oil was heated to 180 °C, and frying cycles were repeated. PV and IP were determined in the fresh oil using Oxitest (sample weight: 10 g, temperature: 90 °C). While frying, the following oil quality parameters were determined by taking samples (10 mL) from the deep fryer at the beginning of the test; AV, TO, taste, colour and odour were determined after the first and the last idle heating during a day. TPM were determined directly in the deep fryer at the beginning of the test and after the further 2 h idle heating. At the end of the workday, after the oil sample cooled down to the ambient temperature, the following parameters were additionally determined: IP using Rancimat (sample weight: 4 g, temperature: 120 °C), DV. Based on the results, the objective index of rejection of any frying oil according to organoleptic parameters obtained in the international study [39] was calculated — degradation level of frying oil DEGLEV:

$$\text{DEGLEV} = 117 - 8 \cdot \text{AV} - 3 \cdot \text{TPM} [\%]. \quad (1)$$

When this index fell below 50%, the frying oil had unacceptable organoleptic parameters restricting its further use, therefore frying was stopped.

The fresh sample and the sample of oil from each batch upon completion of frying were forwarded for FAC determination (to Rusagro Group laboratory). Mass content of oil in the samples of fried potatoes was determined at the beginning and at the end of frying.

The total time of use of the frying oil for a given batch was recorded when one of the target indicators of frying oil quality reached threshold values according to GOST R 54607.3–2014<sup>12</sup>: AV — over 0.6 mg KOH/g, TPM — over 20%, TO — over 1% or less than 2 points based on organoleptic parameters.

<sup>11</sup> CU TR 029/2012 Customs Union Technical Regulation "On safety requirements for food additives, flavouring agents and processing supplements", adopted by the Decree No. 5 of July 20, 2012 of the Council of the Eurasian Economic Commission. (In Russian)

<sup>12</sup> GOST R 54607.3–2014 Public catering services. Methods of laboratory quality control of products catering. Part 3. Methods of control of manufacturing processes of products of public catering. — M.: Standartinform, 2020. — 15 p. (In Russian)

Statistical processing of data was performed according to the standard methods of mathematical statistics using software Statistica 10.0. The confidence level was determined based on 3 parallel measurements according to Student's t-test. The difference between the average values was considered significant at confidential probability  $p \leq 0.05$ . The measurement results are given as average values  $\pm$  standard deviation ( $n=3$ ).

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Obtaining of oleogel based on HOSFO and SFW

Different doses of SFW (1, 3 and 5%) were used to determine the minimum content necessary for oleogel formation. Content of 1% resulted in a weak oleogel web, which ran down the inclined surface. Minimum quantity of SFW for oleogel formation: 3%. Oil binding capacity test was performed using 3% and 5% oleogels. Neither sample of oleogel demonstrated oil separation. Oleogels with 3% and 5% SFW content were used in 2 cycles of frying potatoes. When evaluating organoleptic parameters, all the testers noted less oily surface of potato matchsticks fried in the 5% oleogel, their taste seemed less oily, they were drier. The odour of ready products was similar.

Based on the results of this stage of study, it was determined, that 5% is optimum content of SFW in the HOSFO-based oleogel for deep frying.

#### 3.2. Obtaining of complex antioxidant based on RE and SFL

The results of IP determination in the antioxidants based on RE and SFL are given in Table 1.

Table 1. IP of complex antioxidants based on RE and SFL in palm oil

Таблица 1. Индукционный период комплексных антиокислителей на основе ЭР и ПЛ в пальмовом масле

Sample	IP, h (Rancimat, 120 °C)
Palm oil, control	17.50 $\pm$ 0.70
Palm oil + 0.07% RE	20.80* $\pm$ 0.83
Palm oil + 0.07% RE with 5% SFL	20.34* $\pm$ 0.81
Palm oil + 0.07% RE with 10% SFL	22.58 $\pm$ 0.90

The values marked with \* have no significant difference ( $p > 0.05$ )

Based on the results of this stage of study, it was determined that maximum antioxidant activity is demonstrated by RE with 10% SFL, obtained by Rosemary Extract AR 2506 (Aquanova RUS). Doses of Rosemary Extract AR 2506 in oleogels for the next stage of study: 0.07 and 0.05% (to evaluate the possibility of dose reduction).

#### 3.3. Results of study of RE, SFL and SFW impact

on the characteristics of HOSFO-based oleogel for deep frying in the technology of French-fried potatoes

PV in all the samples of frying oil was below 1 mEq of active oxygen per kg, which shows freshness and low oxidation of raw materials: HOSFO, SFW, SFL.

The results of study are given in the diagrams and charts, Figures 1–10.

Figure 1 shows that SFW added to HOSFO increases IP (Oxitest) of fresh frying oil by 1.6 times, adding of antioxidants increases this value by 1.8–2 times.

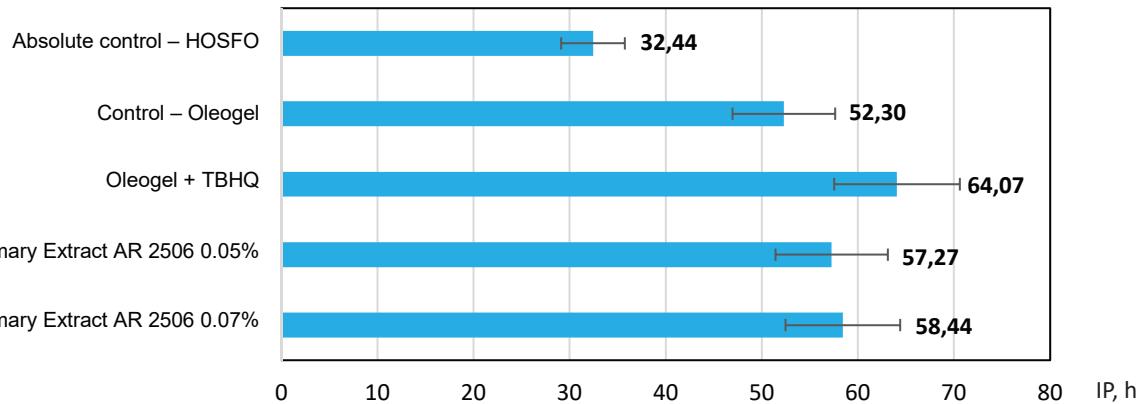


Figure 1. IP of fresh frying oil determined with Oxitest (at 90°C)

Рисунок 1. Индукционный период свежих фритюрных жиров на приборе Окситест (при 90 °C)

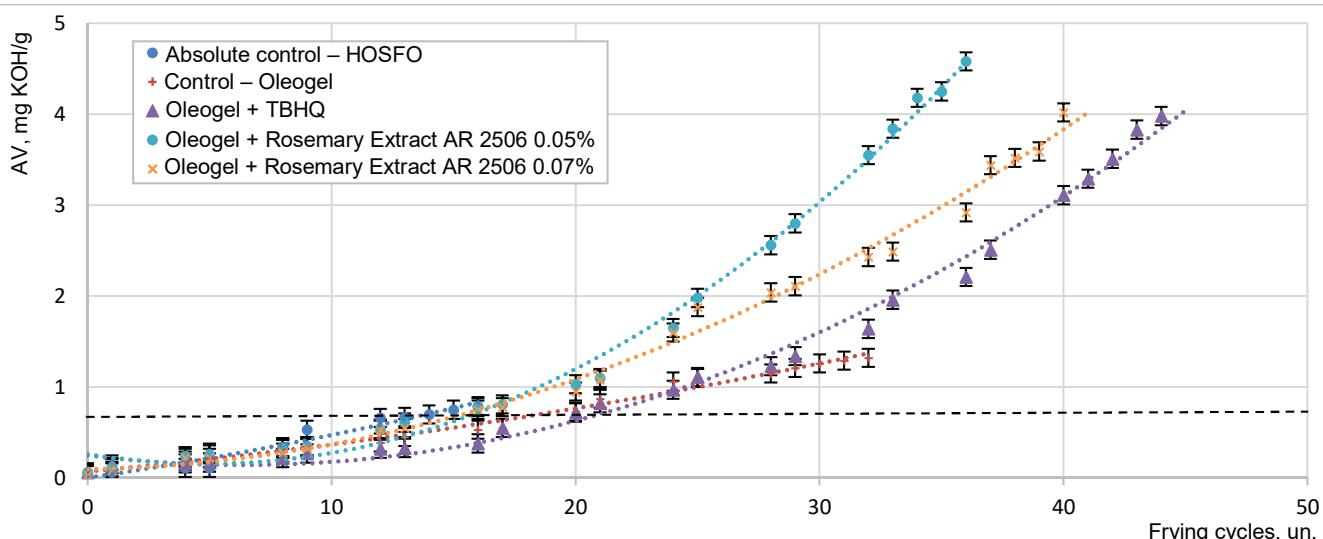
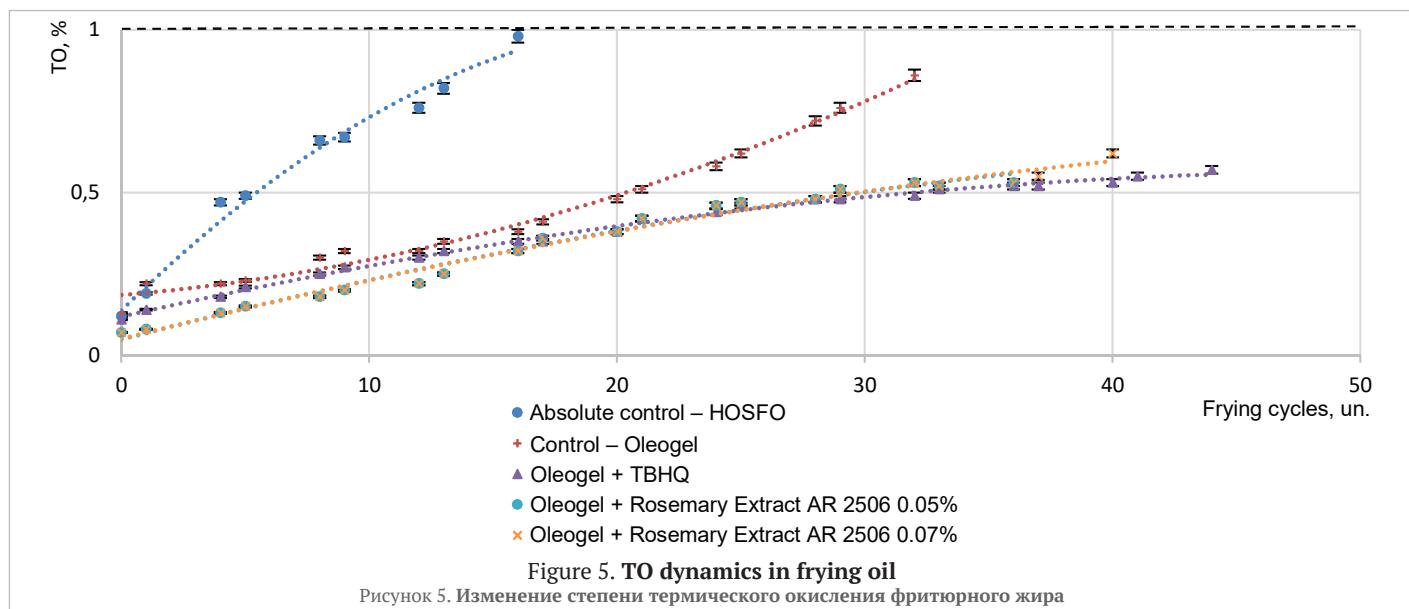
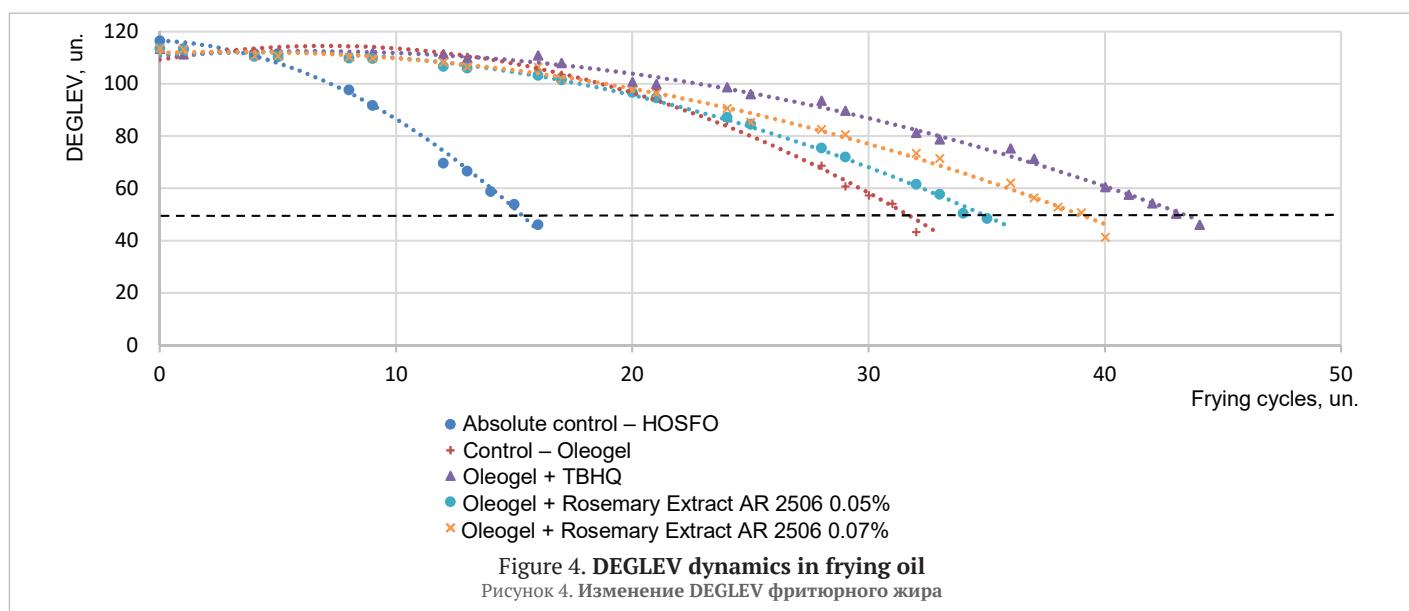
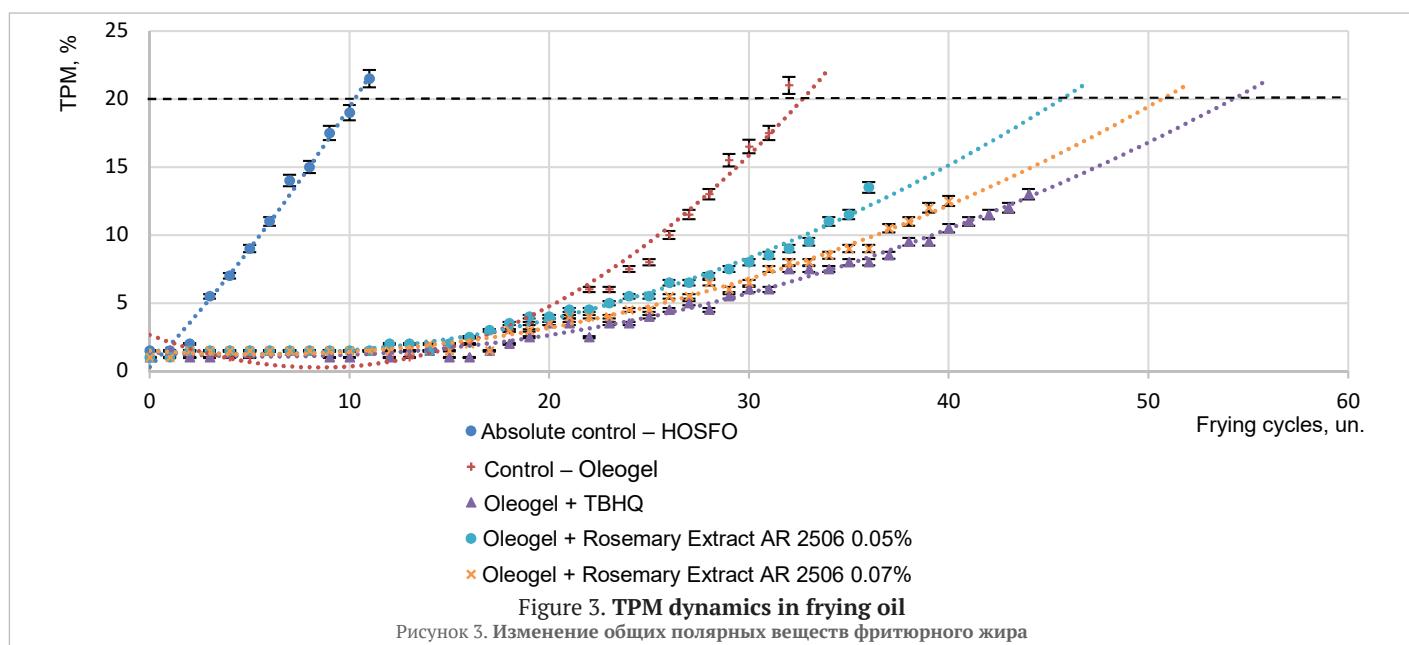


Figure 2. AV dynamics in frying oil

Рисунок 2. Изменение кислотного числа фритюрного жира



Based on Figure 4, the actual number of potatoes frying cycles is shown in Table 2.

Table 2. Actual number of potatoes frying cycles

Таблица 2. Фактическое количество проведённых жарок картофеля

Frying oil	Number of frying cycles, un.
Absolute control – HOSFO	16
Control – Oleogel	32
Oleogel + TBHQ	44
Oleogel + Rosemary Extract AR 2506 0.05%	36
Oleogel + Rosemary Extract AR 2506 0.07%	40

The actual number of frying cycles given in Table 2 was determined on the basis of reduction of the frying oil degradation level DEGLEV below 50%. According to the formula (1), DEGLEV depends on the AV and TPM, the data given in Figures 2–4 shows that maximum growth rate of AV and TPM, and, consequently, maximum falling rate of DEGLEV are recorded in absolute control – HOSFO. Accumulation rate of oxidation products, characterised by TPM level, is much lower in oleogel without antioxidants, than in absolute control due to added SFW, while antioxidants added to oleogel decreased the rate even more. TPM content in the absolute control – HOSFO – reached the threshold of 20% after 10 frying cycles, in the control – oleogel – only after 32 frying cycles, while in the samples with anti-

oxidants after 45–54 frying cycles depending on their type and dose (Figure 3). Analysis of the AV growth in Figure 2 shows, that the quickest achievement of the threshold of 0.6 mg KOH/g was observed in the absolute control – HOSFO (after 12 frying cycles), in the control (oleogel) and samples with antioxidants – after 14–19 frying cycles. As AV characterises the fat splitting, but not oxidation, there is no correlation between adding antioxidants and the value growth rate. As compared to AV, the TPM content dynamics shows that minimum rate of the value growth was observed in the oleogel sample with TBHQ, and the closest result was obtained in the sample with Rosemary Extract AR 2506 0.07%, which demonstrates the antioxidant activity of these antioxidants in frying oil and its longer period of use. TO accumulation rate (Figure 5) shows the same trend as TPM: the quickest achievement of the threshold of 1% was observed in the absolute control – HOSFO (after 19 frying cycles), in the control – oleogel – after – 36 frying cycles, while the rest 3 samples with antioxidants did not reach the threshold at all up to the end of the test.

Evaluation of changes in organoleptic parameters of frying oil, given in Figure 6, shows that their quickest fall to the threshold of 2 points was observed in the absolute control – HOSFO (after 14 frying cycles), samples in the order of reduction in the parameter falling ratio: Oleogel + TBHQ (after 27 frying cycles), Oleogel + Rosemary Extract AR 2506 0.05% (after 29 frying

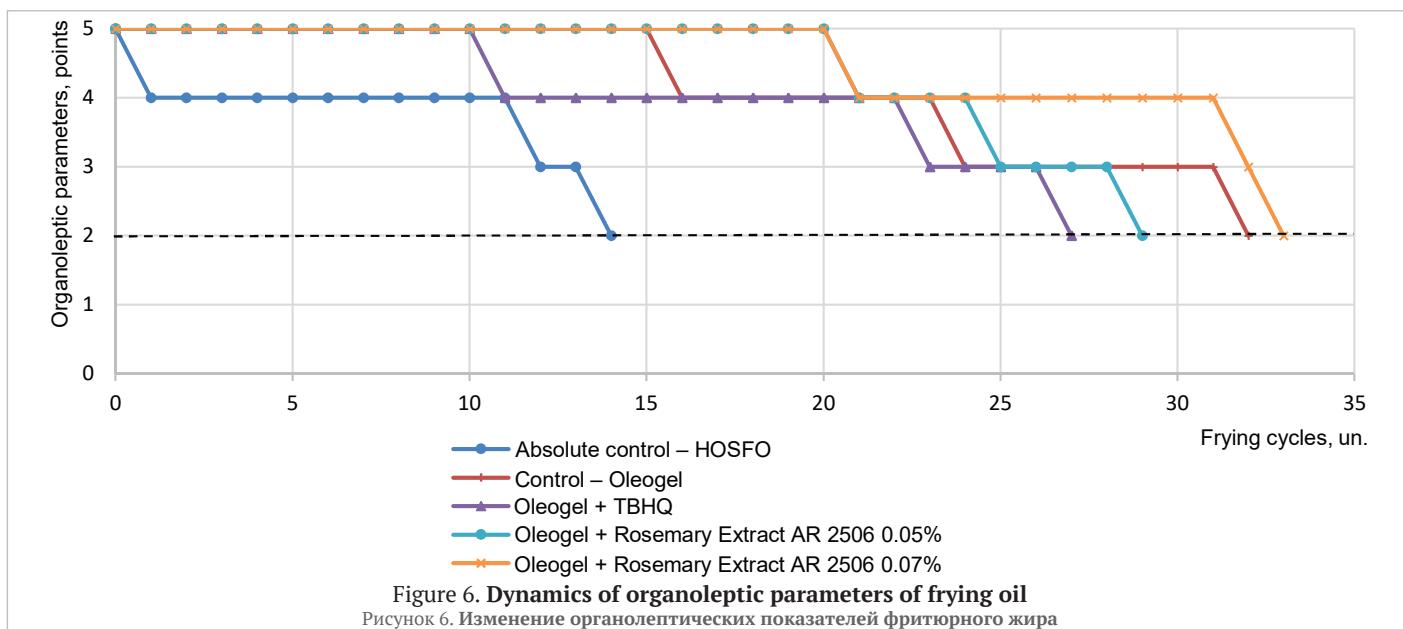


Figure 6. Dynamics of organoleptic parameters of frying oil

Рисунок 6. Изменение органолептических показателей фритюрного жира

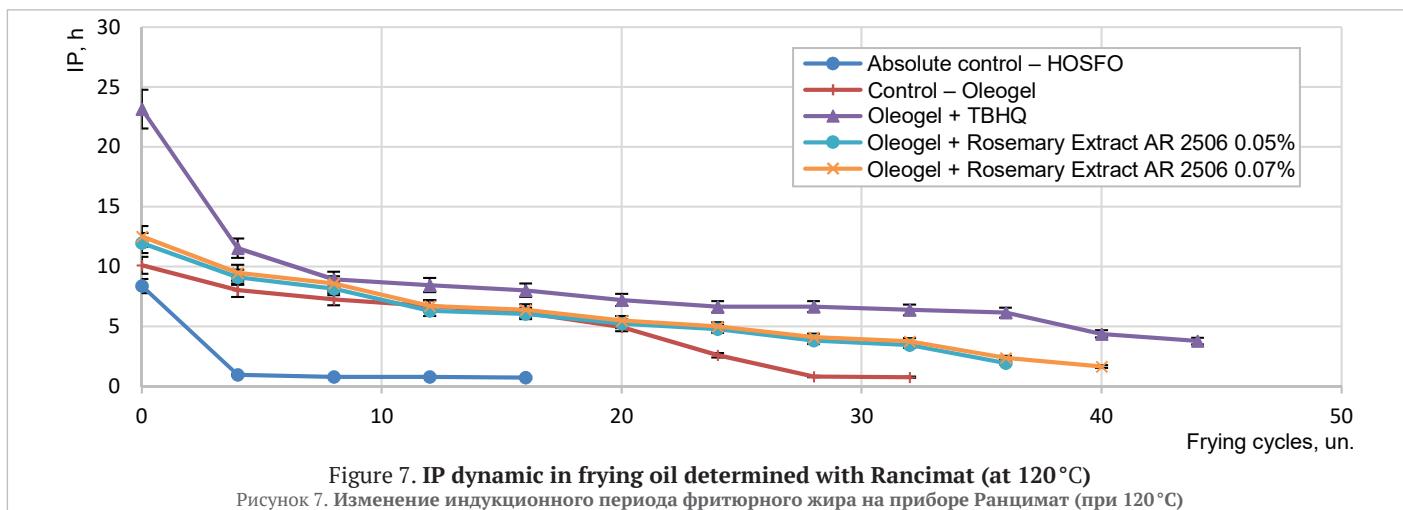


Figure 7. IP dynamic in frying oil determined with Rancimat (at 120°C)

Рисунок 7. Изменение индукционного периода фритюрного жира на приборе Ранцимат (при 120°C)

cycles), Control — Oleogel (after 32 frying cycles), Oleogel + Rosemary Extract AR 2506 0.07% (after 33 frying cycles). SFW added to HOSFO increased the period of use of the frying oil approximately by 2 times (control — oleogel — as compared to absolute control — HOSFO), which correlates to DELEV (Table 2, Figure 4) and confirms its objectivity for evaluation of the period of use of frying oils.

Based on physicochemical (AV, TPM, TO) and organoleptic parameters of frying fat, standardised under GOST R 54607.3–2014<sup>13</sup>, the quickest achievement of thresholds was observed in the absolute control — HOSFO, which demonstrates practicability of use of the studied additives for extension of the period of its use.

According to the previous studies of the authors, good correlation to the period of use of the frying oil is demonstrated by IP obtained using Oxitest at 90 °C [34]. It is confirmed by the current study, as IP of oleogels with all types of antioxidants increased the indicator by 1.8–2 times as compared to the absolute control — HOSFO, while the period of use increases similarly.

Added SFW reduced the falling ratio of frying oil IP (using Rancimat at 120 °C) (Figure 7). Maximum IP in fresh oils was observed in the sample of oleogel with TBHQ (23.15 h), other samples in descending order: Oleogel + Rosemary Extract AR 2506 0.05% (11.97 h) and 0.07% (12.52 h), Oleogel — Control (10.12 h), Absolute control — HOSFO (8.38 h). Such distribution correlates to IP obtained using Oxitest (Figure 1). The sharpest drop in IP after 4 frying cycles was observed in the absolute control — HOSFO, and in the sample with TBHQ. However, at the end of frying, maximum value was observed in the sample with TBHQ

<sup>13</sup> GOST R 54607.3–2014 Public catering services. Methods of laboratory quality control of products catering. Part 3. Methods of control of manufacturing processes of products of public catering. — M.: Standartinform, 2020. — 15 p. (In Russian)

(3.78 h after 44 frying cycles), minimum value — in the absolute control — HOSFO (0.73 h after 16 frying cycles). Positive effect of all types of antioxidants on the reduction of IP falling ratio is observed: Rosemary Extract AR 2506 and TBHQ cause softer fall in IP during frying as compared to the absolute and ordinary control. The data obtained by the authors in the previous study also demonstrates the possibility of replacement of synthetic TBHQ with rosemary extract in the frying oil with retention of its regulated parameters [34].

Statistically significant difference of IP, TPM and TO (Figures 1, 3, 5, 7) from the absolute control — HOSFO — was observed in the samples of all oleogels ( $p \leq 0.05$ ), while added antioxidants significantly improved TPM and TO in oleogels ( $p \leq 0.05$ ).

Added antioxidants reduced the frying oil DV growth rate during frying (statistically significant difference of DV after the last frying cycle as compared to the absolute control — HOSFO — was observed in all the samples with antioxidants,  $p \leq 0.05$ ) (Figure 8). Viscosity of oleogels with antioxidants at the end of frying increased by 17–21% depending on the oil sample and temperature of measurement, while viscosity in the absolute control — HOSFO — increased by 32–44%. This effect may be associated with the impact of waxes and antioxidants on the decrease in formation of polymer compounds in the frying oil.

Added antioxidants hampered degradation of the most exposed polyunsaturated fatty acids of the frying oil during frying. For example, the content of linoleic acid ( $C_{18:2}$ ) contained in the oil in the statistically significant amount (10.2–10.3%) decreased approximately by 18% in the samples of oil with antioxidants, while it decreased by 32–33% in oil without such additives (absolute control and control) (statistically significant difference in  $C_{18:2}$  content after the last frying cycle as compared to

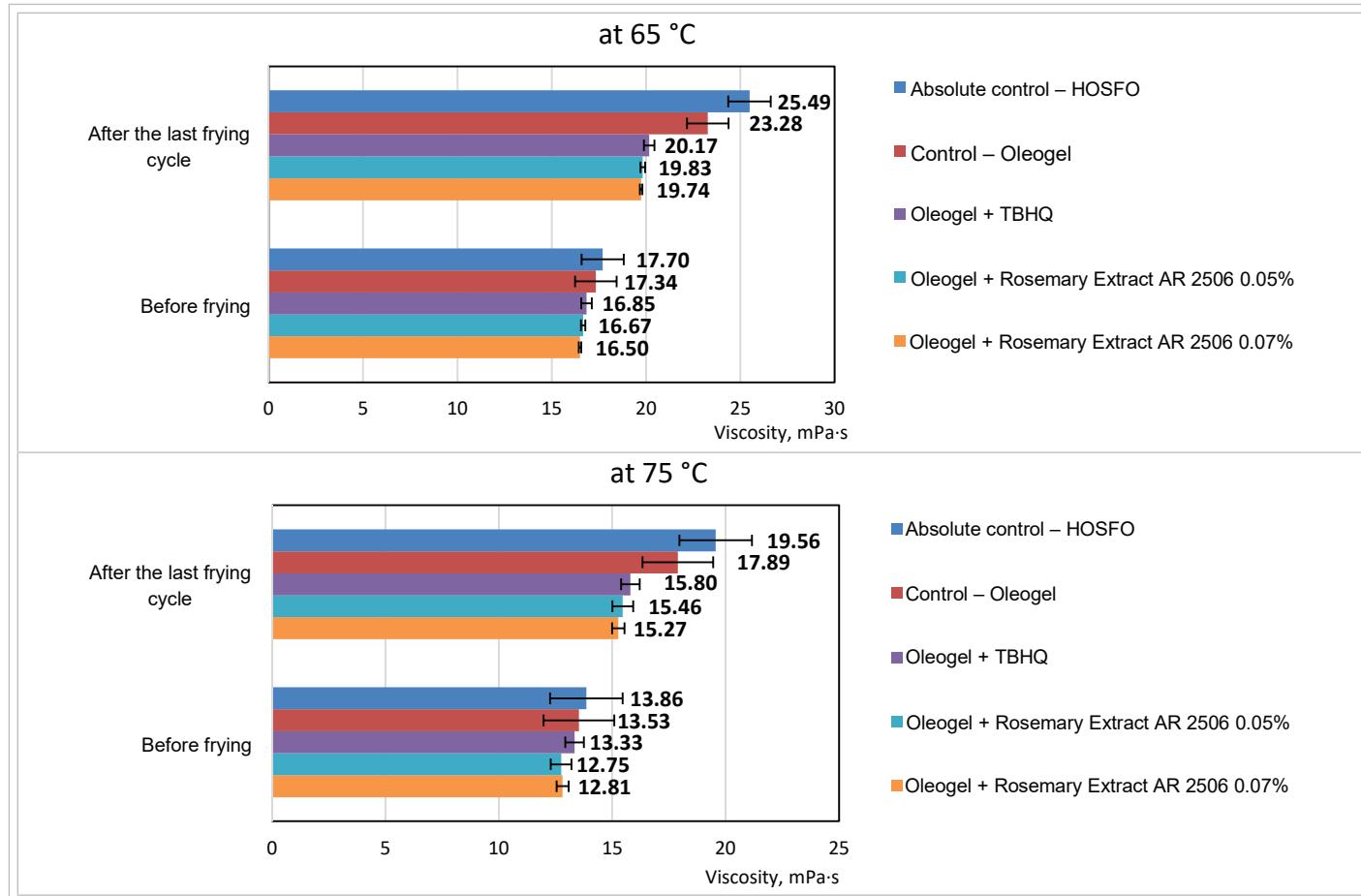


Figure 8. DV dynamics in frying oil  
Рисунок 8. Изменение динамической вязкости фритюрного жира

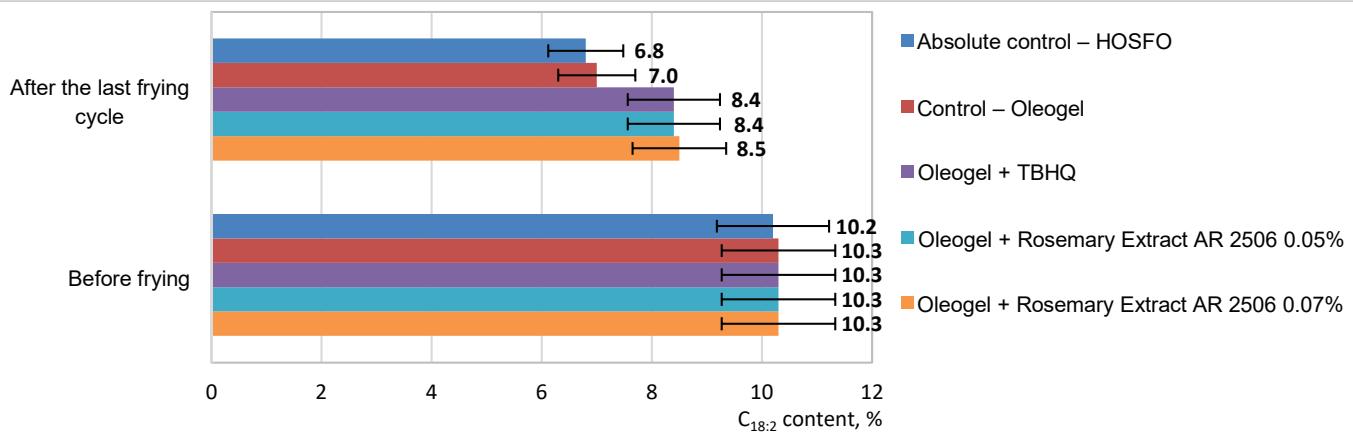


Figure 9. Change in the content of linoleic acid ( $C_{18:2}$ ) in frying oil  
Рисунок 9. Изменение содержания линолевой кислоты ( $C_{18:2}$ ) фритюрного жира

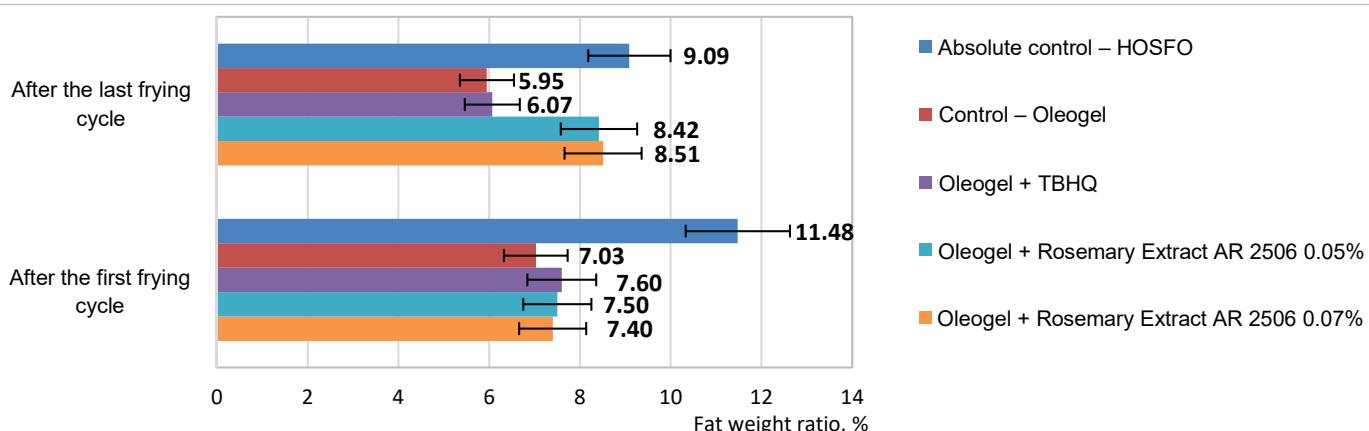


Figure 10. Change in the fat weight ratio in French-fries  
Рисунок 10. Изменение массовой доли жира в картофеле-фри

the absolute control – HOSFO – was observed in all the samples of oleogel,  $p \leq 0.05$ ) (Figure 9). There was no significant difference in the content of saturated (palmitic and stearic acids) and monounsaturated fatty acids (oleic acid) due to their high resistance to oxidation, and in the content of linoleic acid and trans fats due to their low concentration in the initial oil (up to 1%) between the oil samples during frying. Added waxes did not have a significant impact on the FAC dynamics in fresh oil and in the oil after frying.

Added SFW decreased absorption of oil by deep fried potatoes at the beginning of frying by 34–39% (statistically significant difference in fat weight ratio in deep fried potatoes after the last frying cycle as compared to the absolute control – HOSFO – was observed in all the samples of oleogel,  $p \leq 0.05$ ) (Figure 10). At the end of frying the trend remained. The potato samples fried in oleogels with added SFW contained less oil than those fried in the absolute control. The obtained data correlates to the data [3], where absorption of oil by deep fried potatoes fried in oleogel based on sunflower oil with 3–8% of bee wax decreased in average by 20%.

#### 4. Conclusion

As a result of the study, oleogel based on high oleic sunflower oil, antifoamer, components of *Rosmarinus officinalis L.* and *Helianthus annuus L.* (sunflower wax, sunflower lecithin and rosemary extract) was obtained. Positive effect of complex antioxidant based on rosemary extract and sunflower lecithin on the quality indicators of oleogels in the technology of French-fries was studied: lower growth in the degree of thermal oxidation, decrease in total polar substances and dynamic viscosity of frying oil during the use.

Added Rosemary Extract AR 2506 0.07% in oleogel increased the period of use of high oleic sunflower oil at least by 2 times, which is very close to the indicators of oleogel sample with tert-butylhydroquinone in a dose of 200 mg/kg. It means that the synthetic antioxidant in frying oil (oleogel) may be replaced with natural rosemary extract with sunflower lecithin. The idea of decreased absorption of oil by potatoes while frying in oleogel due to added sunflower wax was confirmed. Correlation between the period of use of oleogel-based frying oil until the thresholds of regulated quality indicators are reached and the induction period were found.

#### REFERENCES

- Panfilov, V.A., Belozerov, G.A., Andreev, S.P. (2022). Agrarian and food technologies as a stage of the agricultural and industrial complex dialectics. *Agrarian-and-Food Innovations*, 1(17), 7–16. <https://doi.org/10.51208/2618-7353-2022-17-7-16> (In Russian)
- Kochetkova, A. A., Sarkisyan, V. A., Kodentsova, V. M., Frolova, Yu. V., Sobolev, R. V. (2019). Food oleogels: Properties and prospects of use. *Food Industry*, 8, 30–35. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10132> (In Russian)
- Matthäus, B., Schubert, M., Erlenbusch, N., Smit, I., Weber, L., Nikolay, S. (2020). Oleogels as alternatives for frying fats oils. *Inform*, 31(7), 22–26.
- Lam, X. Y. (2020). *Stability of wax-based oleogel as novel frying medium of par-fried french fries*. Bachelor dissertation, Universiti Sains. Pulau Pinang, Malaysia.
- Guneser, B. A., Yilmaz, E., Uslu, E.K. (2021). Sunflower oil-beeswax oleogels are promising frying medium for potato strips. *European Jour-*

- nal of Lipid Science and Technology*, 123(10), Article 2100063. <http://doi.org/10.1002/ejlt.202100063>
6. Adrah, K., Adegoke, S.C., Tahergorabi, R. (2022). Physicochemical and microbial quality of coated raw and oleogel-fried chicken. *LWT*, 154, Article 112589. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112589>
  7. Puçaş, A., Mureşan, V., Socaciu, C., Muste, S. (2020). Oleogels in food: A review of current and potential applications. *Foods*, 9(1), Article 70. <http://doi.org/10.3390/foods9010070>
  8. Soo Yong, L., Jeong Taek, I. Oleogel with natrual vegetable wax, vegetable oil and fried noodle therefrom. Patent South Korea, no. KR101963783B1, 2019. (In Korean)
  9. Lim, J., Jeong, S., Oh, I.K., Lee, S. (2017). Evaluation of soybean oil-carnauba wax oleogels as an alternative to high saturated fat frying media for instant fried noodles. *LWT*, 84, 788–794. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.054>
  10. Frolova, Yu.V., Sobolev, R.V., Kochetkova, A.A. (2021). Comparative analysis of the properties of cookies containing oleogel based on beeswax and its fractions. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 941, Article 012033. <http://doi.org/10.1088/1755-1315/941/1/012033>
  11. Bharti, D., Kim, D., Cerqueira, M.A., Mohanty, B., Habibullah, S.K., Banerjee, I., et al. (2021). Effect of biodegradable hydrophilic and hydrophobic emulsifiers on the oleogels containing sunflower wax and sunflower oil. *Gels*, 7(3), Article 133. <https://doi.org/10.3390/gels7030133>
  12. Frolova, Yu., Sarkisyan, V., Sobolev, R., Makarenko, M., Semin M., Kochetkova, A. (2022). The influence of edible oils' composition on the properties of beeswax-based oleogels. *Gels*, 8(1), Article 48. <https://doi.org/10.3390/gels8010048>
  13. Park, C., Maleky, F. (2020). A critical review of the last 10 years of oleogels in food. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, Article 139. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00139>
  14. Singh, A., Auzanneau, F.-I., Rogers, M.A. (2017). Advances in edible oleogel technologies – A decade in review. *Food Research International*, 97, 307–317. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04>
  15. Sarkisyan, V., Sobolev, R., Frolova, Yu., Malinkin, A., Makarenko, M., Kochetkova, A. (2020). Beeswax fractions used as potential oil gelling agents. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98(3), 281–296. <https://doi.org/10.1002/aocs.12451>
  16. Öğütçü, M., Yilmaz, E. (2014). Characterization of hazelnut oil oleogels prepared with sunflower and carnauba waxes. *International Journal of Food Properties*, 18(8), 1741–1755. <https://dx.doi.org/10.1080/10942912.2014.9333>
  17. Yilmaz, E., Öğütçü, M. (2014). Comparative analysis of olive oil organogels containing beeswax and sunflower wax with breakfast margarine. *Journal of Food Science*, 79(9), E1732–E1738. <https://doi.org/10.1111/1750-5841.12561>
  18. Fayaz, G., Calligaris, S., Nicoli, M.C. (2019). Comparative study on the ability of different oleogelators to structure sunflower oil. *Food Biophysics*, 15, 42–49. <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09597-9>
  19. Martins, A.J., Vicente, A.A., Cunha, R.L., Cerqueira, M.A. (2018). Edible oleogels: an opportunity for fat replacement in foods. *Food and Function*, 9(2), 758–773. <https://doi.org/10.1039/c7fo01641g>
  20. Hwang, H.-S., Singh, M., Bakota, E.L., Winkler-Moser, J.K., Kim, S., Liu, S.X. (2013). Margarine from organogels of plant wax and soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(11), 1705–1712. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2315-z>
  21. Yilmaz, E., Öğütçü, M. (2015). Oleogels as spreadable fat and butter alternatives: sensory description and consumer perception. *RSC Advances*, 5, 50259–50267. <https://doi.org/10.1039/c5ra06689a>
  22. Yilmaz, E., Uslu, E.K., Öz, C. (2021). Oleogels of some plant waxes: Characterization and comparison with sunflower wax oleogel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98(6), 643–655. <https://doi.org/10.1002/aocs.12490>
  23. Winkler-Moser, J.K., Anderson, J., Felker, F.C., Hwang, H.-S. (2019). Physical properties of beeswax, sunflower wax, and candelilla wax mixtures and oleogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(10), 1125–1142. <https://doi.org/10.1002/aocs.12280>
  24. Sandoval, J. M., Carelli, A., Palla, C., Baümler, E. (2020). Preparation and characterization of oleogel emulsions: A comparative study between the use of recovered and commercial sunflower waxes as structuring agent. *Journal of Food Science*, 85(9), 2866–2878. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15361>
  25. Wolfer, T.L., Acevedo, N.C., Prusa, K.J., Sebranek, J.G., Tarté, R. (2018). Replacement of pork fat in frankfurter-type sausages by soybean oil oleogels structured with rice bran wax. *Meat Science*, 145, 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07>
  26. Holey, S.A., Sekhar, K.P.C., Mishra, S.S., Kanjilal, S., Nayak, R.R. (2020). Sunflower wax-based oleogel emulsions: Physicochemical characterizations and food application. *ACS Food Science and Technology*, 1(2), 152–164. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.0c0>
  27. Yilmaz, E., Öğütçü, M. (2015). The texture, sensory properties and stability of cookies prepared with wax oleogels. *Food and Function*, 6(4), 1194–1204. <https://doi.org/10.1039/c5fo00019j>
  28. Loh, W.H.-T., Liu, L., Lampert, D. S. Fat compositions containing waxes. Patent US, no. US6582748B1, 2003.
  29. Marangony, A., Kranis, N., Ghazani, S. Wax oleogels as fat substitutes. Patent World Intellectual Property Organization, no. WO2021046642A1, 2021.
  30. Nikolay, S., Erlenbusch, N., Schubert, M., Matthäus, B. (2022). Neuartige Fette – Rapsölbasierte Oleogele als neue innovative Fettphasen zur Optimierung des Fettsäureprofils von Feinen Backwaren und Alternative zu Palmfett. In: 55. Jahrestagung DGQ: Qualität 2030: Produktqualität in Zeiten des globalen Wandels; 22./23. März 2022, Universität Hohenheim (Online-Veranstaltung). Quedlinburg, Deutschland: Julius Kühn-Institut. Retrieved from [https://www.openagrар.de/receive/openagr\\_mods\\_00078591](https://www.openagrар.de/receive/openagr_mods_00078591). Accessed December 1, 2022
  31. Aladedunye, F., Przybylski, R., Matthäus, B. (2017). Performance of anti-oxidative compounds under frying conditions: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1539–1561. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.777686>
  32. Nikolaeva, Ju. V., Nechaev, A. P., Smirnov, D. A., Samoilov, A. V. (2017). Effect of natural antioxidants in micellized form on shelf life of fast food pasta. *Bakery of Russia*, 6, 18–21. (In Russian)
  33. Aladedunye, F.A. (2014). Natural antioxidants as stabilizers of frying oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(6), 688–706. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300267>
  34. Samoilov, A. V., Nikolaeva, Ju. V. (2021). Fat oxidation: ways to prevent and the role of antioxidants. Chapter in a book: Food ingredients in food: from science to technology. Moscow: Moscow State University of Food Production, 2021. (In Russian)
  35. Hudson, B.J.F., Lewis, J.I. (1983). Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Phospholipids as synergists. *Food Chemistry*, 10(2), 111–120. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(83\)90027-4](https://doi.org/10.1016/0308-8146(83)90027-4)
  36. Cui, L., Decker, E.A. (2016). Phospholipids in foods: prooxidants or antioxidants? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1), 18–31. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7320>
  37. Doert, M., Jaworska, K., Moersel, J.-T., Kroh, L. W. (2012). Synergistic effect of lecithins for tocopherols: lecithin-based regeneration of  $\alpha$ -tocopherol. *European Food Research and Technology*, 235(5), 915–928. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1815-7>
  38. Strojok, N.M., Tsimbal I. N. (29 September 29–2 October 2020). *Synergistic effects in the joint inhibitory action of the most important natural antioxidants with various phospholipids and enzymes*. Bioantioxidant, materials of the X International Conference dedicated to the 105th anniversary of the birth of Academician N. M. Emanuel. Moscow: RUDN, 2020.
  39. Gertz, C., Aladedunye, F., Matthäus, B. (2017). A new analytical and statistical approach to predict the sensory properties of deep frying fats and oils to determine the point of discard during processing. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(11), Article 1600393. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600393>

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Панфилов, В.А., Белозеров, Г.А., Андреев, С.П. (2022). Аграрно-пищевые технологии как этап дialectики АПК. *Аграрно-пищевые инновации*, 1(17), 7–16. <https://doi.org/10.31208/2618-7353-2022-17-7-16>
2. Кочеткова, А.А., Саркисян, В.А., Коденцова, В.М., Фролова, Ю.В., Соболев, Р.В. (2019). Пищевые олеогели: свойства и перспективы использования. *Пищевая промышленность*, 8, 30–35. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10132>
3. Matthäus, B., Schubert, M., Erlenbusch, N., Smit, I., Weber, L., Nikolay, S. (2020). Oleogels as alternatives for frying fats oils. *Inform*, 31(7), 22–26.
4. Lam, X. Y. (2020). *Stability of wax-based oleogel as novel frying medium of par-fried french fries*. Bachelor dissertation, Universiti Sains. Pulau Pinang, Malaysia.
5. Guneser, B. A., Yilmaz, E., Uslu, E.K. (2021). Sunflower oil-beeswax oleogels are promising frying medium for potato strips. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123(10), Article 2100063. <http://doi.org/10.1002/ejlt.202100063>
6. Adrah, K., Adegoke, S.C., Tahergorabi, R. (2022). Physicochemical and microbial quality of coated raw and oleogel-fried chicken. *LWT*, 154, Article 112589. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112589>
7. Puçaş, A., Mureşan, V., Socaciu, C., Muste, S. (2020). Oleogels in food: A review of current and potential applications. *Foods*, 9(1), Article 70. <http://doi.org/10.3390/foods9010070>
8. Soo Yong, L., Jeong Taek, I. Oleogel with natrual vegetable wax, vegetable oil and fried noodle therefrom. Patent South Korea, no. KR101963783B1, 2019. (In Korean)
9. Lim, J., Jeong, S., Oh, I.K., Lee, S. (2017). Evaluation of soybean oil-carnauba wax oleogels as an alternative to high saturated fat frying media for instant fried noodles. *LWT*, 84, 788–794. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.054>
10. Frolova, Yu.V., Sobolev, R.V., Kochetkova, A.A. (2021). Comparative analysis of the properties of cookies containing oleogel based on beeswax and its fractions. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 941, Article 012033. <http://doi.org/10.1088/1755-1315/941/1/012033>
11. Bharti, D., Kim, D., Cerqueira, M.A., Mohanty, B., Habibullah, S.K., Banerjee, I., et al. (2021). Effect of biodegradable hydrophilic and hydrophobic emulsifiers on the oleogels containing sunflower wax and sunflower oil. *Gels*, 7(3), Article 133. <https://doi.org/10.3390/gels7030133>
12. Frolova, Yu., Sarkisyan, V., Sobolev, R., Makarenko, M., Semin, M., Kochetkova, A. (2022). The influence of edible oils' composition on the properties of beeswax-based oleogels. *Gels*, 8(1), Article 48. <https://doi.org/10.3390/gels8010048>

- properties of beeswax-based oleogels. *Gels*, 8(1), Article 48. <https://doi.org/10.3390/gels8010048>
13. Park, C., Maleky, F. (2020). A critical review of the last 10 years of oleogels in food. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, Article 139. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00139>
  14. Singh, A., Auzanneau, F.-I., Rogers, M.A. (2017). Advances in edible oleogel technologies – A decade in review. *Food Research International*, 97, 307–317. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.307>
  15. Sarkisyan, V., Sobolev, R., Frolova, Yu., Malinkin, A., Makarenko, M., Kochetkova, A. (2020). Beeswax fractions used as potential oil gelling agents. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98(3), 281–296. <https://doi.org/10.1002/aocs.12451>
  16. Öğütçü, M., Yilmaz, E. (2014). Characterization of hazelnut oil oleogels prepared with sunflower and carnauba waxes. *International Journal of Food Properties*, 18(8), 1741–1755. <https://dx.doi.org/10.1080/10942912.2014.9333>
  17. Yilmaz, E., Öğütçü, M. (2014). Comparative analysis of olive oil organogels containing beeswax and sunflower wax with breakfast margarine. *Journal of Food Science*, 79(9), E1732–E1738. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12561>
  18. Fayaz, G., Calligaris, S., Nicoli, M.C. (2019). Comparative study on the ability of different oleogelators to structure sunflower oil. *Food Biophysics*, 15, 42–49. <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09597-9>
  19. Martins, A.J., Vicente, A.A., Cunha, R.L., Cerqueira, M.A. (2018). Edible oleogels: an opportunity for fat replacement in foods. *Food and Function*, 9(2), 758–773. <https://doi.org/10.1039/c7fo01641g>
  20. Hwang, H.-S., Singh, M., Bakota, E.L., Winkler-Moser, J.K., Kim, S., Liu, S.X. (2013). Margarine from organogels of plant wax and soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(11), 1705–1712. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2315-z>
  21. Yilmaz, E., Öğütçü, M. (2015). Oleogels as spreadable fat and butter alternatives: sensory description and consumer perception. *RSC Advances*, 5, 50259–50267. <https://doi.org/10.1039/c5ra06689a>
  22. Yilmaz, E., Uslu, E.K., Öz, C. (2021). Oleogels of some plant waxes: Characterization and comparison with sunflower wax oleogel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98(6), 643–655. <https://doi.org/10.1002/aocs.12490>
  23. Winkler-Moser, J.K., Anderson, J., Felker, F.C., Hwang, H.-S. (2019). Physical properties of beeswax, sunflower wax, and candelilla wax mixtures and oleogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(10), 1125–1142. <https://doi.org/10.1002/aocs.12280>
  24. Sandoval, J. M., Carelli, A., Palla, C., Baümler, E. (2020). Preparation and characterization of oleogel emulsions: A comparative study between the use of recovered and commercial sunflower waxes as structuring agent. *Journal of Food Science*, 85(9), 2866–2878. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15361>
  25. Wolfer, T.L., Acevedo, N.C., Prusa, K.J., Sebranek, J.G., Tarté, R. (2018). Replacement of pork fat in frankfurter-type sausages by soybean oil oleogels structured with rice bran wax. *Meat Science*, 145, 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.001>
  26. Holey, S.A., Sekhar, K.P.C., Mishra, S.S., Kanjilal, S., Nayak, R.R. (2020). Sunflower wax-based oleogel emulsions: Physicochemical characterizations and food application. *ACS Food Science and Technology*, 1(2), 152–164. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.0c00152>
  27. Yilmaz, E., Öğütçü, M. (2015). The texture, sensory properties and stability of cookies prepared with wax oleogels. *Food and Function*, 6(4), 1194–1204. <https://doi.org/10.1039/c5fo00019j>
  28. Loh, W.H.-T., Liu, L., Lampert, D. S. Fat compositions containing waxes. Patent US, no. US6582748B1, 2003.
  29. Marangony, A., Kranis, N., Ghazani, S. Wax oleogels as fat substitutes. Patent World Intellectual Property Organization, no. WO2021046642A1, 2021.
  30. Nikolay, S., Erlenbusch, N., Schubert, M., Matthäus, B. (2022). Neuartige Fette – Rapsölbasierte Oleogele als neue innovative Fettphasen zur Optimierung des Fettsäureprofils von Feinen Backwaren und Alternativen zu Palmfett. In: 55. Jahrestagung DGQ: Qualität 2030: Produktqualität in Zeiten des globalen Wandels; 22./23. März 2022, Universität Hohenheim (Online-Veranstaltung). Quedlinburg, Deutschland: Julius Kühn-Institut. Retrieved from [https://www.openagrар.de/receive/openagrар\\_mods\\_00078591](https://www.openagrар.de/receive/openagrар_mods_00078591). Accessed December 1, 2022
  31. Aladedunye, F., Przybylski, R., Matthäus, B. (2017). Performance of anti-oxidative compounds under frying conditions: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1539–1561. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.777686>
  32. Николаева, Ю.В., Нечаев, А.П., Смирнов, Д.А., Самойлов, А.В. (2017). Влияние натуральных антиоксидантов в мицеллированной форме на сроки годности макаронных изделий быстрого приготовления. *Хлебопечениe России*, 6, 18–21.
  33. Aladedunye, F.A. (2014). Natural antioxidants as stabilizers of frying oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(6), 688–706. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300267>
  34. Самойлов, А.В., Николаева, Ю.В. (2021). Окисление жиров: пути предотвращения и роль антиоксидантов. В книге: Пищевые ингредиенты в продуктах питания: от науки к технологиям. Под ред. В. А. Тутельяна, А. П. Нечаева, М. Г. Балыхина, Москва: МГУПП, 2021.
  35. Hudson, B.J.F., Lewis, J.I. (1983). Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Phospholipids as synergists. *Food Chemistry*, 10(2), 111–120. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(83\)90027-4](https://doi.org/10.1016/0308-8146(83)90027-4)
  36. Cui, L., Decker, E.A. (2016). Phospholipids in foods: prooxidants or antioxidants? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1), 18–31. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7320>
  37. Doert, M., Jaworska, K., Moersel, J.-T., Kroh, L. W. (2012). Synergistic effect of lecithins for tocopherols: lecithin-based regeneration of  $\alpha$ -tocopherol. *European Food Research and Technology*, 235(5), 915–928. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1815-7>
  38. Сторожок, Н.М., Цимбал, И.Н. (29 сентября– 2 октября, 2020). Эффекты синергизма в совместном ингибирующем действии важнейших природных антиоксидантов с различными фосфолипидами и энзимами. Биоантоксидант, материалы X Международной конференции, посвященной 105-летию со дня рождения академика Н. М. Эмануэля. Москва: РУДН, 2020
  39. Gertz, C., Aladedunye, F., Matthäus, B. (2017). A new analytical and statistical approach to predict the sensory properties of deep frying fats and oils to determine the point of discard during processing. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(11), Article 1600393. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600393>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<b>Anatoly V. Samoylov</b> , Candidate of Technical Sciences, Senior Research Scientist, Department of Research and Innovation, JSC Aquanova RUS 12, Prospect of Science, Dubna, 141983, Moscow region, Russia Tel.: +7-916-308-41-94 E-mail: a.samoylov@kima-ltd.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-6007-6811">https://orcid.org/0000-0002-6007-6811</a> * corresponding author	<b>Самойлов Анатолий Владимирович</b> — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, Департамент исследований и инноваций, Акционерное общество «Акванова РУС» 141983, Московская область, Дубна, проспект Науки, 12 Тел.: +7-916-308-41-94 E-mail: a.samoylov@kima-ltd.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-6007-6811">https://orcid.org/0000-0002-6007-6811</a> * автор для контактов
<b>Tatiana B. Tsyganova</b> , Doctor of Technical Sciences, Professor, Professor, Department of the Food Industry, Hotel Business and Service, Russian Biotechnology University 11, Volokolamskoe shosse, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-910-443-99-53 E-mail: ztatianaz@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1659-9786">https://orcid.org/0000-0003-1659-9786</a>	<b>Цыганова Татьяна Борисовна</b> — доктор технических наук, профессор, профессор, Кафедра индустрии питания, гостиничного бизнеса и сервиса, Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-910-443-99-53 E-mail: ztatianaz@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1659-9786">https://orcid.org/0000-0003-1659-9786</a>
<b>Evgeny A. Yakovlev</b> , Candidate of Technical Sciences, Innovations Director, LLC Group of Companies Rusagro 20B, Studenetskaya Embankment, 392000, Tambov, Russia Tel.: +7-962-325-78-30 E-mail: yakovlevea@rusagromaslo.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9745-3297">https://orcid.org/0000-0002-9745-3297</a>	<b>Яковлев Евгений Алексеевич</b> — кандидат технических наук, Руководитель, Дирекция по инновациям, Группа Компаний «Русагро» 392000, Тамбов, Студенецкая Набережная, 20B Тел.: +7-962-325-78-30 E-mail: yakovlevea@rusagromaslo.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9745-3297">https://orcid.org/0000-0002-9745-3297</a>
<b>Elena V. Dudkina</b> , Innovations Project Manager, Department Innovative Projects, LLC Group of Companies Rusagro 20B, Studenetskaya Embankment, 392000, Tambov, Russia Tel.: +7-952-108-26-77 E-mail: ev.dudkina@rusagrogroup.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-6950-5734">https://orcid.org/0000-0001-6950-5734</a>	<b>Дудкина Елена Витальевна</b> — Руководитель инновационных проектов, Управление инновационных проектов, Группа Компаний «Русагро» 392000, Тамбов, Студенецкая Набережная, 20B Тел.: +7-952-108-26-77 E-mail: ev.dudkina@rusagrogroup.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-6950-5734">https://orcid.org/0000-0001-6950-5734</a>
Contribution	Критерии авторства
Authors are 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/10.21323/2618-9771-2023-6-2-159-170>

Поступила 28.03.2023

Поступила после рецензирования 15.05.2023

Принята в печать 19.05.2023

© Дегтярев И. А., Фоменко И. А., Мижева А. А., Серба Е. М., Машенцева Н. Г., 2023

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

Обзорная статья

Open access

# БЕЛКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ РАПСА: ОБЗОР СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ И ПЕРСПЕКТИВ РАЗВИТИЯ СУЩЕСТВУЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Дегтярев И. А.<sup>1\*</sup>, Фоменко И. А.<sup>1</sup>, Мижева А. А.<sup>1</sup>, Серба Е. М.<sup>2</sup>, Машенцева Н. Г.<sup>1</sup><sup>1</sup> Российский биотехнологический университет, Москва, Россия<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

изолят белка, белковый концентрат, жмых рапса, аминокислотный состав, рапсовый шрот

**АННОТАЦИЯ**

Спрос на белковые продукты увеличивается за счет роста населения планеты. В качестве альтернативы традиционным источникам белка все большую популярность приобретают отходы переработки растительного сырья. Важное место в мировой экономике занимают масличные культуры, в частности рапс, объемы производства которого на территории Российской Федерации с каждым годом возрастают. Семена рапса (лат. *Brassicaceae napus*) представляют большой интерес за счет их высокой масличности (39,80–46,00%) и богатого жирнокислотного состава, а жмых и шрот, образующиеся в процессе получения масла, характеризуются значительным содержанием сырого протеина (35,00–45,00%) и сырой клетчатки (8,20–17,50%). Однако перечисленные продукты используются в основном в качестве кормовой добавки. Последние исследования, посвященные переработке отходов рапса, указывают на ценность данного сырья в качестве источника пищевого белка, который имеет сбалансированный аминокислотный профиль и высокую степень усвоемости — до 85%. Для получения белка предусматривают обработку рапсового семени: очистку, измельчение, холодное прессование при температуре ≤ 40 °C, экстракцию жира растворителем. На следующих этапах осуществляют экстракцию белка 0,1–0,5 М NaCl при pH 5,3–12,0 и температуре 5–30 °C в течение 1 ч. Экстрагированный белок осаждают в изоэлектрической точке при значении pH 4,0 с помощью HCl, отделяют от смеси и нейтрализуют. В результате получают белковый изолят с содержанием белка 90,0–98,7%. Увеличить качество и выход белкового продукта можно за счет дополнительной стадии обработки обезжиренного жмыха целлюлолитическими ферментными препаратами. В данном случае необходимо проведение дополнительных исследований, связанных с определением субстратной специфичности коммерческих ферментных препаратов целлюлаз и оптимальных условий гидролиза. Параметры экстракции и осаждения белка в случае использования стадии ферментолиза также должны быть уточнены.

Received 28.03.2023

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

Accepted in revised 15.05.2023

Review article

Accepted for publication 19.05.2023

Open access

© Degtyarev I. A., Fomenko I. A., Mizheva A. A., Serba E. M., Mashentseva N. G., 2023

# PROTEIN PREPARATIONS FROM RAPESEED PROCESSING WASTE: A REVIEW OF THE CURRENT STATUS AND DEVELOPMENT PROSPECTS OF EXISTING TECHNOLOGIES

Ivan A. Degtyarev<sup>1,\*</sup>, Ivan A. Fomenko<sup>1</sup>, Aislu A. Mizheva<sup>1</sup>, Elena M. Serba<sup>2</sup>, Natalya G. Mashentseva<sup>1</sup><sup>1</sup> Russian Biotechnological University, Moscow, Russia<sup>2</sup> Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia**KEY WORDS:**

protein isolate, protein concentrate, rapeseed cake, amino acid composition, rapeseed meal

**ABSTRACT**

The demand for protein products is increasing due to the demographic growth of the world's population. As an alternative to traditional sources of protein, waste from plant raw material processing is becoming increasingly popular. An important place in the global economy is occupied by oilseeds, in particular rapeseed, which production volumes are increasing in the Russian Federation every year. Rapeseed (*Brassicaceae napus*) is of great interest due to its high oil content (39.80–46.00%) and rich fatty acid composition, while cake and meal formed in the process of oil production are characterized by a significant content of crude protein (35.00–45.00%) and crude fiber (8.20–17.50%); however, they are used mainly as a feed additive. Recent studies on the processing of rapeseed waste indicate the value of this raw material as a source of dietary protein, which has a balanced amino acid profile and a high degree of digestibility (up to 85%). To obtain protein, rapeseed processing is envisaged:

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Дегтярев, И. А., Фоменко, И. А., Мижева, А. А., Серба, Е. М., Машенцева, Н. Г. (2023). Белковые препараты из отходов переработки рапса: обзор современного состояния и перспектив развития существующих технологий. Пищевые системы, 6(2), 159–170. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-159-170>

FOR CITATION: Degtyarev, I. A., Fomenko, I. A., Mizheva, A. A., Serba, E. M., Mashentseva, N. G. (2023). Protein preparations from rapeseed processing waste: A review of the current status and development prospects of existing technologies. Food Systems, 6(2), 159–170. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-159-170>

cleaning, grinding, cold pressing at a temperature of  $\leq 40^{\circ}\text{C}$ , fat extraction with a solvent. At the next stages, the protein is extracted with 0.1–0.5 M NaCl at pH 5.3–12.0 and a temperature of 5–30°C for 1 hour. The extracted protein is precipitated at the isoelectric point (pH 4.0) with HCl, separated from the mixture and neutralized. The result is a protein isolate with a protein content of 90.0–98.7%. It is possible to increase the quality and yield of the protein product due to the additional stage of processing the defatted cake with cellulolytic enzyme preparations. In this case, additional studies are required to determine the substrate specificity of commercial cellulase enzyme preparations and the optimal hydrolysis conditions. The parameters of extraction and precipitation of the protein in the case of using the stage of enzymatic lysis should also be specified.

## 1. Введение

Население планеты достигло к 2023 г. 8 млрд человек, при этом все больше обостряется глобальная проблема дефицита полноценного белка в питании человека [1,2]. Food and Agriculture Organization (FAO) прогнозирует дефицит белка 30 млн т/год к 2050 г. [3], ожидается удвоение спроса на животный белок [4]. В России в большинстве регионов население страдает от дефицита белка: среднее потребление в сутки составляет меньше рекомендуемой нормы [5]. В этой связи важнейшей задачей является поиск новых «немясных» альтернатив протеина.

Развитие производства белковых препаратов на основе растительного сырья способствует частичному решению проблемы дефицита белка, а также снижению количества малоиспользуемых отходов [6,7]. В настоящее время многие производители расширяют ассортимент альтернативной белковой продукции, при этом отмечается положительная динамика спроса на нее [8,9]. Мировой рынок искусственно-го мяса ежегодно увеличивается на 8,1% [10], основными лидерами являются компании Beyond Meat и Impossible Foods [11], в России выпуском «немясных» альтернатив занимаются компании Welldone, HI! бренд ГК «Эфко», Greenwise, «Наро-Фоминский мясокомбинат», «ОКПИ» и «Уралхим», при этом их продукция встречается во всех крупных торговых сетях и сервисах доставки еды [12].

Среди масличных культур большую популярность приобретает рапс. Рапсовое масло находит широкое применение в различных отраслях промышленности, а сбалансированный аминокислотный состав белков позволяет использовать его в качестве пищевой добавки. По данным FAO, в мире ежегодно теряется треть произведенных продуктов питания — число потерь достигает 1,3 млрд т, 20% которых приходится на масличные культуры [13].

## 2. Обзор рапсового земледелия

Наиболее распространенными масличными культурами являются соя, рапс и подсолнечник: на их долю приходится 23% обрабатываемых земель в мире [14]. Основными производителями рапса являются страны Европы, Канада, Россия, Китай, Индия и Пакистан; сои — США, Бразилия и Аргентина; подсолнечника — Россия, Украина, Аргентина, США, Китай, Индия и Турция [13]. В Таблице 1 представлена статистика урожая основных масличных культур в мире с 2018 по 2022 гг.

Таблица 1. Урожай основных растительных культур с 2018 по 2022 гг. [15]

Table 1. Yield of the main crops from 2018 to 2022 [15]

Наименование культуры	Объем урожая, т/год			
	2018/2019	2019/2020	2020/2021	2021/2022
Соя	362,66	340,00	368,00	355,00
Рапс	73,00	69,00	73,00	74,00
Подсолнечник	50,66	54,16	49,20	57,32
Арахис	49,62	48,17	50,26	50,38
Пальмовые ядра	19,46	19,33	19,05	19,87
Хлопок	43,08	43,63	41,00	41,73
Копра (мякоть ореха кокосовой пальмы)	5,82	5,70	5,59	5,86

С 2018 по 2022 гг. количество собранного урожая масличных культур практически не менялось, что связано с пандемией COVID-19. В целом урожай сои уменьшился на 2,15%, хлопка — на 3,13%, сбор рапса, арахиса, пальмового ядра и копры увеличился менее чем на 2,0%, а сбор подсолнечника — на 13,14%. Однако за более длительный период (1975–2019 гг.) отмечается повышение доли рапса с 6 до 12%, сои — с 48 до 62% и подсолнечника — с 7 до 10% [16].

В России в 2021 г. зафиксирован рекордный урожай рапса: было собрано 2,79 млн т, что на 8,1% больше, чем в 2020 г. [17]. Наибольшей популярностью пользуются яровые сорта рапса, посевная площадь которых составляет от 65 до 90% [18]. Основными регионами, возделывающими рапс, являются Красноярский край (11,1%), Алтайский край (9,8%), Кемеровская область (6,7%), Новосибирская область (6,2%) и Брянская область (6,0%) [19].

В среднем в России урожайность рапса составляет 20,5 ц/га при максимальном количестве 40 ц/га [21]. В зонах с умеренно-климатическими условиями возделывают озимые сорта с урожайностью 33,5–38,1 ц/га, в Центрально-Черноземной зоне выращивают яровые сорта с урожайностью не более 23,8 ц/га [22].

Озимые сорта содержат больше масла, они менее подвержены различным заболеваниям и лучше приспособлены к климатическим условиям России, но на их долю приходится треть общей посевной площади [23]. Большая часть урожая приходится на яровые сорта, которые характеризуются меньшей продуктивностью в сравнении с озимыми. Это объясняется разницей в продолжительности вегетативного периода: 92–114 дня у ярового и 250–265 дней у озимого [22]. Для нашей страны озимые сорта предпочтительнее. Их можно выращивать при отрицательных температурах без снежного покрова до  $-18^{\circ}\text{C}$  и с покровом до  $-25^{\circ}\text{C}$ .

Благодаря селекционерам во второй половине XX века удалось получить сорта типа «00», содержащие низкое количество антипитательных веществ — глюкозинолатов (менее 25 ммоль/т семян) и эруковой кислоты (менее 2%) [24]. В результате рапсовое масло стало возможным для использования в пищевой промышленности, а продукты переработки семян получили больший спрос в рационах кормления сельскохозяйственных животных и птицы. В России селекцией сортов занимается ФГБНУ «ВНИИ РАПСА». Новые сорта позволили увеличить урожайность, повысить устойчивость к заболеваниям, улучшить приспособляемость к возделыванию при минимальной обработке почвы [20].

Рапс быстро прорастает, является хорошим сидератом, поэтому он может быть использован в качестве предшественника для посева полевых культур. Так, возделывание зерновых культур после рапса способствует приросту урожая на 10–15% [25].

С 2022 г. в России введен временный запрет на экспорт семян рапса для стабилизации внутреннего продовольственного рынка и с целью увеличения мощности перерабатывающих растительное сырье отечественных предприятий [26]. Ожидается повышение валового сбора масличных культур до 26,7 млн т к 2030 г., доля рапса составит 12,8% [27]. В связи с этим актуальность приобретают технологии,

направленные на решение комплексных задач, связанных с переработкой рапса в России.

Цель настоящего исследования — систематизация и обобщение экспериментальных данных о способах получения белковых продуктов рапса, а также выявление существующих пробелов и формулирование предложений по возможным методам увеличения выхода и повышения качества получаемых продуктов.

### 3. Объекты и методы

Систематический поиск научной литературы был проведен с использованием поисковых систем PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar по ключевым фразам со включением операторов «и» и «или»: «рапсовый жмых», «рапсовый шрот», «обезжикивание жмыха рапса», «химический состав рапса», «изолят белка рапса», «концентрат белка рапса», «ферментативный гидролиз клетчатки рапса», «экстракция белка». В общей сложности поисковой запрос показал 2990 источников. Исследования были сгруппированы по тематическим областям обзора, статьи исключались на основании предварительного анализа названия и аннотации. Всего было проанализировано 85 научных исследований, в том числе обзорных.

#### Критерии включения:

- годы публикации исследований — 2015–2023;
- источник должен быть проиндексирован;
- включение статей, опубликованных ранее 2015 г., возможно в случае отсутствия новых источников по заданным критериям поиска;
- преимущественно зарубежные источники.

#### Критерии исключения:

- публикации, вышедшие ранее 2000 г.;
- работы, посвященные получению биотоплива и полимерных композитов.

Были рассмотрены полные тексты статей, соответствующих критериям поиска. Авторы независимо друг от друга провели анализ отобранных источников на предмет соответствия исследований критериям включения/исключения. Большинство используемых источников было опубликовано не ранее 2013 года.

### 4. Жмых и шрот рапса

Побочными продуктами получения рапсового масла являются жмых и шрот. Они считаются малоценным сырьем, используемым для получения кормов, компоста, удобрений и энергетических носителей [28]. Однако жмых и шрот содержат большое количество ценных соединений, в частности белка. Белки масличных культур имеют высокую степень усвоемости — до 85% [29]. В Таблице 2 представлена сравнительная характеристика биохимического состава семян сои, рапса, подсолнечника и отходов их переработки.

Семена сои содержат наименьшее количество сырого жира (15,50–24,70%) и имеют самый высокий показатель сырого протеина — до 43,60%. Сырой жир в семенах рапса

и подсолнечника составляет более 40%, при этом рапс содержит большее количество сырого протеина. Состав жмыха и шрота может варьироваться в зависимости от климатических, почвенных и генетических факторов, а также с учетом условий экстракции масла [33]. По содержанию сырого протеина жмых и шрот рапса (35,00–40,10% и 33,90–45,0%) уступают соевым (43,30–49,30% и 44–53,20% соответственно), но находятся на одном уровне с подсолнечными (23,60–29,0% и 15,0–48,0% соответственно).

Качество белка определяется аминокислотным профилем. Растительные белки содержат в недостаточном количестве лизин, изолейцин, триптофан, метионин и валин, поэтому для полной замены мясной продукции целесообразно использовать несколько видов растительного белка. Однако белки масличных культур имеют хорошо сбалансированный аминокислотный состав, в частности белки рапса [34]. Процентное содержание аминокислот в белках сои, рапса и подсолнечника приведено в Таблице 3.

Таблица 3. Сравнительная характеристика аминокислотного состава белков сои, рапса и подсолнечника [4,35]

Table 3. Comparative characteristics of the amino acid composition of soy, rapeseed and sunflower proteins [4,35]

Источник белка	Соя		Рапс		Подсолнечник		Белок ФАО/ВОЗ
	Аминокислоты	Семена	Шрот	Жмых	Шрот	Жмых	
Аланин	3,6	4,3	—	4,3	4,1	—	—
Аргинин	6,2	5,8	7,4	7,2	9,0	9,1	—
Аспарагин	7,1	7,0	—	11,7	10,2	—	—
Цистеин	2,1	1,7	1,6	1,6	2,2	1,8	—
Глутамин	9,1	17,5	—	18,7	21,9	—	—
Глицин	3,7	4,9	4,5	4,2	5,6	5,6	—
Гистидин	3,0	2,7	2,4	2,6	2,5	2,8	1,6
Изолейцин	5,3	4,0	4,6	4,5	4,5	4,2	3,0
Лейцин	7,1	7,0	7,8	7,8	6,5	6,9	5,3
Лизин	6,1	5,8	6,1	6,4	3,9	3,5	4,5
Метионин	2,7	1,9	1,4	1,3	2,3	2,2	2,2
Фенилаланин	3,9	3,8	5,5	5,0	4,9	5,1	3,8
Пролин	3,6	6,0	—	5,1	5,0	—	—
Серин	6,4	4,6	—	5,1	4,1	—	—
Тreonин	3,7	4,5	3,8	4,0	3,6	3,4	2,3
Триптофан	7,6	1,3	1,3	1,3	1,2	1,4	0,6
Тирозин	4,1	3,1	3,5	3,2	2,9	1,4	—
Валин	5,2	5,0	5,2	4,8	5,5	5,8	3,9

Лизин в белках сои и рапса содержится в количестве, сопоставимом стандарту ФАО/ВОЗ. Показатель метионина в составе белка соевого шрота на 13,63% ниже стандартного значения. Также недостаток метионина характерен для всех белков рапса. Белок подсолнечника в целом соответствует стандарту ФАО/ВОЗ, за исключением показателя лизина.

Таблица 2. Биохимический состав основных масличных культур и продуктов их переработки [4,13,30,31,32]

Table 2. Biochemical composition of the main oilseeds and products of their processing [4,13,30,31,32]

Показатель (г/100 г)	Соя			Рапс			Подсолнечник		
	семена	жмых	шрот	семена	жмых	шрот	семена	жмых	шрот
Влага	5,60–11,50	8,40–9,60	10,50–15,20	5,10–12,70	5,10–7,40	7,20–10,00	3,13–5,20	5,60–7,60	8,00–10,40
Сырой протеин	32,00–43,60	43,30–49,30	44,00–53,20	22,00–28,17	35,00–40,10	33,90–45,00	19,80–26,69	23,60–29,00	15,00–48,00
Сырой жир	15,50–24,70	9,30–15,50	0,55–2,00	39,80–46,00	11,80–16,70	1,70–3,80	40,30–54,06	11,00–30,50	1,20–2,00
Сырая клетчатка	6,20–8,90	4,95–11,28	3,50–7,00	5,80–15,70	8,20–17,50	11,00–14,00	8,60–17,10	8,60–30,20	13,20–28,90
Зола	4,50–6,40	5,70–6,80	6,30–7,60	3,70–5,00	5,60–7,00	5,00–6,50	3,00–3,30	5,70–7,50	6,10–7,10

Соевый белок содержит большое количество лизина, триптофана, изолейцина, валина и треонина. Рапсовый белок также характеризуется сбалансированным аминокислотным профилем, но имеет низкое количество серосодержащих аминокислот.

При извлечении белка масличных культур побочные продукты переработки представляют собой перспективное сырье для получения кормов и пищевых добавок, а также являются недорогим субстратом для микробного производства ферментов, антибиотиков и биотоплива [13,36].

## 5. Белки рапса

У масличных семян основной запасающей тканью является паренхима семядолей, в которой 90% всех белков являются запасными [37]. Они представлены в виде кристаллоидов и глобоидов, откладываемых в вакуолях растительной клетки [38]. У рапса преобладают два запасных белка — круцефирины и напин с молекулярной массой 300–350 кДа и 12–15 кДа соответственно [39]. Круцефирины (11S глобулин) состоят из двух полипептидных цепей: полипептид *a* включает 254–296 аминокислот, полипептид *b* — 189–191 аминокислоту. 11S глобулин имеет изоэлектрическую точку при значении pH 6, денатурируется при температуре 80 °C [40].

Напин (2S альбумин) включает в себя две полипептидные цепи молекулярной массой 4 кДа и 9 кДа, объединенные дисульфидными связями. Длинная цепь дополнительно стабилизируется четырьмя дисульфидными мостиками. 2S альбумин имеет изоэлектрическую точку при значениях pH выше 10, сохраняет стабильность до температуры 75 °C [40].

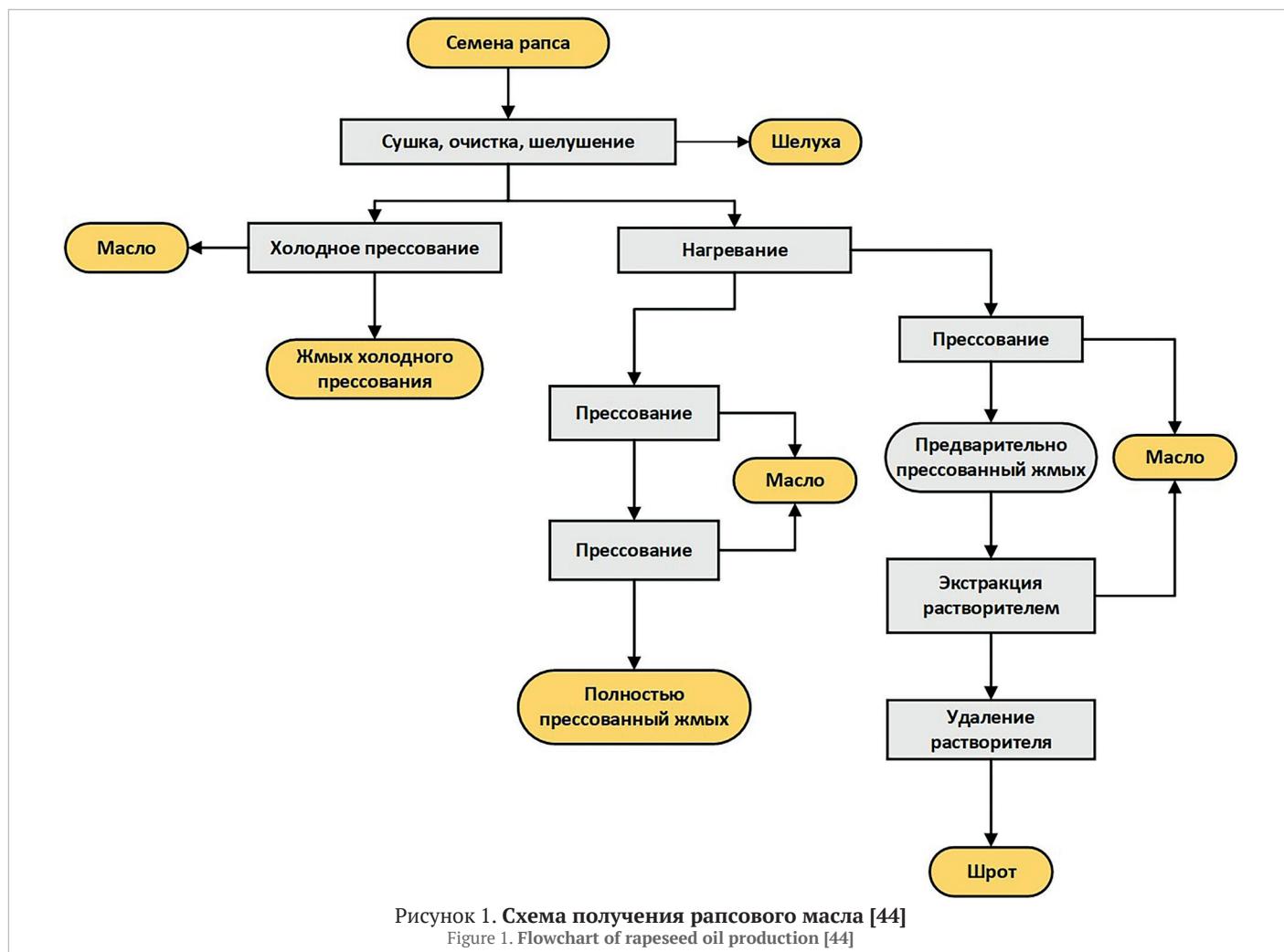
В рапсовом шроте также были обнаружены белки тионины, ингибиторы трипсина и переносчики липидов [41]. В семенах рапса большая часть белков приходится на альбуминовую и глобулиновую фракции. Высокомолекулярные рапсовые белки более гидрофобны по сравнению с белками меньшей молекулярной массы и обладают хорошими показателями стабилизации эмульсий и гелеобразования [42].

### 5.1. Получение белковых препаратов рапса

Процесс получения рапсового белка начинается с обезжиривания жмыха. Условия извлечения жира из рапсового семени совершенствовались на протяжении многих лет с целью увеличения выхода масла, а также для уменьшения затрат и улучшения качества продукта [43].

Существует три способа извлечения масла (Рисунок 1). Первый способ включает очистку семян и их измельчение на вальцовых мельницах. Из-за большого содержания масла (до 46%) обезжиривание семян методом прямой экстракции не подходит [44]. Поэтому этот процесс осуществляют путем винтового или экспеллерного прессования либо предварительного прессования с последующей экстракцией. В результате получают рапсовый жмых с содержанием масла 5–15% после двойного прессования и 15–18% после предварительного прессования.

Различают холодное и горячее прессование. С целью предотвращения денатурации белка применяют холодное прессование с температурой не более 40 °C, что достигается за счет внешнего охлаждения пресса [45], при этом остаточное содержание жира составляет 15–18% [46]. Последующую экстракцию и удаление растворителя осуществляют при температуре не более 60 °C.



Для сохранения нативного состава рапсового масла применяют метод сверхкритической  $\text{CO}_2$ -экстракции при температуре 30 °C и давлении 6 МПа [43]. Качество масла определяется окислительной стабильностью, которая зависит от содержания антиоксидантных фосфолипидов, стеролов и свободных жирных кислот.  $\text{CO}_2$ -экстракция в сравнении с экстракцией гексаном приводит к получению масла с более низкой окислительной стабильностью, однако увеличение объема  $\text{CO}_2$  позволяет повысить окислительную стабильность [47], выход масла при этом составляет около 90% [48].

Выход масла 92,8% можно получить путем водно-спиртовой экстракции [49]. Масло, полученное таким способом, имеет более низкое кислотное и перекисное числа, и более высокое содержание токоферолов в сравнении с маслом, извлеченным в процессе экстракции гексаном. Высококачественное масло можно получить экстракцией этанолом при температуре 95 °C и при давлении 340–350 кПа [50].

Метод экстракции масла без растворителей включает мокрое измельчение и водную экстракцию с применением гомогенизации под высоким давлением, в результате чего выход масла составляет 72% [44]. Водная экстракция с использованием целлюлазы, пектиназы и  $\beta$ -глюканазы позволяет извлечь 90% масла [51].

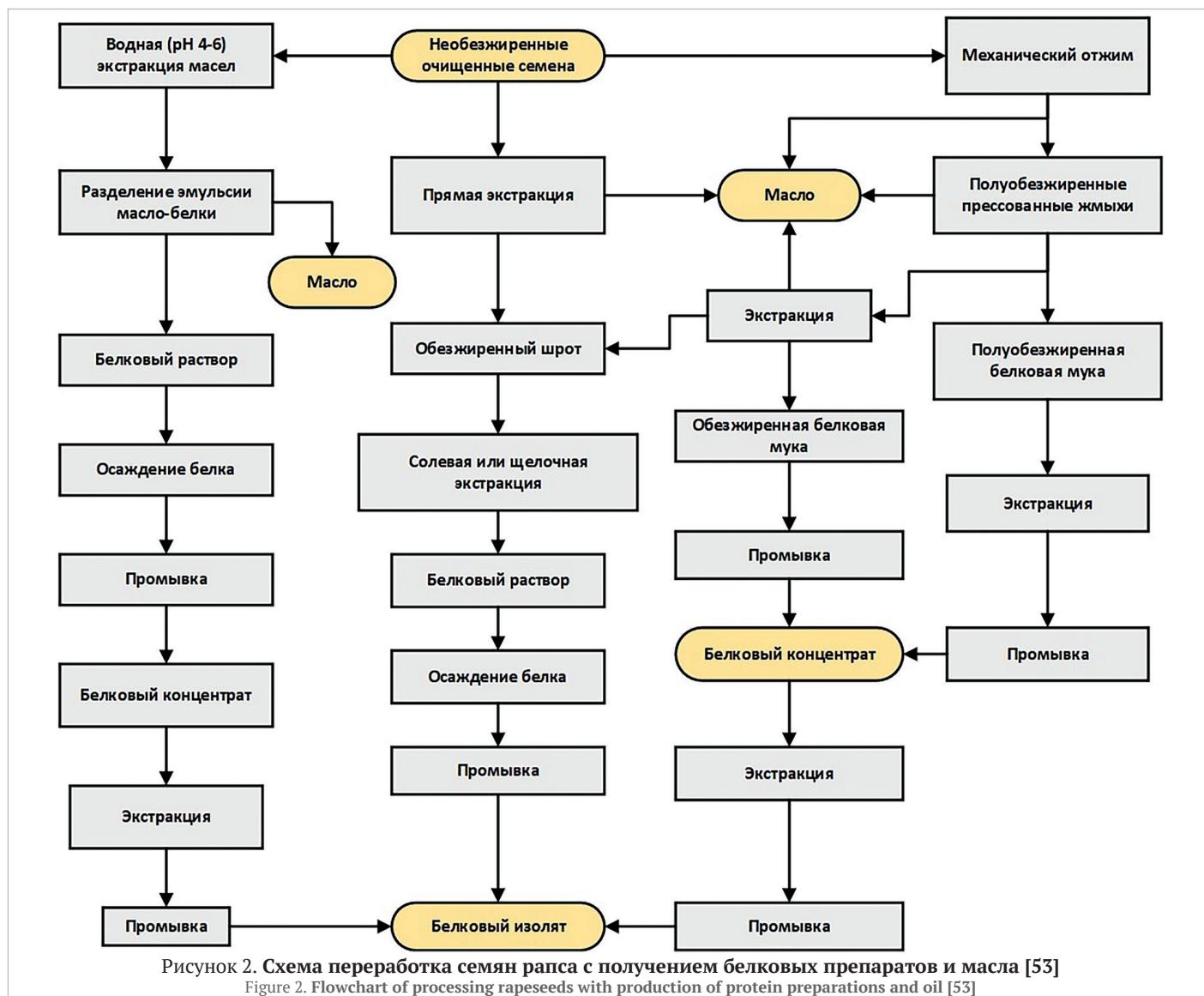
Изоляты и концентраты определяются не способом их получения, а содержанием белка [52]. Общая схема выделе-

ния белковых препаратов из семени рапса представлена на Рисунке 2.

Концентрирование белка осуществляется путем удаления небелковых примесей, за счет чего происходит увеличение его содержания [54]. Методы получения концентратов включают удаление семенной оболочки (снижение количества клетчатки) и спирторастворимых веществ (сахаров и фенолов), в результате чего содержание белка повышается до 70% [54]. Чаще всего применяют водно-спиртовые растворы (60–80%) и подкисленную воду при pH 4,5 для снижения потерь белка [55].

Изоляция белка происходит за счет водной экстракции и очистки путем осаждения или ультрафильтрации [42, 54, 56]. Экстракцию белка осуществляют в воде или в растворах NaCl при щелочных значениях pH. Белок из шрота можно экстрагировать 0,5 М раствором NaCl при pH 5,3–6,2 и при температуре от 5 до 35 °C в течение 1 ч [55]; 0,15–0,6 М раствором NaCl [57]; при pH 9,5–12 [58]. Высокие значения pH увеличивают выход белка, но при этом снижается его качество, что обусловлено окислением полифенольных соединений до хинонов. Это приводит к образованию темного цвета получаемого белкового продукта [59].

Осаждение экстрагированных белков может быть достигнуто разбавлением раствора водой при температуре 5–15 °C с выделением агрегатов. Этот способ имеет недостаток в виде большого расхода воды, поэтому в качестве



альтернативы применяют кислые растворы с использованием HCl и H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> при значениях pH, соответствующих изоэлектрической точке белка. Белки рапса осаждают при уровнях pH от 3,5 до 7,5 [55], также в сильнощелочных условиях повышается степень денатурации и агрегации белка [60], происходит гидролиз низкомолекулярных белковых фракций [61]. В Таблице 4 представлены основные биохимические показатели семян рапса, продуктов переработки и белковых препаратов на основе рапса.

**Таблица 4. Биохимический состав рапса, жмыха, шрота и белковых продуктов [4, 31]**

Table 4. Biochemical composition of rapeseed, cake, meal and protein products [4,31]

Наименование показателя, %	Семена рапса	Жмых рапса	Шрот рапса	Рапсовый белковый концентрат	Изолят белка рапса
Сухие вещества	87,3–94,9	92,6–94,9	71,0–99,2	91,5–96,4	94,6–97,8
Сырой протеин	17,5–24,6	29,4–38,4	30,0–60,6	48,3–80,6	90,0–98,7
Сырой жир	39,8–51,0	10,3–20,3	1,7–3,8	0,3–9,5	0,9–4,1
Сырая клетчатка	5,8–15,7	8,3–19,7	9,7–13,9	0,5–4,9	< 0,01–2,1
Зола	3,7–5,0	5,5–6,7	3,8–15,1	5,9–20,8	0,4–6,8

Белковый концентрат и изолят белка рапса характеризуются высоким содержанием сырого протеина — от 48,3 до 98,7%. По сравнению со шротом и жмыхом, в белковом концентрате содержание сырого жира не превышает 9,5%, в изоляте белка — 4,1%.

Главным недостатком описанных технологий является отсутствие методов снижения содержания некрахмальных полисахаридов. Жмых и шрот рапса содержат большое количество сырой клетчатки, которая уменьшает усвоемость белка [62,63]. Снизить содержание волокон возможно с применением химических и биотехнологических методов. Химические методы высокоэффективны, но их использование приводит к потере ценных веществ сырья и к преждевременному износу технологического оборудования [64,65]. Применение ферментов более предпочтительно, так как это позволяет сохранить нативный состав перерабатываемого растительного материала.

## 5.2. Снижение содержания некрахмальных полисахаридов

Клеточные стенки растений содержат смесь полимеров сложной структуры: целлюлозу, гемицеллюлозу, пектин и гликопротеиды [66,67]. Для облегчения извлечения белка

из труднодоступных целлюлозных субстратов можно использовать методы ферментативной экстракции. Данный способ считается быстрым, процесс протекает в мягких условиях и приводит к образованию меньшего количества отходов в сравнении с химической и физической экстракцией белка [68]. В то время как традиционный метод предполагает проведение экстракции в течение длительного времени в водных растворах, экстракция с применением ферментов позволяет ускорить процесс и увеличить выход белка [69].

Из-за разнообразного состава клеточной стенки растений чаще всего производители предлагают комплексные ферментные препараты, содержащие целлюлазы, гемицеллюлазы, ксиланазы и т. д. Большое влияние на специфичность и активность одной и той же группы ферментов оказывает продуцент фермента (Таблица 5).

Одновременное использование традиционных и нетрадиционных методов экстракции позволяет увеличить выход белка и улучшить его качество. При получении белковых продуктов измельчение, нагревание и применение ферментных препаратов для деструкции некрахмальных полимеров способствуют увеличению эффективности экстракции за счет деградации полисахаридного матрикса, к которому присоединяются белки [70,71]. Протеазы, целлюлазы и гемицеллюлазы являются ключевыми ферментами, применяемыми для экстракции белка из растительного сырья. Ферментативный гидролиз проводится при значениях pH 6,0–8,0 и при температуре 40–60 °C [72]. В Таблице 5 представлены коммерческие ферментные препараты, используемые в процессе экстракции белка.

Обычно ферментные препараты используются для предобработки растительного материала перед традиционными методами экстракции. Для экстракции белков можно использовать различные протеазы и карбогидразы. Применение ферментных препаратов, выделенных из семян подсолнечника, позволяет повысить эффективность процесса в 1,2 раза в сравнении с неферментативными методами экстракции [74]. Обезжиренную соевую муку обрабатывают комплексным ферментным препаратом (ксиланаза, пектиназа, целлюлаза) с последующей щелочной экстракцией, что позволяет увеличить выход белка на 21% [75]. Применение ферментного препарата Viscozyme L в соотношении твердой и жидкой фазы 1:20, pH 9,0 при температуре 60 °C и длительности экстракции 30 мин повышает выход белка на 23% [76]. Использование протеаз позволяет извлечь 74% белка из жмыха рапса [13].

**Таблица 5. Перечень ферментных препаратов, используемых в процессе экстракции белка [67,73]**

Table 5. List of enzymatic preparations used in the process of protein extraction [67,73]

Коммерческое название	Ферменты	Продуценты	Наименование компании
Viscozyme L	Арабаназа, целлюлаза, β-глюканаза, пектиназы, гемицеллюлазы, ксиланаза	<i>Aspergillus aculeatus</i>	Novozymes
Rapidase	Пектиназы и гемицеллюлазы	<i>Aspergillus niger</i> и <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Oenobrands
Termamyl 120L	Термостабильная α-амилаза	<i>Bacillus licheniformis</i>	Novozymes
Celluclast 1.5 L	Целлюлаза	<i>Trichoderma reesei</i>	Novozymes
Cellic Ctec	Целлюлаза, β-глюказидаза, ксиланаза	<i>Trichoderma reesei</i>	Novozymes
AMG 300 L	Экзо-1,4-α-d-глюказидаза	<i>Aspergillus niger</i>	Novozymes
Ultraflo L	Термостабильная β-глюканаза и ферулоилэстераза	<i>Humicola insolens</i>	Novozymes
Pentopan 500 BG	Эндо-1-4-β-ксиланаза, ферулоилэстераза и пектиназа	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Novozymes
Pectinex	Целлюлаза, гемицеллюлазы и пектиназы	<i>Aspergillus acueatus</i>	«Novozymes»
Lallzyme Beta	Пектиназы и β-глюказидаза	<i>Aspergillus niger</i>	«Lallemand»
Rovabio	Эндо-1,4-ксиланаза, β-1,4-ксилозидаза арабинофуранозидаза, α-галактозидаза, целлобиогидролаза, полигалактуроназа	<i>Talaromyces versatilis</i>	Adisseo
Multifec	Ксиланаза	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Genencor

За счет действия ферментов сокращается время щелочной экстракции, увеличивается выход белка и усиливаются его функциональные свойства [77]. Кроме того, улучшается растворимость белка, а также его эмульгирующая и пеногенерирующая способности [78]. Мягкие условия протекания ферментативных реакций не нарушают целостность извлечаемого белка, в отличие от химических методов обработки, приводящих к рацемизации L-форм аминокислот в D-формы, а также к денатурации белка и к образованию большего количества отходов [79,80]. Целлюлазы Viscozyme и Celluclast способны не только повышать уровень белка, но и снижать содержание фенольных соединений [81].

### 5.3. Применение рапсовых белковых ингредиентов

Изолят и концентрат рапса обладают хорошими функционально-технологическими характеристиками и могут использоваться в пищевой промышленности в качестве пищевых добавок. Также они имеют статус GRAS (уведомление № 327) [82] и одобрены EFSA (The European Food Safety Authority, Европейское агентство по безопасности продуктов питания) [83, 84].

Цвет белковых препаратов варьируется от светло-коричневого до темно-коричневого [40]. Концентраты и изоляты рапса применяют в производстве колбасных изделий, что позволяет снизить потери при термической обработке на 7,6–7,8% за счет повышения водоудерживающей способности фарша [85]. В рецептуре майонеза можно заменить до 15% яичного желтка рапсовым белком без потери свойств эмульсии [42].

На сегодняшний день на рынке присутствуют следующие коммерческие белковые препараты из жмыха и шрота рапса:

- с содержанием белка более 90% — Puratein и Supertein, полученные путем экстракции солевым раствором и осаждением белка с нейтральным значением pH (Burcon NutraScience, Канада);
- с содержанием белка 60–65% — Isolexx, экстрагированный при нейтральном pH и осажденный в мягких условиях (TeuTexx Proteins, Германия);
- гидролизат белка Vitalexx, полученный из нерастворимой фракции белков шрота рапса путем гидролиза (TeuTexx Proteins, Германия) [40].

### 6. Рекомендации по получению белковых компонентов рапса

1. Процесс получения пищевых белковых препаратов рапса целесообразно начинать с предварительного «холодного» прессования рапсового семени при температуре не более 40 °C и с дальнейшей экстракцией гексаном. Гексан обладает рядом преимуществ в сравнении со сверхкритическим CO<sub>2</sub> при давлении 350 кПа с использованием водно-спиртовой смеси. Он обеспечивает наибольший выход жира за короткий промежуток времени. Проблему большого расхода гексана можно решить путем использования ректификационных колонн и повторного применения ректификата гексана.

2. Высокое содержание некрахмальных полисахаридов обезжиренного рапсового шрота ограничивает качество и выход белка. Снижение количества клетчатки можно достичь путем использования целлюлолитических и гемицеллюлазных ферментных препаратов. В обзоре приведены данные исследований одновременной экстракции и ферментативного гидролиза растительного сырья. Выход белка увеличивается на 20–25%.

3. Заключительные стадии включают центрифugирование, экстракцию белка из твердой фракции (ферментолизованного жмыха) и осаждение в изоэлектрической точке при значениях pH 4,0–4,5. Фугат закисляют до аналогичного уровня pH, центрифугируют. Полученный продукт высушивают до остаточной влажности 6–8%.

4. Необходимы исследования по уменьшению содержания некрахмальных полисахаридов рапса в процессе получения концентратов и изолятов. Применение ферментных препаратов в данном случае позволит получать белковые препараты более высокого качества. Однако имеется необходимость тщательного отбора высокоспецифичных ферментных препаратов для совместной экстракции жмыха и шрота рапса. Побочный продукт ферментолизат можно использовать в качестве углеродного компонента в составе питательных сред для культивирования микроорганизмов — продуцентов ферментов, органических кислот и антибиотиков.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Daszkiewicz, T. (2022). Food production in the context of global developmental challenges. *Agriculture*, 12(6), Article 832. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060832>
2. Красноштанова, А.А., Шульц, Л.В. (2022). Получение и оценка функциональных свойств белковых изолятов и гидролизатов из растительного сырья. *Химия растительного сырья*, 4, 299–309. <https://doi.org/10.14258/jcprmt.20220410952>
3. Колпакова, В.В., Уланова, Р.В., Куликов, Д.С., Гулакова, В.А., Семёнов, Г.В., Шевякова, Л.В. (2022). Показатели качества гороховых и нутовых белковых концентратов. *Техника и технология пищевых производств*, 52(4), 650–664. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394>
4. Arrutia, F., Binner, E., Williams, P., Waldron, K.W. (2020). Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.044>
5. Молибога, Е.А., Сухостав, Е.В., Козлова, О.А., Зинич, А.В. (2022). Анализ рынка функционального питания: российский и международный аспект. *Техника и технология пищевых производств*, 52(4), 775–786. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2405>
6. Cheng, A., Raaij, M.N., Zain, N.A.M., Massawe, F., Singh, A., Wan-Mohtar, W.A.A.Q.I. (2019). In search of alternative proteins: unlocking the potential of underutilized tropical legumes. *Food Security*, 11, 1205–1215. <https://doi.org/10.1007/s12571-019-00977-0>
7. Langyan, S., Yadava, P., Khan, F.N., Dar, Z.A., Singh, R., Kumar, A. (2022). Sustaining protein nutrition through plant-based foods. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 772573. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.772573>
8. Tyndall, S.M., Maloney, G.R., Cole, M.B., Hazell, N.G., Augustin, M.A. (2022). Critical food and nutrition science challenges for plant-based meat alternative products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 1–16. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2107994>
9. Монгуш, С.В., Бойцова, Ю.С., Орлова, О.Ю. (2022). Анализ рынка альтернативного мяса в России и за рубежом. *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*, 4–4(67), 95–99. <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2022-4-4-95-99>
10. Boukid, F., Rosell, C.M., Rosene, S., Bover-Cid, S., Castellari, M. (2022). Non-animal proteins as cutting-edge ingredients to reformulate animal-free foodstuffs: Present status and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(23), 6390–6420. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1901649>
11. Gastaldello, A., Giampieri, F., De Giuseppe, R., Grosso, G., Baroni, L., Battino, M. (2022). The rise of processed meat alternatives: A narrative review of the manufacturing, composition, nutritional profile and health effects of newer sources of protein, and their place in healthier diets. *Trends in Food Science & Technology*, 127, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.005>
12. Степанова, О. (2021). Кто в России производит растительное мясо и сколько привлекает денег? Электронный ресурс: <https://vc.ru/food/272194-kto-v-rossii-proizvodiit-rastitelnoe-myaso-i-skolko-privlekaet-deneg?> Дата доступа: 16.12.2022.
13. Ansuta, P., Sonia, A. (2020). Oil press-cakes and meals valorization through circular economy approaches: A review. *Applied Sciences*, 10(21), Article 7432. <https://doi.org/10.3390/app10217432>
14. Fawcett, C.A., Senhorinho, G.N.A., Laamanen, C.A., Scott, J.A. (2022). Microalgae as an alternative to oil crops for edible oils and animal feed. *Algal Research*, 64, Article 102663. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102663>
15. USDA. (2022). Oilseeds: World Markets and Trade. Retrieved from <https://fas.usda.gov/data/oilseeds-world-markets-and-trade>. Accessed December 04, 2022.

16. Pilorgé, E. (2020). Sunflower in the global vegetable oil system: situation, specificities and perspectives. *OCl*, 27, Article 34. <https://doi.org/10.1051/ocl/2020028>
17. Институт конъюнктуры аграрного рынка. (2022). ИКАР: итоги года — 2021. Масличные. Электронный ресурс: <http://ikar.ru/lenta/739>. Дата доступа 15.12.2022.
18. Поморова, Ю.Ю., Пятовский, В.В., Бескоровайный, Д.В., Серова, Ю.М., Болховитина, Ю.С., Шемет, Ю.Ю. (2021). Общий химический и аминокислотный состав семян наиболее распространенных масличных культур семейства brassicaceae (обзор). *Масличные культуры*, 3(187), 78–90. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2021-3-187-78-90>
19. АгроВестник. (2022). Рынок рапса по итогам 2021 — тенденции и прогнозы. Электронный ресурс: <https://agrovosti.net/lib/industries/oilseeds/rynok-rapsa-po-itogam-2021-tendentsii-i-prognozy.html>. Дата доступа 25.12.2022.
20. Пальчиков, Е.В., Волков, С.А., Щукин, Р.А., Манаенкова, Ю.С., Палфитов, В.Ф. (2022). Сравнительная оценка сортов ярового рапса отечественной селекции по хозяйствственно-биологическим признакам. *Технологии пшеницы и перерабатывающей промышленности АПК — продукты здорового питания*, 2, 159–165. <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2022-2-159-165>
21. Паршуков, Д.В. (2022). Экономическая эффективность и перспективы производства рапса в Красноярском крае. *Социально-экономический и гуманистический журнал*, 2(24), 20–34. <https://doi.org/10.36718/2500-1825-2022-2-20-34>
22. Гулилова, В.А. (2019). Рапс — высокомаржинальная культура России. Елецкий государственный университет им. ИА Бунина, 2019.
23. Бушнев, А.С., Орехов, Г.И., Горлова, Л.А. (2020). Потенциал производства рапса озимого на юге России. *Агрофорум*, 5, 31–34.
24. Баюров, Л.И. (2021). Рапс — культура будущего! *Политехнический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*, 167, 1–19. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-167-00>
25. Пальчиков, Е.В., Волков, С.А. (2011). Сидерат как дополнительный источник органики. *Вестник Миассуринского государственного аграрного университета*, 2–1, 128–130.
26. Ашинова, М.К., Ешугова, С., Кадакоева, Г.В. (2022). Обеспечение продовольственной безопасности в условиях санкционного давления. *Новые технологии*, 18(3), 134–141. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2022-18-3-134-141>
27. Rudoy, E.V., Petukhova, M.S., Petrov, A.F., Kapustyanchik, S. Yu., Ryumkina, I.N., Ryumkin, S.V. (2020). Crop production in Russia 2030: Alternative data of the development scenarios. *Data in Brief*, 29, Article 105077. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.105077>
28. Borrello, M., Caracciolo, F., Lombardi, A., Pascucci, S., Cembalo, L. (2017). Consumers' perspective on circular economy strategy for reducing food waste. *Sustainability*, 9(1), Article 141. <https://doi.org/10.3390/su9010141>
29. Sá, A.G.A., da Silva, D.C., Pacheco, M.T.B., Moreno, Y.M.F., Carciofi, B.A.M. (2021). Oilseed by-products as plant-based protein sources: Amino acid profile and digestibility. *Future Foods*, 3, Article 100023. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100023>
30. Carré, P., Citeau, M., Robin, G., Estorges, M. (2016). Hull content and chemical composition of whole seeds, hulls and germs in cultivars of rapeseed (*Brassica napus*). *OCl*, 23(3), Article A302. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016013>
31. Kaiser, F., Harbach, H., Schulz, C. (2022). Rapeseed proteins as fish-meal alternatives: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14(4), 1887–1911. <https://doi.org/10.1111/raq.12678>
32. Muttagi, G.C., Joshi, N. (2020). Physico-chemical composition of selected sunflower seed cultivars. *International Journal of Chemical Studies*, 8, 2095–2100. <https://doi.org/10.2271/chemi.2020.v8.i4w.9936>
33. Lomascolo, A., Uzan-Boukhri, E., Sigoillot, J.C., Fine, F. (2012). Rapeseed and sunflower meal: a review on biotechnology status and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(5), 1105–1114. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4250-6>
34. Sibt-e-Abbas, M., Butt, M.S., Khan, M.R., Sultan, M.T., Saddique, M.S., Shahid, M. (2020). Nutritional and functional characterization of defatted oilseed protein isolates. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 57(1), 219–228.
35. Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., Montowska, M. (2020). Oilseed proteins—properties and application as a food ingredient. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.004>
36. Hosur, K.H., Bortha, U.K., Yadav, K.K., Mekapogu, M., Kashyap, B.K. (2020). Byproduct valorization of vegetable oil industry through biotechnological approach. Chapter in a book: *Waste to Energy: Prospects and Applications*. Springer, Singapore, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-981-33-4347-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-33-4347-4_8)
37. Wanasyndara, J.P.D., Tan, S., Alashi, A.M., Pudel, F., Blanchard, C. (2017). Proteins from canola/rapeseed: Current status. Chapter in a book: *Sustainable protein sources*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00018-4>
38. Chmielewska, A., Kozłowska, M., Rachwał, D., Wnukowski, P., Amarowicz, R., Nebesny, E. et al. (2021). Canola/rapeseed protein — nutritional value, functionality and food application: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(22), 3836–3856. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1809542>
39. Shen, P., Yang, J., Nikiforidis, C.V., Mocking-Bode, H.C.M., Sagis, L.M.C. (2023). Cruciferin versus napin — Air-water interface and foam stabilizing properties of rapeseed storage proteins. *Food Hydrocolloids*, 136, Article 108300. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108300>
40. Wanasyndara, J.P.D., McIntosh, T.C., Perera, S.P., Withana-Gamage, T.S., Mitra, P. (2016). Canola/rapeseed protein-functionality and nutrition. *OCl*, 23(4), Article D407. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016028>
41. Ottens, M., Chilamkurthi, S. (2013). Advances in process chromatography and applications in the food, beverage and nutraceutical industries. Chapter in a book: *Separation, extraction and concentration processes in the food, beverage and nutraceutical industries*. Woodhead Publishing Limited, 2013. <https://doi.org/10.1533/9780857090751.1.109>
42. Aider, M., Barbana, C. (2011). Canola proteins: composition, extraction, functional properties, bioactivity, applications as a food ingredient and allergenicity — A practical and critical review. *Trends in Food Science & Technology*, 22(1), 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.002>
43. Gaber, M.A.F.M., Tujillo, F.J., Mansour, M.P., Juliano, P. (2018). Improving oil extraction from canola seeds by conventional and advanced methods. *Food Engineering Reviews*, 10, 198–210. <https://doi.org/10.1007/s12393-018-9182-1>
44. Fetzer, A., Müller, K., Schmid, M., Eisner, P. (2020). Rapeseed proteins for technical applications: Processing, isolation, modification and functional properties — A review. *Industrial Crops and Products*, 158, Article 112986. <https://doi.org/10.1007/s12393-018-9182-1>
45. Kraljić, K., Škevin, D., Pospisil, M., Obranović, M., Nederal, S., Bosolt, T. (2013). Quality of rapeseed oil produced by conditioning seeds at modest temperatures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(4), 589–599. <https://doi.org/10.1007/s11746-012-2195-7>
46. Fetzer, A., Herfellner, T., Stäbler, A., Menner, M., Eisner, P. (2018). Influence of process conditions during aqueous protein extraction upon yield from pre-pressed and cold-pressed rapeseed press cake. *Industrial Crops and Products*, 112, 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.011>
47. Uquiche, E., Romero, V., Ortiz, J., del Valle, J.M. (2012). Extraction of oil and minor lipids from cold-press rapeseed cake with supercritical CO<sub>2</sub>. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 29(3), 585–597. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322012000300016>
48. Boutin, O., Badens, E. (2009). Extraction from oleaginous seeds using supercritical CO<sub>2</sub>: Experimental design and products quality. *Journal of Food Engineering*, 92(4), 396–402. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.007>
49. Tian, L., Ren, Y., Yang, R., Zhao, Q., Zhang, W. (2019). Combination of thermal pretreatment and alcohol-assisted aqueous processing for rapeseed oil extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(7), 3509–3516. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9570>
50. Citeau, M., Slabi, S.A., Joffre, F., Carré, P. (2018). Improved rapeseed oil extraction yield and quality via cold separation of ethanol miscella. *OCl*, 25(2), Article D207. <https://doi.org/10.1051/ocl/2018012>
51. Zhang, S.B., Wang, Z., Xu, S.Y. (2007). Downstream processes for aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 693–700. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1080-2>
52. Fetzer, A., Herfellner, T., Eisner, P. (2019). Rapeseed protein concentrates for non-food applications prepared from pre-pressed and cold-pressed press cake via acidic precipitation and ultrafiltration. *Industrial Crops and Products*, 132, 396–406. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.039>
53. Щеколдина, Т.В. (2015). Технологии получения белоксодержащего сырья из продуктов переработки семян подсолнечника. *Политехнический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*, 109, 360–378.
54. Wanasyndara, J.P. (2011). Proteins of Brassicaceae oilseeds and their potential as a plant protein source. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7), 635–677. <https://doi.org/10.1080/10408391003749942>
55. Rodrigues, I.M., Coelho, J.F.J., Carvalho, M.G.V.S. (2012). Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.027>
56. Tan, S.H., Mailer, R.J., Blanchard, C.L., Agboola, S.O. (2011). Canola proteins for human consumption: extraction, profile, and functional properties. *Journal of Food Science*, 76(1), R16–R28. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01930.x>
57. Milanova, R., Murray, E.D., Westdal, P.S. (2006). U.S. Patent No. 6,992,173. Washington, DC: U. S. Patent and Trademark Office.
58. Ghodsvali, A., Khodaparast, M.H.H., Vosoughi, M., Diosady, L.L. (2005). Preparation of canola protein materials using membrane technology and evaluation of meals functional properties. *Food Research International*, 38(2) 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.007>
59. Momen, S., Alavi, F., Aider, M. (2021). Alkali-mediated treatments for extraction and functional modification of proteins: Critical and application review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 778–797. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.052>
60. Gao, Z., Shen, P., Lan, Y., Cui, L., Ohm, J.-B., Chen, B. et al. (2020). Effect of alkaline extraction pH on structure properties, solubility, and beany flavor of yellow pea protein isolate. *Food Research International*, 131, Article 109045. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109045>
61. Ruiz, G.A., Xiao, W., van Boekel, M., Minor, M., Stieger, M. (2016). Effect of extraction pH on heat-induced aggregation, gelation and microstructure

- of protein isolate from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Food Chemistry*, 209, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.052>
62. Zhu, X., Wang, L., Zhang, Z., Ding, L., Hang, S. (2021). Combination of fiber-degrading enzymatic hydrolysis and lactobacilli fermentation enhances utilization of fiber and protein in rapeseed meal as revealed in simulated pig digestion and fermentation *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 278, Article 115001. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115001>
63. Rakita, S., Kokić, B., Manoni, M., Mazzoleni, S., Lin, P., Luciano, A. et al. (2023). Cold-Pressed Oilseed Cakes as Alternative and Sustainable Feed Ingredients: A Review. *Foods*, 12(3), Article 432. <https://doi.org/10.3390/foods12030432>
64. Alexandrino, T.D., Ferrari, R.A., de Oliveira, L.M., Rita de Cássia, S.C., Pacheco, M.T.B. (2017). Fractioning of the sunflower flour components: Physical, chemical and nutritional evaluation of the fractions. *LWT*, 84, 426–432. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.062>
65. Yang, B., Dai, Z., Ding, S.Y., Wyman, C.E. (2011). Enzymatic hydrolysis of celullosic biomass. *Biofuels*, 2(4), 421–449. <https://doi.org/10.4155/bfs.11.116>
66. Castañeda-Pérez, E., Jiménez-Morales, K., Castellanos-Ruelas, A., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. (2021). Antidiabetic potential of protein hydrolysates and peptide fractions from lima bean (*Phaseolus lunatus* L): An *in vitro* study. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 27(3), 1979–1988. <https://doi.org/10.1007/s10989-021-10226-8>
67. 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>
68. Cheng, M.H., Rosentrater, K.A., Sekhon, J., Wang, T., Jung, S., Johnson, L.A. (2019). Economic feasibility of soybean oil production by enzyme-assisted aqueous extraction processing. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 539–550. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2228-9>
69. Nasrabadi, M.N., Doost, A.S., Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, Article 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
70. Chalamaiyah, M., Rao, G.N., Rao, D.C., Jyothirmayi, T. (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, 120(3), 652–657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.057>
71. Esfandi, R., Willmore, W.G., Tsopmo, A. (2019). Peptidomic analysis of hydrolyzed oat bran proteins, and their *in vitro* antioxidant and metal chelating properties. *Food Chemistry*, 279, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.110>
72. Gençdag, E., Görgüç, A., Yilmaz, F.M. (2021). Recent advances in the recovery techniques of plant-based proteins from agro-industrial by-products. *Food Reviews International*, 37(4), 447–468. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1709203>
73. Filiatrault-Chastel, C., Heiss-Blanquet, S., Margeot, A., Berrin, J.-G. (2021). From fungal secretomes to enzymes cocktails: The path forward to bioeconomy. *Biotechnology Advances*, 52, Article 107833. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107833>
74. Latif, S., Anwar, F. (2009). Effect of aqueous enzymatic processes on sunflower oil quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(4), 393–400. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1357-8>
75. Perović, M.N., Jugović, Z.D.K., Antov, M.G. (2020). Improved recovery of protein from soy grit by enzyme-assisted alkaline extraction. *Journal of Food Engineering*, 276, Article 109894. <https://doi.org/10.1016/j.jfooodeng.2019.109894>
76. Rosset, M., Acquaro, V.R., Beléa, A.D.P. (2014). Protein extraction from defatted soybean flour with Viscozyme L Pretreatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 784–790. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12030>
77. Wei, C.-L., Lu, W., Yang, J., Wang, M.-P., Yang, X.-Q., Wang, J.-M. (2018). Physicochemical properties of soy protein prepared by enzyme-assisted countercurrent extraction. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(6), 1389–1396. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13716>
78. Zhao, Y., Tian, R., Xu, Z., Jiang, L., Sui, X. (2023). Recent advances in soy protein extraction technology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 100(3), 187–195. <https://doi.org/10.1002/aocs.12676>
79. Sari Y. W., Sanders J. P.M., Bruins M.E. (9–10 October 2015). *Techno-economical evaluation of protein extraction for microalgae biorefinery*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. — IOP Publishing. Bogor, Indonesia, 31(1), Article 012034. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/31/1/012034>
80. Kleekayai, T., Khalesi, M., Amigo-Benavent, M., Cermeño, M., Harnedy-Rothwell, P., FitzGerald, R.J. (2023). Enzyme-assisted extraction of plant proteins. Chapter in a book: *Green Protein Processing Technologies from Plants*. Cham: Springer International Publishing, 2023. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-16968-7\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-031-16968-7_6)
81. Mendez, R.L., Kwon, J.Y. (2021). Effect of extraction condition on protein recovery and phenolic interference in Pacific dulse (*Devaleraea mollis*). *Journal of Applied Phycology*, 33(4), 2497–2509. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02467-3>
82. GRAS Notice 327. (2010). GRAS notification for cruciferous-rich and napin-rich protein isolates derived from canola/rapeseed (Puratein® and Supertein™). Retrieved from [https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=327&sort=GRN\\_Noℴorder=DESC&startrow=1&type=basic&search=rapeseed](https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=327&sort=GRN_Noℴorder=DESC&startrow=1&type=basic&search=rapeseed). Accessed December 23, 2022.
83. Campbell, L., Rempel, C.B., Wanasyndara, J.P. (2016). Canola/Rapeseed protein: Future opportunities and directions-workshop proceedings of IRC2015. *Plants*, 5(2), Article 17. <https://doi.org/10.3390/plants5020017>
84. EFSA. (2013). Scientific Opinion on the safety of “rapeseed protein isolate” as a Novel Food ingredient. *EFSA Journal*, 11(10), Article 3420. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3420>
85. Von Der Haar, D., Müller, K., Bader-Mittermaier, S., Eisner, P. (2014). Rapeseed proteins—Production methods and possible application ranges. *OCL*, 21(1), Article D104. <https://doi.org/10.1051/ocl/2013038>

## REFERENCES

- Daszkiewicz, T. (2022). Food production in the context of global developmental challenges. *Agriculture*, 12(6), Article 832. <https://doi.org/10.3390/agriculture12060832>
- Krasnoshtanova, A.A., Shul’c, L.V. (2022). Preparation and evaluation of the functional properties of protein isolates and hydrolysates from plant raw materials. *Himiya Rastitel’nogo Syr’ya*, 4, 299–309. <https://doi.org/10.14258/jcprom.20220410952> (In Russian)
- Kolpakova, V.V., Ulanova, R.V., Kulikov, D.S., Gulakova, V.A., Semyonov, G.V., Shevjakova, L.V. (2022). Pea and chickpea protein concentrates: Quality indicators. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(4), 650–664. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394> (In Russian)
- Arrutia, F., Binner, E., Williams, P., Waldron, K.W. (2020). Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.044>
- Moliboga, E.A., Suhostav, E.V., Kozlova, O.A., Zinich, A.V. (2022). Functional food market analysis: Russian and international aspects. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(4), 775–786. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2405> (In Russian)
- Cheng, A., Raai, M.N., Zain, N.A.M., Massawe, F., Singh, A., Wan-Mohtar, W.A.A.Q.I. (2019). In search of alternative proteins: unlocking the potential of underutilized tropical legumes. *Food Security*, 11, 1205–1215. <https://doi.org/10.1007/s12571-019-00977-0>
- Langyan, S., Yadava, P., Khan, F.N., Dar, Z.A., Singh, R., Kumar, A. (2022). Sustaining protein nutrition through plant-based foods. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 772573. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.772573>
- Tyndall, S.M., Maloney, G.R., Cole, M.B., Hazell, N.G., Augustin, M.A. (2022). Critical food and nutrition science challenges for plant-based meat alternative products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 1–16. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2107994>
- Mongush, S.V., Boytsova, Yu.S., Orlova, O. Yu. (2022). Analysis of the market of alternative meat in Russia and abroad. *International Journal of Humanities and Natural Sciences*, 4–4(67), 95–99. <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2022-4-4-95-99> (In Russian)
- Boukid, F., Rosell, C.M., Rosene, S., Bover-Cid, S., Castellari, M. (2022). Non-animal proteins as cutting-edge ingredients to reformulate animal-free foodstuffs: Present status and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(23), 6390–6420. <https://doi.org/10.1080/0408398.2021.1901649>
- Gastaldello, A., Giampieri, F., De Giuseppe, R., Grossi, G., Baroni, L., Battino, M. (2022). The rise of processed meat alternatives: A narrative review of the manufacturing, composition, nutritional profile and health effects of newer sources of protein, and their place in healthier diets. *Trends in Food Science & Technology*, 127, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.005>
- Stepanova, O. (2021). Who produces vegetable meat in Russia and how much money does it attract? Retrieved from <https://vc.ru/food/272194-ko-v-rossii-proizvodit-rastitelnoe-myaso-i-skolkol-privlekaet-deneg>? Accessed December 16, 2022. (In Russian)
- Ancuța, P., Sonia, A. (2020). Oil press-cakes and meals valorization through circular economy approaches: A review. *Applied Sciences*, 10(21), Article 7432. <https://doi.org/10.3390/app10217432>
- Fawcett, C.A., Senhorin, G.N.A., Laamanen, C.A., Scott, J.A. (2022). Microalgae as an alternative to oil crops for edible oils and animal feed. *Algal Research*, 64, Article 102663. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102663>
- USDA. (2022). Oilseeds: World Markets and Trade. Retrieved from <https://fas.usda.gov/data/oilseeds-world-markets-and-trade>. Accessed December 04, 2022.
- Pilorgé, E. (2020). Sunflower in the global vegetable oil system: situation, specificities and perspectives. *OCL*, 27, Article 34. <https://doi.org/10.1051/ocl/2020028>
- Institute for Agricultural Market Studies. (2022). Agricultural markets: results-2020 and prospects-2021 from IKAR. Oilseeds. Retrieved from <http://ikar.ru/1/lenta/739>. Accessed December 15, 2022. (In Russian)
- Pomorova, Yu. Yu., Pyatovsky, V.V., Beskorovayny, D.V., Serova, Yu.M., Bolkhovitina, Yu.S., Shemet, Yu. Yu. (2021). General chemical and amino acid compositions of the most widespread oil crops of brassicaceae family (Review). *Oil Crops*, 3(187), 78–90. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2021-3-187-78-90> (In Russian)

19. Agrovestnik. (2022). Rapeseed market by the end of 2021 – trends and forecasts. Retrieved from <https://agrovesti.net/lib/industries/oilseeds/rynek-rapsa-po-itogam-2021-tendentsii-i-prognozy.html>. Accessed December 25, 2022. (In Russian)
20. Palchikov, E.V., Volkov, S.A., Shchukin, R.A., Manaenkova, Y.S., Palfitov, V.F. (2022). Comparative evaluation of spring rapeseed varieties of domestic breeding by economic and biological characteristics. *Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex-Healthy Food Products*, 2, 159–165. <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2022-2-159-165> (In Russian)
21. Parshukov, D.V. (2022). Economic efficiency and rapeseed production prospects in the Krasnoyarsk region. *Socio-Economic and Humanitarian Journal*, 2(24), 20–34. <https://doi.org/10.36718/2500-1825-2022-2-20-34> (In Russian)
22. Gulidova, V.A. (2019). Rapeseed is a high-margin culture of Russia. Elets: I. A. BuniinYelets State University, 2019. (In Russian)
23. Bushnev, A.S., Orehkov, G.I., Gorlova, L.A. (2020). The potential of winter rapeseed production in the south of Russia. *Agroforum*, 5, 31–34. (In Russian)
24. Bayurov, L.I. (2021). Rapeseed – the culture of the future. *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*, 167, 1–19. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-167-00> (In Russian)
25. Palchikov, E.V., Volkov, S.A. (2011). Green manure as an additional source of organics. *The Bulletin of Michurinsk State Agrarian University*, 2–1, 128–130. (In Russian)
26. Ashinova, M.K., Eshugova, S., Kadakoeva, G.V. (2022). Ensuring food security under sanctions pressure. *New Technologies*, 18(3), 134–141. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2022-18-3-134-141> (In Russian)
27. Rudyov, E.V., Petukhova, M.S., Petrov, A.F., Kapustyanchik, S.Yu., Ryumkina, I.N., Ryumkin, S.V. (2020). Crop production in Russia 2030: Alternative data of the development scenarios. *Data in Brief*, 29, Article 105077. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.105077>
28. Borrelli, M., Caracciolo, F., Lombardi, A., Pascucci, S., Cembalo, L. (2017). Consumers' perspective on circular economy strategy for reducing food waste. *Sustainability*, 9(1), Article 141. <https://doi.org/10.3390/su9010141>
29. Sá, A.G.A., da Silva, D.C., Pacheco, M.T.B., Moreno, Y.M.F., Carciofi, B.A.M. (2021). Oilseed by-products as plant-based protein sources: Amino acid profile and digestibility. *Future Foods*, 3, Article 100023. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100023>
30. Carré, P., Citeau, M., Robin, G., Estorges, M. (2016). Hull content and chemical composition of whole seeds, hulls and germs in cultivars of rapeseed (*Brassica napus*). *OCL*, 23(3), Article A302. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016013>
31. Kaiser, F., Harbach, H., Schulz, C. (2022). Rapeseed proteins as fish-meal alternatives: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14(4), 1887–1911. <https://doi.org/10.1111/raq.12678>
32. Muttagi, G.C., Joshi, N. (2020). Physico-chemical composition of selected sunflower seed cultivars. *International Journal of Chemical Studies*, 8, 2095–2100. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i4w.9936>
33. Lomascolo, A., Uzan-Boukhris, E., Sigoillot, J.C., Fine, F. (2012). Rapeseed and sunflower meal: a review on biotechnology status and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(5), 1105–1114. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4250-6>
34. Sibt-e-Abbas, M., Butt, M.S., Khan, M.R., Sultan, M.T., Saddique, M.S., Shahid, M. (2020). Nutritional and functional characterization of defatted oilseed protein isolates. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 57(1), 219–228.
35. Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., Montowska, M. (2020). Oilseed proteins—properties and application as a food ingredient. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.004>
36. Hosur, K.H., Betha, U.K., Yadav, K.K., Mekapogu, M., Kashyap, B.K. (2020). Byproduct valorization of vegetable oil industry through biotechnological approach. Chapter in a book: Waste to Energy: Prospects and Applications. Springer, Singapore, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-981-33-4347-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-33-4347-4_8)
37. Wanasyundara, J.P.D., Tan, S., Alashi, A.M., Pudel, F., Blanchard, C. (2017). Proteins from canola/rapeseed: Current status. Chapter in a book: Sustainable protein sources, Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00018-4>
38. Chmielewska, A., Kozłowska, M., Rachwał, D., Wnukowski, P., Amarowicz, R., Nebesny, E. et al. (2021). Canola/rapeseed protein – nutritional value, functionality and food application: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(22), 3836–3856. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1809342>
39. Shen, P., Yang, J., Nikiforidis, C.V., Mocking-Bode, H.C.M., Sagis, L.M.C. (2023). Cruciferin versus napin – Air-water interface and foam stabilizing properties of rapeseed storage proteins. *Food Hydrocolloids*, 136, Article 108300. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108300>
40. Wanasyundara, J.P.D., McIntosh, T.C., Perera, S.P., Withana-Gamage, T.S., Mitra, P. (2016). Canola/rapeseed protein-functionality and nutrition. *OCL*, 23(4), Article D407. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016028>
41. Ottens, M., Chilamkurthi, S. (2013). Advances in process chromatography and applications in the food, beverage and nutraceutical industries. Chapter in a book: Separation, extraction and concentration processes in the food, beverage and nutraceutical industries. Woodhead Publishing Limited, 2013. <https://doi.org/10.1533/9780857090751.1.109>
42. Aider, M., Barbana, C. (2011). Canola proteins: composition, extraction, functional properties, bioactivity, applications as a food ingredient and allergenicity – A practical and critical review. *Trends in Food Science & Technology*, 22(1), 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.002>
43. Gaber, M.A.F.M., Tujillo, F.J., Mansour, M.P., Juliano, P. (2018). Improving oil extraction from canola seeds by conventional and advanced methods. *Food Engineering Reviews*, 10, 198–210. <https://doi.org/10.1007/s12393-018-9182-1>
44. Fetzer, A., Müller, K., Schmid, M., Eisner, P. (2020). Rapeseed proteins for technical applications: Processing, isolation, modification and functional properties – A review. *Industrial Crops and Products*, 158, Article 112986. <https://doi.org/10.1007/s12393-018-9182-1>
45. Kraljić, K., Škevin, D., Pospišil, M., Obranović, M., Nederal, S., Bosolt, T. (2013). Quality of rapeseed oil produced by conditioning seeds at modest temperatures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(4), 589–599. <https://doi.org/10.1007/s11746-012-2195-7>
46. Fetzer, A., Herfellner, T., Stäbler, A., Menner, M., Eisner, P. (2018). Influence of process conditions during aqueous protein extraction upon yield from pre-pressed and cold-pressed rapeseed press cake. *Industrial Crops and Products*, 112, 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.011>
47. Uquiche, E., Romero, V., Ortiz, J., del Valle, J.M. (2012). Extraction of oil and minor lipids from cold-press rapeseed cake with supercritical CO<sub>2</sub>. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 29(3), 585–597. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322012000300016>
48. Boutin, O., Badens, E. (2009). Extraction from oleaginous seeds using supercritical CO<sub>2</sub>: Experimental design and products quality. *Journal of Food Engineering*, 92(4), 396–402. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.007>
49. Tian, L., Ren, Y., Yang, R., Zhao, Q., Zhang, W. (2019). Combination of thermal pretreatment and alcohol-assisted aqueous processing for rapeseed oil extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(7), 3509–3516. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9570>
50. Citeau, M., Slabi, S.A., Joffre, F., Carré, P. (2018). Improved rapeseed oil extraction yield and quality via cold separation of ethanol miscella. *OLC*, 25(2), Article D207. <https://doi.org/10.1051/ocl/2018012>
51. Zhang, S.B., Wang, Z., Xu, S.Y. (2007). Downstream processes for aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 693–700. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1080-2>
52. Fetzer, A., Herfellner, T., Eisner, P. (2019). Rapeseed protein concentrates for non-food applications prepared from pre-pressed and cold-pressed press cake via acidic precipitation and ultrafiltration. *Industrial Crops and Products*, 152, 396–406. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.039>
53. Shchekoldina, T.V. (2015). Technology for production of protein-containing raw materials from the products of sunflower seeds. *Polythematic Online Scientific JOURNAL of Kuban State Agrarian University*, 109, 360–378. (In Russian)
54. Wanasyundara, J.P. (2011). Proteins of Brassicaceae oilseeds and their potential as a plant protein source. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7), 635–677. <https://doi.org/10.1080/10408391005749942>
55. Rodrigues, I.M., Coelho, J.F.J., Carvalho, M.G.V.S. (2012). Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.027>
56. Tan, S.H., Mailer, R.J., Blanchard, C.L., Agboola, S.O. (2011). Canola proteins for human consumption: extraction, profile, and functional properties. *Journal of Food Science*, 76(1), R16–R28. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01930.x>
57. Milanova, R., Murray, E.D., Westdal, P.S. (2006). U. S. Patent No. 6,992,173. Washington, DC: U. S. Patent and Trademark Office.
58. Ghodsvali, A., Khodaparast, M.H.H., Vosoughi, M., Diosady, L.L. (2005). Preparation of canola protein materials using membrane technology and evaluation of meals functional properties. *Food Research International*, 38(2) 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.007>
59. Momen, S., Alavi, F., Aider, M. (2021). Alkali-mediated treatments for extraction and functional modification of proteins: Critical and application review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 778–797. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.052>
60. Gao, Z., Shen, P., Lan, Y., Cui, L., Ohm, J.B., Chen, B. et al. (2020). Effect of alkaline extraction pH on structure properties, solubility, and beany flavor of yellow pea protein isolate. *Food Research International*, 131, Article 109045. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109045>
61. Ruiz, G.A., Xiao, W., van Boekel, M., Minor, M., Steiger, M. (2016). Effect of extraction pH on heat-induced aggregation, gelation and microstructure of protein isolate from quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). *Food Chemistry*, 209, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.052>
62. Zhu, X., Wang, L., Zhang, Z., Ding, L., Hang, S. (2021). Combination of fiber-degrading enzymatic hydrolysis and lactobacilli fermentation enhances utilization of fiber and protein in rapeseed meal as revealed in simulated pig digestion and fermentation in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 278, Article 115001. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115001>
63. Rakita, S., Kokić, B., Manoni, M., Mazzoleni, S., Lin, P., Luciano, A. et al. (2023). Cold-Pressed Oilseed Cakes as Alternative and Sustainable Feed Ingredients: A Review. *Foods*, 12(3), Article 432. <https://doi.org/10.3390/foods12030432>

64. Alexandrino, T.D., Ferrari, R.A., de Oliveira, L.M., Rita de Cássia, S.C., Pacheco, M.T.B. (2017). Fractioning of the sunflower flour components: Physical, chemical and nutritional evaluation of the fractions. *LWT*, 84, 426–432. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.062>
65. Yang, B., Dai, Z., Ding, S.Y., Wyman, C.E. (2011). Enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. *Biofuels*, 2(4), 421–449. <https://doi.org/10.4155/bfs.11.116>
66. Castañeda-Pérez, E., Jiménez-Morales, K., Castellanos-Ruelas, A., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. (2021). Antidiabetic potential of protein hydrolysates and peptide fractions from lima bean (*Phaseolus lunatus* L): An *in vitro* study. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 27(3), 1979–1988. <https://doi.org/10.1007/s10989-021-10226-8>
67. 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>
68. Cheng, M.H., Rosentrater, K.A., Sekhon, J., Wang, T., Jung, S., Johnson, L.A. (2019). Economic feasibility of soybean oil production by enzyme-assisted aqueous extraction processing. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 539–550. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2228-9>
69. Nasrabadi, M.N., Doost, A.S., Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, Article 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
70. Chalamaiah, M., Rao, G.N., Rao, D.G., Jyothirmayi, T. (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, 120(3), 652–657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.057>
71. Esfandi, R., Willmore, W.G., Tsopmo, A. (2019). Peptidomic analysis of hydrolyzed oat bran proteins, and their *in vitro* antioxidant and metal chelating properties. *Food Chemistry*, 279, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.110>
72. Gençdag, E., Görgüç, A., Yılmaz, F.M. (2021). Recent advances in the recovery techniques of plant-based proteins from agro-industrial by-products. *Food Reviews International*, 37(4), 447–468. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1709203>
73. Filiatrault-Chastel, C., Heiss-Blanquet, S., Margeot, A., Berrin, J.-G. (2021). From fungal secretomes to enzymes cocktails: The path forward to bioeconomy. *Biotechnology Advances*, 52, Article 107833. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107833>
74. Latif, S., Anwar, F. (2009). Effect of aqueous enzymatic processes on sunflower oil quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(4), 393–400. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1357-8>
75. Perović, M.N., Jugović, Z.D.K., Antov, M.G. (2020). Improved recovery of protein from soy grit by enzyme-assisted alkaline extraction. *Journal of Food Engineering*, 276, Article 109894. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109894>
76. Rosset, M., Acquaro, V.R., Beléia, A.D.P. (2014). Protein extraction from defatted soybean flour with Viscozyme L Pretreatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 784–790. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12030>
77. Wei, C.-L., Lu, W., Yang, J., Wang, M.-P., Yang, X.-Q., Wang, J.-M. (2018). Physicochemical properties of soy protein prepared by enzyme-assisted countercurrent extraction. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(6), 1389–1396. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13716>
78. Zhao, Y., Tian, R., Xu, Z., Jiang, L., Sui, X. (2023). Recent advances in soy protein extraction technology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 100(3), 187–195. <https://doi.org/10.1002/aocs.12676>
79. Sari Y. W., Sanders J. P.M., Bruins M.E (9–10 October 2015). *Techno-economical evaluation of protein extraction for microalgae biorefinery*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – IOP Publishing, Bogor, Indonesia. 31(1), Article 012034. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/31/1/012034>
80. Kleekayai, T., Khalesi, M., Amigo-Benavent, M., Cermeño, M., Harnedy-Rothwell, P., FitzGerald, R.J. (2023). Enzyme-assisted extraction of plant proteins. Chapter in a book: *Green Protein Processing Technologies from Plants*. Cham: Springer International Publishing, 2023. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-16968-7\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-031-16968-7_6)
81. Mendez, R.L., Kwon, J.Y. (2021). Effect of extraction condition on protein recovery and phenolic interference in Pacific dulse (*Devaleraea mollis*). *Journal of Applied Phycology*, 33(4), 2497–2509. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02467-3>
82. GRAS Notice 327. (2010). GRAS notification for cruciferous-rich and napin-rich protein isolates derived from canola/rapeseed (Puratein® and Supertein™). Retrieved from [https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=327&sort=GRN\\_Noℴ=DESC&startrow=1&type=basic&search=rapeseed](https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=327&sort=GRN_Noℴ=DESC&startrow=1&type=basic&search=rapeseed). Accessed December 23, 2022.
83. Campbell, L., Rempel, C.B., Wanasyndara, J.P. (2016). Canola/Rapeseed protein: Future opportunities and directions-Workshop proceedings of IRC2015. *Plants*, 5(2), Article 17. <https://doi.org/10.3390/plants5020017>
84. EFSA. (2013). Scientific Opinion on the safety of “rapeseed protein isolate” as a Novel Food ingredient. *EFSA Journal*, 11(10), Article 3420. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3420>
85. Von Der Haar, D., Müller, K., Bader-Mittermaier, S., Eisner, P. (2014). Rapeseed proteins—Production methods and possible application ranges. *OCL*, 21(1), Article D104. <https://doi.org/10.1051/ocl/2013038>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p><b>Дегтярев Иван Александрович</b> — магистрант, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Tel.: +7-909-985-58-59 E-mail: Ivand152@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-3842-1391">https://orcid.org/0000-0002-3842-1391</a> * автор для контактов</p> <p><b>Фоменко Иван Андреевич</b> — кандидат технических наук, старший преподаватель, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Tel.: +7-906-036-06-05 E-mail: iv.fomenko@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2478-1705">https://orcid.org/0000-0003-2478-1705</a></p> <p><b>Мижева Айслу Альбертовна</b> — магистрант, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Tel.: +7-961-453-12-93 E-mail: mizhevaaislu@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0847-0819">https://orcid.org/0000-0003-0847-0819</a></p> <p><b>Серба Елена Михайловна</b> — доктор биологических наук, доцент, профессор РАН, член-корреспондент РАН, Заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Tel.: +7-916-515-92-73 E-mail: serbae@mail.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-1660-2634">http://orcid.org/0000-0002-1660-2634</a></p> <p><b>Машенцева Наталья Геннадьевна</b> — доктор технических наук, профессор, профессор РАН, профессор кафедры «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Tel.: +7-916-812-76-59 E-mail: natali-mng@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9287-0585">https://orcid.org/0000-0002-9287-0585</a></p>	<p><b>Ivan A. Degtyarev</b>, Master Student, Department “Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-909-985-58-59 E-mail: Ivand152@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-3842-1391">https://orcid.org/0000-0002-3842-1391</a> * corresponding author</p> <p><b>Ivan A. Fomenko</b>, Candidate of Technical Sciences, Senior Lecturer, Department “Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-906-036-06-05 E-mail: iv.fomenko@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2478-1705">https://orcid.org/0000-0003-2478-1705</a></p> <p><b>Aislu A. Mizheva</b>, Master Student, Department “Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-961-453-12-93 E-mail: mizhevaaislu@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0847-0819">https://orcid.org/0000-0003-0847-0819</a></p> <p><b>Elena M. Serba</b>, Doctor of Biological Sciences, Docent, Professor of the Russian Academy of Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Research, Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4-B, Samokatnaya str., 4-B111033, Moscow, Russia Tel.: +7-916-515-92-73 E-mail: serbae@mail.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-1660-2634">http://orcid.org/0000-0002-1660-2634</a></p> <p><b>Natalya G. Mashentseva</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Professor, “Department Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products”, Professor of the Russian Academy of Sciences, Russian Biotechnological University 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-916-812-76-59 E-mail: natali-mng@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-9287-0585">https://orcid.org/0000-0002-9287-0585</a></p>
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat.	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/10.21323/2618-9771-2023-6-2-171-179>

Поступила 14.03.2023

Поступила после рецензирования 18.05.2023

Принята в печать 23.05.2023

© Нициевская К. Н., Станкевич С. В., Бородай Е. В., 2023

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

Научная статья

Open access

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИШАЙНИКА *CETRÁRIA ISLÁNDICA* ПОСЛЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Нициевская К. Н., Станкевич С. В., Бородай Е. В.\*

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, г. п. Краснообск, Новосибирская область, Россия

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

*цетрария исландская,*  
*окислительно-*  
*восстановительный потенциал,*  
*вязкость, оптическая*  
*плотность, активная*  
*кислотность*

**АННОТАЦИЯ**

Неотъемлемой частью здорового питания является поступление в организм человека биологически активных соединений. Экстракция — важнейший этап выделения из растений различных биоактивных веществ, и эффективность их извлечения повышается в совокупности с ультразвуковой обработкой. Цель данного исследования — изучить влияние различных видов водной среды и способов обработки на цетрарию исландскую, в том числе с использованием принципов ультразвуковой обработки и методом макерации (настаивание). Экспериментальные исследования заключались в установлении влияния активной кислотности водной среды (растворителя) и метода воздействия при проведении экстракции на ряд физико-химических и реологических показателей. Исследованы опытные образцы экстрактов по следующим показателям: активная кислотность и окислительно-восстановительный потенциал, выявленные с помощью ионометрического метода; динамическая вязкость и глубина выхода полимерных форм фенольных веществ, установленные измерением оптической плотности и коэффициента пропускания. Проведена математическая обработка данных с использованием регрессионного анализа. Результаты представлены в виде графиков, таблиц и уравнений регрессии. Установлено, что переход веществ из цетрарии исландской в экстракти из нее имели высокие результаты при  $\text{pH} = 7,0$  и  $\text{pH} = 9,0$  растворителя. При получении экстрактов методом настаивания количество полимерных соединений в процессе перехода в 1,3 раза превышало число мономерных форм фенольных соединений. Наибольшее значение по исследуемому показателю «динамическая вязкость» было выявлено в образце экстракта, полученном методом настаивания в щелочной среде. Выделенные экстракти могут быть применены при моделировании пищевых систем.

Received 14.03.2023

Accepted in revised 18.05.2023

Accepted for publication 23.05.2023

© Nitsievskaya K. N., Stankevich S. V., Boroday E. V., 2023

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

Original scientific article

Open access

# EXAMINATION OF THE EXTRACT FROM LICHEN (*CETRARIA ISLANDICA*) AFTER AN ULTRASONIC IMPACT

Kseniya N. Nitsievskaya, Svetlana V. Stankevich, Elena V. Boroday\*

Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

**KEY WORDS:**

*Cetraria islandica,*  
*redox potential, viscosity,*  
*optical density, active acidity*

**ABSTRACT**

An integral part of human healthy nutrition is intake of biologically active substances. Extraction is an important stage of isolation of different bioactive substances from plants and effectiveness of their extraction increases with the use of ultrasonic treatment. The aim of this research was to study an effect of different types of aqueous media and treatment methods on *Cetraria islandica*, including the use of principles of ultrasonic treatment and maceration methods (infusion). The experimental studies consisted in detecting an effect of the active acidity of the aqueous medium (solvent) and method of impact upon extraction on several physico-chemical and rheological indicators. The experimental samples of extracts were examined by the following indicators: active acidity and redox potential detected by the ionometric technique; dynamic viscosity and the depth of output of polymeric forms of phenolic substances determined by measuring the optical density and transmission coefficient. Mathematical processing of data using the regression analysis was carried out. The results are presented as graphs, tables and regression equations. It has been established that transfer of substances from *Cetraria islandica* to its extracts had high results at  $\text{pH} = 7.0$  and  $\text{pH} = 9.0$  of the solvent. When obtaining extracts by the infusion method, the quantity of polymeric compounds in the transition process was 1.3 times higher than the quantity of monomeric forms of phenolic compounds. The highest value of the dynamic viscosity was revealed in the extract sample obtained by the infusion method in the alkaline medium. The extracts obtained can be used in food system modeling.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Нициевская, К. Н., Станкевич, С. В., Бородай, Е. В. (2023). Исследование экстракта из лишайника *Cetraria islandica* после ультразвукового воздействия. Пищевые системы, 6(2), 171-179. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-171-179>

FOR CITATION: Nitsievskaya, K. N., Stankevich, S. V., Boroday, E. V. (2023). Examination of the extract from lichen (*Cetraria islandica*) after an ultrasonic impact. Food Systems, 6(2), 171-179. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-171-179>

## 1. Введение

В условиях современного рынка актуальные научные разработки в сфере перерабатывающей промышленности должны быть значимыми в рамках стратегии государственной политики. Эта стратегия направлена на повышение качества пищевой продукции и ориентирована на обеспечение полноценного питания. При этом конкурентоспособность отечественной продукции на внутреннем и международном рынках формируется за счет продвижения товара и его гастрономических характеристик. Данный аспект базируется на развитии принципов пищевой комбинаторики с использованием модифицированных технологий производства блюд национальной кухни.

Актуальность работы основана на задачах Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года<sup>1</sup>, заключающихся в возрождении производства пищевых ингредиентов, направленных на профилактику неинфекционных заболеваний и на разработку технологий производства пищевой продукции, основанной на продвижении принципов здорового питания.

В работе предлагается использовать потенциал растительного сырья для выявления и отбора уникальных по химическому составу продуктов местного происхождения с целью получения продуктов питания.

Заслуживает внимания практическое применение местных дикоросов (лишайников), не требующих значительных затрат на сбор. Ранее проведенные исследования показали, что такие нетрадиционные фитогенные компоненты растения обладают антимикробными, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Кроме того, они оказывают стимулирующее действие на пищеварительную систему, способствуя увеличению выработки пищеварительных ферментов и улучшению работы печени [1].

Исследование проводили на экстракте из смеси сухих слоевищ цетрарии исландской. Цетрария исландская (исландский лишайник, исландский мох) — *Cetraria Islandica* (L.) Асн. семейства пармелиевых (*Parmeliaceae*). В природе представляет собой лишайник с кустистым, прямостоячим, реже — с беспорядочно распространенным слоевищем, состоящим из компактно расположенных вертикальных лопастей. В слоевище цетрарии исландской установлено высокое содержание (30–70%) углеводов [2]. Большую часть их составляет полисахарид лихенин. Кроме того, слоевища содержат 2–3% кристаллического горького вещества цетрарина (цетрариевой кислоты), 1–2% минеральных солей, небольшое количество камеди, витаминов группы В, лихестериновой, протолихестериновой, фумаропротоцетраровой, аскорбиновой и фолиевой кислот [1,2]. Слизистые вещества цетрарии исландской действуют обволакивающим образом на слизистые оболочки. Ее применяют при воспалении желудочно-кишечного тракта в форме отвара; она входит в состав сборов (чаев), показана для лечения легочных заболеваний, в том числе как симптоматическое средство при туберкулезе легких, анемиях [3].

В настоящее время повышается интерес исследователей к разработке альтернативных методов существующим технологическим способам обработки пищевого сырья. Ультразвук привлекает внимание отечественных и зарубежных ученых как экономичный и перспективный способ, обладающий значительным потенциалом совершенствования технологических продуктов. При использовании ультразвука установлено нелинейное увеличение массы экстракта, а по-

ложительный эффект объясняется механизмом растяжения и сжатия, сопряженным с эффектами пульсации [4]. Обработка в условиях ультразвуковых воздействий предполагает повышение интенсивности процессов экстрагирования и турбулизации системы под действием кавитационных эффектов [5].

Ультразвук широко используется в технологии различных производств и имеет большие перспективы для дальнейшего применения с целью выделения разных групп биологически активных веществ без изменения их структуры [6]. Среди различных методов экстракции наиболее высокой эффективностью обладает ультразвуковое экстрагирование природного сырья. Применение этого метода способствует усилению проницаемости клеточных мембран и диффузных процессов, изменению концентрации водородных ионов в тканях, а также расщеплению высокомолекулярных соединений [7]. По своей физической сущности ультразвук — это упругие колебания в диапазоне частоты от 20 кГц до 1 кГц. В основе лежит принцип отражения и рассеяния звуковых волн, аналогичный световым волнам [8]. Экстрагирование ультразвуком позволяет улучшать технологические процессы, обеспечивающие качество продуктов.

С целью повышения эффективности извлечения биологически активных соединений применяют физические методы экстракции. Использование новых технологий экстракции, известных как зеленая химия, является актуальным, поскольку они сокращают время экстракции и снижают потребление энергии [9].

В зависимости от интенсивности, ультразвук используется для активации или деактивации ферментов, для смешивания и гомогенизации, эмульгирования, диспергирования, консервирования, стабилизации, растворения и кристаллизации, гидрирования, а также в качестве вспомогательного средства для твердожидкостной экстракции с целью маcирования [10].

Экстракция с помощью ультразвука позволяет извлекать биоактивные компоненты за гораздо меньший промежуток времени, при низкой температуре, с меньшими затратами энергии и растворителя. Данный метод интерпретируется как способ нетермической экстракции для сохранения функциональности биологически активных соединений. Переменные, связанные с методом — частота, мощность, температура, время, тип растворителя, соотношение среды жидкость/твердое вещество, — должны быть оптимизированы для каждого побочного продукта [11].

Среди методов нетермической обработки ультразвуковая технология, используемая отдельно или в сочетании с другими методами обработки, дает значительные положительные результаты в отношении качества пищевых продуктов. Это считается новой и многообещающей технологией, которая эффективно применяется в пищевой промышленности, что приводит к повышению производительности процесса и улучшает показатели качества пищевых продуктов [12].

Научно доказана эффективность сухого экстракта из слоевищ цетрарии исландской и лекарственных средств на их основе в терапии генерализованного туберкулеза, миокарда, мастопатии. В составе *C. islandica* обнаружено больше 10 полезных микроэлементов: активный компонент лихенин, изолихенин, сахара, воск, камедь, марганец, железо, йод, медь, титан, пигменты, лишайниковые кислоты (усниновая, лихестериновая, протолихестериновая, фумаропротоцентраровая и другие). Кислоты придают растению горечь, а также обуславливают его антисептические и тонизирующие свойства. Богатый состав микроэлементов, наличие полисахаридов способствуют укреплению защитных сил организма человека [3].

<sup>1</sup> Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года (Распоряжение Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 г. № 1364-р). Электронный ресурс <https://docs.cntd.ru/document/420363999> Дата обращения 02.02.2023.

Целью данного исследования является изучение влияния различных водных сред и способов обработки, в том числе с использованием принципов ультразвуковой обработки и метода мацерации (настаивание) на получение экстрактов из сухой смеси слоевищ цетрарии исландской. В работе представлены данные физико-химических и реологических характеристик, в том числе проницаемость (оптическая плотность), активная кислотность и динамическая вязкость образцов. С помощью современных технологических приемов и оборудования полученные экстракты возможно использовать в производстве пищевых продуктов питания.

## 2. Объекты и методы

Объектами исследования являлись экстракты из сухой смеси слоевищ цетрарии исландской. Готовое сырье состоит из хорошо высушенных, твердых, хрящеватых, напоминающих кустики слоевищ. Цвет сверху бурый, зеленоватый или черно-бурый, снизу более светлый, в основании — киноварно-красный. Запах отсутствует, вкус горький, с ощущением слизистости. Содержание влаги не более 10%, допустимых органических примесей (хвоя, мох и др.) не более 5%, минеральных — не более 1%. В качестве контрольной группы — экстракты, полученные методом настаивания (мацерации), с использованием перемешивающего устройства типа Water bath shaker type 357 (Elpan, Польша) при температуре  $55 \pm 1^{\circ}\text{C}$  в течение 120 минут. Метод мацерации для приготовления экстракта включал получение навески слоевищ цетрарии исландской весом в 5 г, которую помещали в термоустойчивые стаканы и добавляли дистиллированную воду, объем растворителя составлял 100 мл. Кинетику экстракции изучали в течение 120 минут с отбором проб каждые 30 минут. В качестве растворителя применяли очищенную воду при  $\text{pH}=7,0$  и температуре  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

В качестве сравнения использовали ультразвуковую обработку, при этом готовили навески весом в 4 г (измельченного сухого растительного сырья не более  $\varnothing 10$  мм и 400 мл воды), обработку проводили с применением ультразвуковой системы марки QUICK218-3560D («Элком», Россия) в непрерывном режиме при частоте воздействия 40 кГц, в условиях постепенного нагрева до температуры  $55 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Кинетику экстракции изучали в течение 30 минут. Пробы отбирали через равные промежутки времени в интервале 5 минут, начиная с 10 минут обработки. В качестве растворителя при моделировании пищевых систем с использованием цетрарии исландской могут выступать среды с различной  $\text{pH}$ , с этой целью в лабораторных условиях созданы буферные растворы с  $\text{pH}=3,9$  и 9,0 ед. В качестве среды для растворения и уменьшения погрешности исследований применяли очищенную воду в диапазоне  $\text{pH} 3,9\text{--}9,0$  при температуре  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Кислотность водной среды регулировали с использованием 0,1Н раствора соляной кислоты до  $\text{pH}=3,9$  и 0,1Н гидроокиси натрия до  $\text{pH}=9,0$ .

В процессе исследования изучали образцы по следующим показателям: активная кислотность ( $\text{pH}$ ) и окислительно-восстановительный потенциал ( $Eh$ , мВ) с помощью ионометрического метода с использованием  $\text{pH}$ -метра марки «Нитрон» («Биомер», Россия), который был откалиброван по стандартным показателям буфера  $\text{pH}$  с погрешностью измерений  $\pm 0,03$  ед. Измерения проводили в диапазоне температуры  $T=20,0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Температуру измеряли термометром Testo 905-T1 (Testo, Германия) с погрешностью измерений  $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ . Проводили анализ изменения показателя «динамическая вязкость», измеряли на аппарате вибропсизометре серии SV-1A (A&D, Япония) в единицах измерений  $\text{mPa}\cdot\text{s}$ , откалиброванном согласно методике исследований с погрешностью измерений  $\pm 0,3 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ . Эталоном

сравнения выступала вязкость воды  $1,0 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ . В качестве разделителя применяли тканевые фильтры (нейлон фильтровальный 80 мкр).

Коэффициент водопоглощения ( $K_{\text{эн}}$ ) рассчитывают по следующей формуле, указанной в ОФС.1.5.3.0012.15<sup>2</sup> и [13]:

$$K_{\text{эн}} = \frac{V_1 - V_2}{a} \quad (1),$$

где  $V_1$  — объем, взятый для экстракции, мл;

$V_2$  — объем, полученный в процессе экстракции, мл;

$a$  — масса сырья, взятого для экстракции.

Коэффициент набухания ( $\alpha$ ) рассчитывали по формуле [14]:

$$\alpha = \frac{m_{\text{набух}} - m_{\text{сух}}}{m_{\text{сух}}} \quad (2),$$

где  $m_{\text{набух}}$  и  $m_{\text{сух}}$  — массы набухшей и сухой навески, г.

Кинетику процесса набухания изучали согласно методу, приведенному в работе авторов [15]. Степень набухания определяли по следующей формуле:

$$W_t = \frac{V}{m} \quad (3),$$

где  $W_t$  — степень набухания, мл/г;

$V$  — объем, занимаемый образцом, мл;

$m$  — вес исходного образца, г.

Глубину выхода полимерных форм фенольных веществ определяли измерением оптической плотности ( $D$ ) и коэффициента пропускания ( $T \%$ ) полученных опытных образцов на колориметре фотоэлектрическом концентрационном КФК-2 (ЗОМЗ, Россия). Для этого использовали световой фильтр № 2 с длиной волны 440 нм и 540 нм в кювете со слоем толщиной 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали очищенную воду. Исследование коэффициента пропускания ( $T \%$ ) позволяет судить о прозрачности образцов, а изучение оптической плотности — о выделении красящих веществ, поскольку полученные образцы имели разную интенсивность при выражении оптической плотности. Оптическую плотность ( $D$ ) определяли по формуле [16]:

$$D = A_{440,540} \times N \quad (4),$$

где  $A_{540}$  — количественное значение при  $\lambda=440$  или 540 нм;

$N$  — фактор разбавления.

Из литературных данных, длина волны  $\lambda=440$  нм характеризовала содержание полимерных форм фенольных соединений в процессе обработки слоевища цетрарии, при  $\lambda=540$  нм — содержание мономерных соединений [17, 18].

Математическую обработку данных с использованием регрессионного анализа проводили с помощью программ Statistica 12 и Exsel, опыты проводились в трехкратной повторности со статистической значимостью. Проверка адекватности уравнений регрессии проводилась с применением F-критерия Фишера. Значимость коэффициентов регрессии оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. За контролируемые параметры взяты следующие показатели: активная кислотность ( $\text{pH}$ , ед.), окислительно-восстановительный потенциал ( $Eh$ , мВ), температура ( $t$ ,  $^{\circ}\text{C}$ ), динамическая вязкость ( $\text{mPa}\cdot\text{s}$ ), коэффициент водопоглощения ( $K_{\text{эн}}$ ), коэффициент набухания ( $\alpha$ ), степень набухания ( $W_t$ ). Глубину выхода полимерных форм фенольных веществ определяли измерением оптической плотности ( $D$ ) и коэффициента пропускания ( $T \%$ ).

<sup>2</sup> ОФС.1.5.3.0012.15 Определение коэффициента водопоглощения и расходного коэффициента лекарственного растительного сырья. Электронный ресурс <https://pharmacopoeia.ru/ofc-1-5-3-0012-15-opredelenie-koeffitsienta-vodopogloscheniya-i-rashodnogo-koeffitsienta-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya/> Дата обращения 02.02.2023.

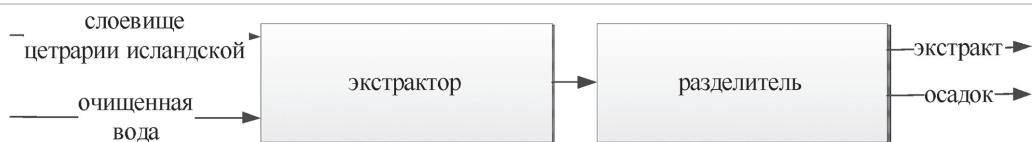


Рисунок 1. Принципиальная схема проведения экстракции (в качестве экстрактора выступает перемешивающее устройство, в качестве разделителя – тканевый фильтр)  
 Figure 1. Flowchart of extraction (a mixing device was used as an extractor, fabric filter as a separator)

В исследовании предусматривали визуальную оценку прозрачности и цвета образцов. Качественной характеристикой образцов считали цвет. Изучаемая характеристика определялась на основании возникающего зрительного ощущения. Прозрачность образцов оценивали визуально в стеклянных пробирках в проходящем естественном свете согласно ГОСТ 6687.5–86<sup>3</sup> на белом фоне.

Принципиальная схема экстракции приведена на Рисунке 1.

Кодировка образцов осуществлялась в следующей последовательности и представлена в Таблице 1.

Таблица 1. Кодировка образцов экстрактов (при  $p \leq 0,05$ )

Table 1. Coding of the extract samples (at  $p \leq 0.05$ )

Кодировка образца	Температура, $T^*$ , °C	Продолжительность, $\tau$ мин
Методом настаивания		
Растворитель – очищенная вода ( $pH = 7,0$ )		
к.0	28,1	0
к.1	55,0	30
к.2	55,0	60
к.3	55,0	90
к.4	55,0	120
Ультразвуковая обработка		
Растворитель – очищенная вода ( $pH = 7,0$ )		
1.1.	28,1	0
1.2.	40,4	10
1.3.	50,1	20
1.4.	57,1	30
Растворитель – очищенная вода ( $pH = 3,9$ )		
2.1.	30,0	0
2.2.	36,4	10
2.3.	41,0	20
2.4.	44,5	30
Растворитель – очищенная вода ( $pH = 9,0$ )		
3.1.	29,8	0
3.2.	41,7	10
3.3.	50,4	20
3.4.	57,3	30

\* Примечание: при исследовании температуры методом настаивания отклонение составляет  $\pm 1^\circ\text{C}$ , при ультразвуковой обработке  $\pm 2^\circ\text{C}$

### 3. Результаты и обсуждение

Экстракцию проводили для анализа адсорбционных свойств при статических условиях, используя постоянные константы объема воды и навески.

Результаты исследования показателя водопоглощения, степени набухаемости и коэффициента набухания представлены в Таблице 2.

<sup>3</sup> ГОСТ 6687.5–86 Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения органолептических показателей и объема продукции. Москва: Издательство стандартов, 1994. – 9 с.

Таблица 2. Исследование показателя водопоглощения, степени набухаемости и коэффициента набухания образцов (при  $p \leq 0,10$ )

Table 2. Determination of water absorption coefficient, degree of swelling capacity and swelling coefficient of the samples (at  $p \leq 0.10$ )

Код образца	Коэффициент водопоглощения (Квп)	Степень набухания (W), мл/г	Коэффициент набухания ( $\alpha$ )
к.0	0	0	0
к.1	3,6	6,52	2,07
к.2	6,4	6,00	2,34
к.3	8,0	5,94	2,37
к.4	8,8	5,93	2,37

Анализ данных Таблицы 2 указывал на повышение исследуемых показателей при увеличении продолжительности обработки (метод настаивания) использовали как контрольное исследование.

Основной задачей применения ультразвуковой системы является равномерное распределение акустических волн по всему обрабатываемому объему [1]. Динамику экстракции определяли путем измерения показателя проницаемости (%) и оптической плотности (D) исследуемых растворов (Рисунки 2, 3).

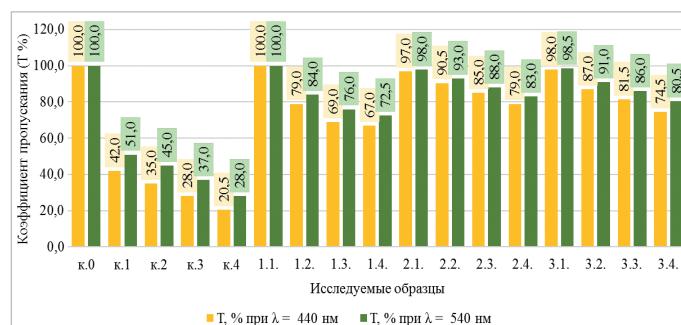


Рисунок 2. Динамика изменения коэффициента пропускания ( $T, \%$ ), при  $p \leq 0,10$

Figure 2. Dynamics of the change in the transmission coefficient ( $T, \%$ ) at  $p \leq 0.10$

Уравнение регрессии коэффициента пропускания ( $T, \%$ ) для выбранных растворителей имеет следующий вид (5–12):

- растворитель – очищенная вода ( $pH = 7,0$ ); образцы, полученные методом настаивания:

при  $\lambda = 440$  нм:

$$y = 65,94 - 1,73x, R^2 = 0,51, F\text{-критерий} = 0,175 \quad (5)$$

при  $\lambda = 540$  нм:

$$y = 71,64 - 1,62x, R^2 = 0,57, F\text{-критерий} = 0,142 \quad (6)$$

- растворитель – очищенная вода ( $pH = 7,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

при  $\lambda = 440$  нм:

$$y = 95,1 - 1,09x, R^2 = 0,87, F\text{-критерий} = 0,069 \quad (7)$$

при  $\lambda = 540$  нм:

$$y = 96,7 - 0,91x, R^2 = 0,91, F\text{-критерий} = 0,04 \quad (8)$$

- растворитель – очищенная вода ( $pH = 3,9$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

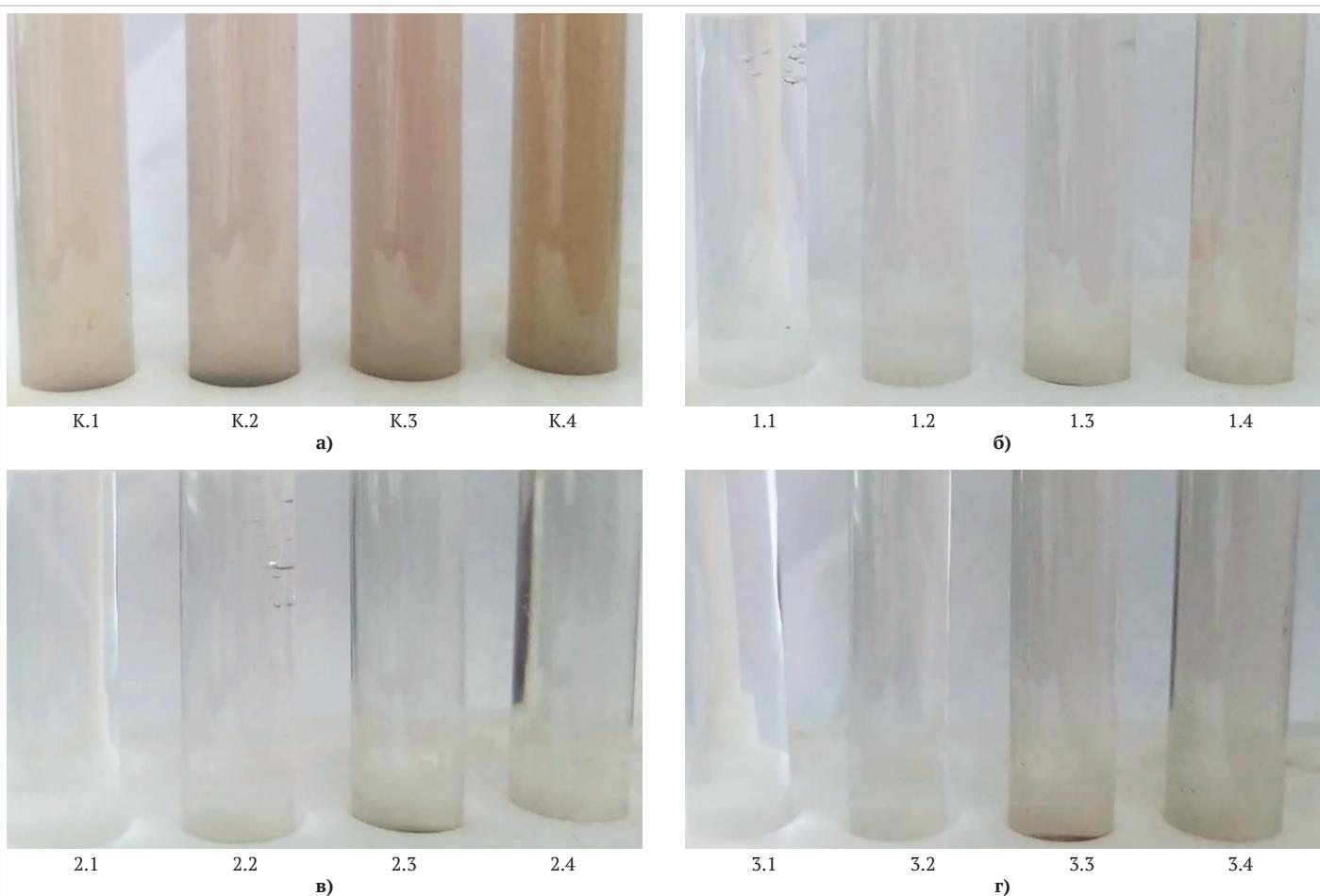


Рисунок 3. Показатели цвета образцов: а) растворитель – очищенная вода ( $\text{pH} = 7,0$ ), полученные методом настаивания; б) растворитель – очищенная вода ( $\text{pH} = 7,0$ ), полученные с применением ультразвуковых воздействий; в) растворитель – очищенная вода ( $\text{pH} = 3,9$ ), полученные с применением ультразвуковых воздействий; г) растворитель – очищенная вода ( $\text{pH} = 9,0$ ), полученные с применением ультразвуковых воздействий

Figure 3. Color indicators of the samples: a) obtained using the infusion method, solvent – purified water ( $\text{pH} = 7,0$ ); б) obtained using ultrasound impacts, solvent – purified water ( $\text{pH} = 7,0$ ); в) obtained using ultrasound impacts, solvent – purified water ( $\text{pH} = 3,9$ ); г) obtained using ultrasound impacts, solvent – purified water ( $\text{pH} = 9,0$ )

при  $\lambda = 440 \text{ нм}$ :

$$y = 96,8 - 0,59x, R^2 = 0,99, F\text{-критерий} = 0,0005 \quad (9)$$

при  $\lambda = 540 \text{ нм}$ :

$$y = 98,0 - 0,5x, R^2 = 0,99, F\text{-критерий} = 0,0005 \quad (10)$$

□ растворитель – очищенная вода ( $\text{pH} = 9,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

при  $\lambda = 440 \text{ нм}$ :

$$y = 96,65 - 0,76x, R^2 = 0,98, F\text{-критерий} = 0,011 \quad (11)$$

при  $\lambda = 540 \text{ нм}$ :

$$y = 97,85 - 0,59x, R^2 = 0,99, F\text{-критерий} = 0,004 \quad (12)$$

Данные Рисунка 3 указывали на снижение проницаемости водной среды с увеличением времени обработки цетраприи исландской. Эти изменения выражались в трансформации цвета образцов в более коричневые тона и наиболее ярко проявлялись в процессе настаивания (Рисунок 4).

Показатели цвета образцов № 1.1–3.4, представленные на Рисунке 3, мало различимы человеческим глазом. Если проанализировать данные Рисунка 2 при  $\lambda = 540 \text{ нм}$  (выбор данной длины волн объясняется чувствительностью к свету человеческим глазом в зеленой части спектра), можно сделать заключение об изменении насыщенности во всех образцах в связи с применением ультразвукового воздействия, также насыщенность повышается с продолжительностью времени обработки растительного сырья. Цвет выра-

жен в образцах в кислой водной среде ( $\text{pH} = 3,9$ ), при этом коэффициент пропускания составляет 83%; в щелочной среде этот показатель равен 80,5%, в нейтральной – 72,5%.

Данные Рисунка 4 указывают, что при использовании метода «настаивание» для получения экстрактов полимерные соединения переходят в экстракт примерно в 1,3 раза больше в сравнении с мономерными формами фенольных соединений.

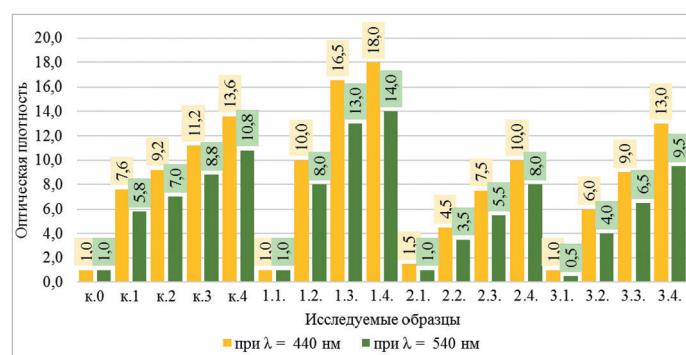


Рисунок 4. Анализ изменения оптической плотности, ед. (при  $p \leq 0,10$ )

Однако при изменении кислотности растворителя до  $\text{pH} = 9,0$  в контрольном образце (образец № 3.1) разница увеличивается по приоритетному переходу полимерных

форм в 2 раза, в последующих образцах (образцы № 3.2–3.4) – в 1,5 раза. При сравнении образцов с одинаковым растворителем ( $\text{pH}=7,0$ ) при использовании метода обработки «настаивание» в течение 120 минут (образец № к.4) содержание полимерных фенольных соединений увеличивается в 13,6 раза, мономерных – в 10,89 раза. При ультразвуковой обработке (образец № 1.4) их количество возрастает в 18 и 14 раз соответственно. Кислая среда ( $\text{pH}=3,9$ ) на начальном этапе составления водной среды показывала увеличение количества фенольных соединений в 1,5 раза в сравнении с растворителем  $\text{pH}=7,0$ . При экстрагировании в кислой среде в кислой среде в образце № 2.4 максимальный переход исследуемых соединений был выше по сравнению с растворителем в 10 раз при  $\lambda=440$  нм и в 8 раз – при  $\lambda=540$  нм. Вероятно, это связано с выпадением в осадок фенольных форм в условиях кислой среды  $\text{pH}=3,9$ . В щелочной среде ( $\text{pH}=9,0$ ) при  $\lambda=440$  нм исследуемый показатель увеличился в 13 раз, а при  $\lambda=540$  нм – в 9,5 раза. Переход веществ из цетрарии исландской в экстракты имели высокие результаты при  $\text{pH}=7,0$  и  $\text{pH}=9,0$ .

Уравнение регрессии оптической плотности ( $D$ ) для выбранных растворителей имеет следующий вид (13–20):

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные методом настаивания:  
при  $\lambda=440$  нм:

$$y=4,76 \pm 0,31x, R^2=0,73, F\text{-критерий}=0,064 \quad (13)$$

при  $\lambda=540$  нм:

$$y=3,69 \pm 0,24x, R^2=0,77, F\text{-критерий}=0,050 \quad (14)$$

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:  
при  $\lambda=440$  нм:

$$y=2,75 \pm 0,57x, R^2=0,92, F\text{-критерий}=0,040 \quad (15)$$

при  $\lambda=540$  нм:

$$y=2,4 \pm 0,44x, R^2=0,91, F\text{-критерий}=0,044 \quad (16)$$

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=3,9$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:  
при  $\lambda=440$  нм:

$$y=1,6 \pm 0,29x, R^2=0,99, F\text{-критерий}=0,0009 \quad (17)$$

при  $\lambda=540$  нм:

$$y=1,05 \pm 0,23x, R^2=0,99, F\text{-критерий}=0,0009 \quad (18)$$

растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=9,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:  
при  $\lambda=440$  нм:

$$y=1,4 \pm 0,39x, R^2=0,99, F\text{-критерий}=0,005 \quad (19)$$

при  $\lambda=540$  нм:

$$y=0,7 \pm 0,30x, R^2=0,99, F\text{-критерий}=0,002 \quad (20)$$

Исследовано изменение активной кислотности в экстрактах из цетрарии исландской с использованием растворителя в диапазоне  $\text{pH}=3,9; 7,0$  и  $9,0$ . Материал представлен на Рисунке 5.

Уравнение регрессии активной кислотности ( $\text{pH}$ ) для выбранных растворителей имеет следующий вид (21–24):

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные методом настаивания:

$$y=4,69 \pm 0,0031x, R^2=0,87, F\text{-критерий}=0,063 \quad (21)$$

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y=5,08 \pm 0,013x, R^2=0,90, F\text{-критерий}=0,049 \quad (22)$$

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=3,9$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y=4,67 \pm 0,007x, R^2=0,96, F\text{-критерий}=0,018 \quad (23)$$

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=9,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y=6,056 \pm 0,04x, R^2=0,82, F\text{-критерий}=0,092 \quad (24)$$

Показатель активной кислотности экстрактов из цетрарии исландской варьирует в пределах  $5,0 \pm 1,0$  ед., и при использовании растворителя с уровнем  $\text{pH}$ , равным 9,0 (щелочная среда), происходит стабилизация водной среды до  $\text{pH}=5,0$  ед.

Обобщены данные по окислительно-восстановительному потенциалу (Рисунок 6), материалы представлены в виде диаграммы.

Уравнение регрессии окислительно-восстановительного потенциала ( $Eh$ , мВ) для выбранных растворителей имеет следующий вид (25–28):

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные методом настаивания:

$$y=153,5 \pm 0,295x, R^2=0,91, F\text{-критерий}=0,044 \quad (25)$$

- растворитель – очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y=96,7 \pm 0,305x, R^2=0,83, F\text{-критерий}=0,090 \quad (26)$$

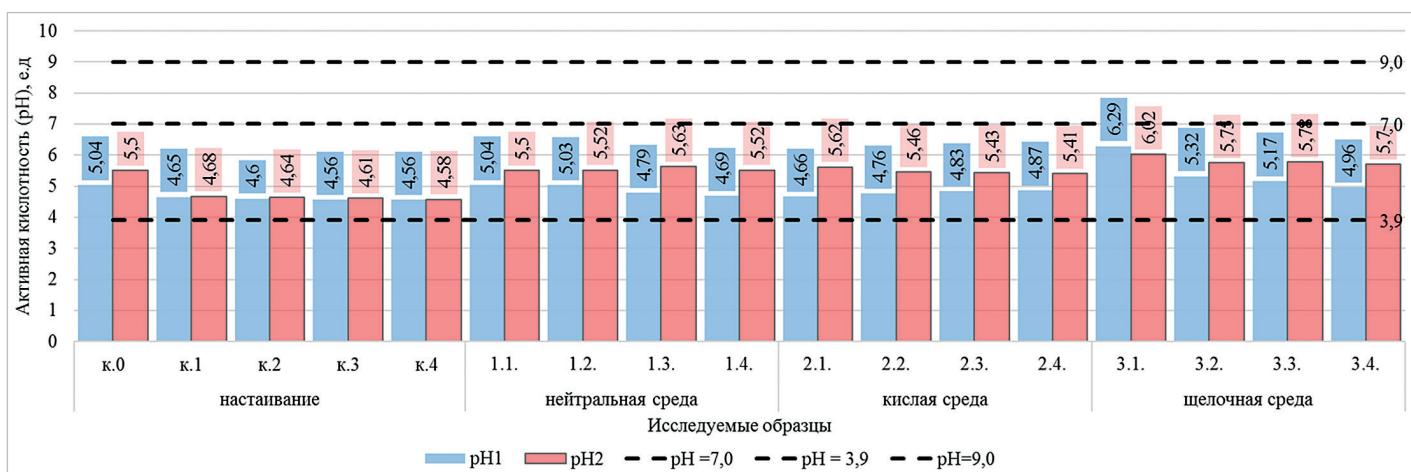


Рисунок 5. Исследования активной кислотности образцов (при  $t=20,0 \pm 1^\circ\text{C}$ ) при  $p \leq 0,10$

Примечание: pH1 – исследование pH после охлаждения до температуры  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ; pH2 – исследование pH после хранения в течение 30 суток при температуре  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  с дальнейшим выравниванием температуры до  $20 \pm 1^\circ\text{C}$

Figure 5. Examination of the active acidity of the samples (at  $t=20.0 \pm 1^\circ\text{C}$ ) at  $p \leq 0.10$

Note: pH1 – pH measurement after cooling to a temperature of  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ; pH2 – pH measurement after storage at a temperature of  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  for 30 days with the following temperature equalization up to  $20 \pm 1^\circ\text{C}$



Рисунок 6. Исследование окислительно-восстановительного потенциала (Eh, мВ) при  $p \leq 0,10$

Figure 6. Investigation of the redox potential (Eh, mV) at  $p \leq 0.10$

- растворитель — очищенная вода ( $\text{pH}=3,9$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y = 74,6 \pm 0,416x, R^2 = 0,97, F\text{-критерий} = 0,015 \quad (27)$$

- растворитель — очищенная вода ( $\text{pH}=9,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y = 108,12 - 0,042x, R^2 = 0,60, F\text{-критерий} = 0,225 \quad (28)$$

Обобщены данные по показателю «вязкость» (Рисунок 7). Материалы, представленные в виде диаграммы, указывают на изменения показателя вязкости во всех образцах, при этом за контроль принял показатель вязкости воды, равный 1,0  $\text{mPa} \cdot \text{s}$ .



Рисунок 7. Показатель динамической вязкости водной среды образцов,  $\text{mPa} \cdot \text{s}$ , при  $p \leq 0,10$

Figure 7. Dynamic viscosity of the aqueous medium of the samples,  $\text{mPa}^* \text{s}$ , at  $p \leq 0.10$

Уравнение регрессии вязкости для выбранных растворителей имеет следующий вид (29–32):

- растворитель — очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные методом настаивания:

$$y = 1,43 \pm 0,02x, R^2 = 0,74, F\text{-критерий} = 0,063 \quad (29)$$

- растворитель — очищенная вода ( $\text{pH}=7,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y = 1,23 \pm 0,0006x, R^2 = 0,90, F\text{-критерий} = 0,051 \quad (30)$$

- растворитель — очищенная вода ( $\text{pH}=3,9$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y = 1,11 \pm 0,012x, R^2 = 0,89, F\text{-критерий} = 0,057 \quad (31)$$

- растворитель — очищенная вода ( $\text{pH}=9,0$ ); образцы, полученные с применением ультразвуковых воздействий:

$$y = 1,41 \pm 0,006x, R^2 = 0,64, F\text{-критерий} = 0,201 \quad (32)$$

За сравнение приняли значение динамической вязкости воды при температуре  $T=20^\circ\text{C}$ , равное 1  $\text{mPa} \cdot \text{s}$ , исследование образцов проводилось при температуре  $T=20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Наибольшее значение по исследуемому показателю выяв-

лено в образцах № к.4 (при получении экстракта методом настаивания), № 3.4 (при использовании растворителя щелочной среды). В остальных образцах также обнаружено смещение вязкости относительно стандарта (1,0  $\text{mPa} \cdot \text{s}$ ) с увеличением продолжительности обработки. Так, образцы № 2.4 и 3.4 имеют более высокие показатели вязкости.

Ученые считают целесообразным использование цетратрии исландской в пищевой промышленности в качестве желирующего агента и источника биологически активных веществ [19]. При моделировании пищевых систем с цетратрией исландской в лаборатории были созданы водные среды с различными уровнями pH, так как в условиях пищевой промышленности используют различные экстрагенты. Например, при проектировании состава шипучих продуктов очень важна кислотность раствора, который образуется после растворения в воде (это могут быть готовые композиции для быстрого приготовления различных минерализованных и безалкогольных напитков) [20].

На основании результатов исследований можно сделать вывод о том, что применение растворов с pH (в кислой и щелочной средах) позволяет провести экстрагирование эффективнее, чем в среде с нейтральным уровнем pH. Данная закономерность подтверждается в исследовании авторов, работающих с ЭХА-растворами, которое указывает на каталитические способности окислительно-восстановительной системы (кислотная среда) с pH 2–5 и восстановительной системы (щелочная среда) с pH 8–12 [21]. В нашей статье проведена оценка возможностей экстрагирования в созданных экспериментально буферных растворах с pH от 3,9 ед. до 9,0 ед., так как при этом можно судить о возможности применения цетратрии исландской в моделировании пищевых систем. Путем обобщения данных по результатам исследований были установлены оптимальные параметры экстрагирования цетратрии исландской. Экстракция с применением ультразвуковых воздействий способна разрушать материал клеточной стенки, тем самым увеличивая выход экстрактивных веществ [22]. Обработка водной среды в условиях ультразвуковых колебаний позволяет повысить интенсивность процессов экстрагирования посредством увеличения площади проницаемости клеток [2]. Методы экстракции сопровождались повышением температуры в процессе обработки (образцы № к.1–к.4). Применение ультразвука обусловлено возникновением кавитации, появляющейся в результате генерации и распространения ультразвуковых волн [9]. В растительном сырье под действием ультразвуковых колебаний возможно проявление специфических процессов, связанных с разрушающим воздействием облучения на клетки в результате термического и биологического воздействия [6]. Ультразвук вызывает локальное повышение температуры, что вызывает разрушение клеточной стенки и, следовательно, прерывает экстракцию фенольных соединений. Это объясняется минимальными изменениями показателей цветности образцов в сравнении с переходом фенольных соединений в исследуемых образцах. Ультразвук позволяет экстрагировать фенольные соединения в водную среду при минимальном переходе красящих веществ, что необходимо при создании цветности продукта с корректируемыми характеристиками. Переход фенольных веществ более выражен при использовании ультразвуковой системы марки QUICK218–3560D для технологической обработки при pH водной среды (образцы 1.3–1.4 имеют максимальные значения). При добавлении в водную среду цетратрия исландская способна сдвинуть pH к значениям  $5,0 \pm 0,5$  ед. и сохранить эти значения в незначительном отклонении при хранении. Данный аспект указывает на стабильность системы в процессе хранения.

В формировании оценки свойств буферных систем большое значение имеет степень активности электронов, которые характеризуют окислительно-восстановительный потенциал. Развитие окислительно-восстановительных процессов обусловлено действием не только кислорода и его активных форм, но и продуктов превращения ферментов [23,24]. Изменение окислительно-восстановительного потенциала определено в образцах при использовании метода настаивания (образцы № к.1–к.4) и объясняется насыщением кислорода водной среды в процессе продолжительной обработки. Выявлено изменение динамической вязкости, указывающее на переход желирующих агентов в водную среду, при этом отмечен лучший переход желирующих веществ при использовании водной среды с нейтральным и щелочным значениями pH.

#### 4. Заключение

- Практическая значимость исследований заключается в удовлетворении потребностей населения в высококачественных продуктах питания растительного происхождения с учетом национальных традиций и развития отечественного рынка пищевой продукции и отрасли гастротуризма.
- Благодаря стабилизирующими свойствам цетратии исландской, стало возможным создание низкокалорийных продуктов, сохраняющих органолептические характеристики традиционных аналогов. В процессе исследования выяснилось, что при использовании экстракта из смеси сухих слоевищ цетратии исландской получается продукт с текучей гелеобразной структурой, который в дальнейшем возможно применить в производстве продуктов питания в качестве желирующего агента.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Freysdottir, J., Omarsdotti, S., Ingolfsdottir, K., Vikingsson, A., Olafsdottir, E. S. (2008). *In vitro and in vivo immunomodulating effects of traditionally prepared extract and purified compounds from Cetraria islandica*. *International Immunopharmacology*, 8(3), 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.11.007>
- Ingolfsdottir, K., Jurcic, K., Fischer, B., Wagner, H. (1994). Immunologically active polysaccharide from *Cetraria islandica*. *Planta Medica*, 60(6), 527–531. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959564>
- Shrestha, G., Clair, L. L. St., O'Neill, K. L. (2015). The immunostimulating role of lichen polysaccharides: A review. *Phytotherapy Research*, 29(3), 317–322. <https://doi.org/10.1002/ptr.5251>
- Абрамов, В. О., Баязитов, В. М., Камлер, А. В., Федулов, И. С., Никонов, Р. В., Симоненко, С. В. и др. (2022). Исследование влияния ультразвука на процесс экстракции полифенолов из виноградных косточек. *Пищевая промышленность*, 11, 88–92. <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.11.11.020>
- Даудова, Т. Н., Исригова, Т. А., Даудова, Л. А., Омарова, М. М. (2021). Интенсификация экстракции антоциановых красителей ультразвуковой обработкой дикорастущих плодов. *Проблемы развития АПК региона*, 1(45), 160–163. [https://doi.org/10.52671/20790996\\_2021\\_1\\_160](https://doi.org/10.52671/20790996_2021_1_160)
- Дьякова, Н. А., Костылева, А. А. (2022). Ультразвуковая экстракция: применение и перспективы в технологии фитопрепаратов (обзор). *Традиционная медицина*, 1(67), 11–19. [https://doi.org/10.54296/18186173\\_2022\\_1\\_11](https://doi.org/10.54296/18186173_2022_1_11)
- Зибарева, Л. Н., Филоненко, Е. С. (2018). Влияние ультразвукового воздействия на экстракцию биологически активных соединений растений семейства Caryophyllaceae. *Химия растительного сырья*, 2, 145–151. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018023703>
- Bhargava, N., Mor, R. S., Kumar, K., Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, Article 105293. <https://doi.org/10.1016/j.ulstch.2020.105293>
- Castañeda-Valbuena, D., Ayora-Talavera, T., Luján-Hidalgo, C., Álvarez-Gutiérrez, P., Martínez-Galero, N., Rocío Meza-Gordillo, R. (2021). Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. *Food and Bioproducts Processing*, 127, 212–224. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.03.002>
- Gallo, M., Ferrara, L., Naviglio, D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A perspective. *Foods*, 7(10), Article 164. <https://doi.org/10.3390/foods7100164>
- Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, Article 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ulstch.2020.105325>
- Singla, M., Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, Article 105506. <https://doi.org/10.1016/j.ulstch.2021.105506>
- Самылина, И. А., Сорокина, А. А., Молчан, Н. В., Рудакова, И. П. (2012). Коэффициенты водопоглощения и набухания лекарственного растительного сырья. *Фармация*, 4, 3–5.
- Kryuchkov, F. A., Ivannikova, L. B. (1999). Hydroxypropylated polysaccharides: application in gel extraction. *Polymer Science, Series A*, 41(9), 948–953.
- Дроздов, Р. А., Кокухова, М. А., Борисова, М. М., Дроздова, Т. А. (2019). Функциональные свойства пищевых волокон, полученных из продуктов переработки овощей. *Научные труды Кубанского государственного технологического университета*, S9, 50–61.
- Зипаев, Д. В., Кожухов, А. Н., Тулина, А. А. (2020). Разработка технологии производства охмеленного лимонада. *Вестник Международной академии холода*, 1, 97–102. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-1-97-102>
- Колдаев, В. М. (2015). Спектрофотометрические показатели извлечений из ревеня. *Тихоокеанский медицинский журнал*, 2(60), 52–54.
- Гусев, В. П., Струкова, В. Е., Христюк, В. Т., Таланян, О. Р. (2011). Безалкогольные напитки специального назначения, обогащенные растительными биологически активными веществами. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 4, 59–62.
- Чуб, О. П. (2021). Функциональные десертные блюда: повышение качества и безопасности, применение нетрадиционного и вторичного растительного сырья. *The Scientific Heritage*, 58–1(58), 68–75. <https://doi.org/10.24412/9215-0365-2021-58-1-68-75>
- Штерман, С. В. (2012). Анализ кислотно-основных взаимодействий при разработке составов быстрорастворимых (шипучих) продуктов. *Пищевая промышленность*, 9, 70–74.
- Разумовская, Р. Г., Кассамединов, А. И., Тхи Хье Као, Ван Хынг Нгуен, Збродова, О. В. (2011). Применение ЭХА-растворов в биотехнологии продуктов из рыбного и растительного сырья. *Вестник Астраханского государственного технического университета*, 1(51), 28–33.
- Бакин, И. А., Мустафина, А. С., Лунин, П. Н. (2015). Совершенствование технологии экстрагирования ягодного сырья с использованием ультразвуковой обработки. *Вестник КрасГАУ*, 12(111), 91–96.
- Патракова, И. С., Гуринович, Г. В., Мышалова, О. М., Серегин, С. А., Патшина, М. В. (2021). Окислительно-восстановительный потенциал как показатель стабильности мясных систем. *Ползуновский вестник*, 1, 66–73. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2021.01.009>
- Awulachew, M. T. (2021). Food product shelf stability overview of sour-dough-risen flatbread. *International Journal of Food Science and Technology*, 3(3), 1–5. [https://doi.org/10.47363/JFTNS/2021\(3\)125](https://doi.org/10.47363/JFTNS/2021(3)125)

### REFERENCES

- Freysdottir, J., Omarsdotti, S., Ingolfsdottir, K., Vikingsson, A., Olafsdottir, E. S. (2008). *In vitro and in vivo immunomodulating effects of traditionally prepared extract and purified compounds from Cetraria islandica*. *International Immunopharmacology*, 8(3), 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.11.007> (In Russian)
- Daudova, T. N., Isrigova, T. A., Daudova, L. A., Omarova, M. M. (2021). Intensification of anthocyanin dye extraction by ultrasonic treatment of wild fruit. *Development Problems of Regional Agro-Industrial Complex*, 1(45), 160–163. [https://doi.org/10.52671/20790996\\_2021\\_1\\_160](https://doi.org/10.52671/20790996_2021_1_160) (In Russian)
- Dyakova, N. A., Kostyleva, A. A. (2022). Ultrasonic extraction: Application and perspectives in phytopreparations technology (Overview). *Traditional Medicine*, 1(67), 11–19. [https://doi.org/10.54296/18186173\\_2022\\_1\\_11](https://doi.org/10.54296/18186173_2022_1_11) (In Russian)
- Zibareva, L. N., Filonenko, E. S. (2018). The influence of ultrasonic treatment on the process of extraction of polyphenols from grape seeds. *Food Industry*, 11, 88–92. <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.11.11.020> (In Russian)
- Shrestha, G., Clair, L. L. St., O'Neill, K. L. (2015). The immunostimulating role of lichen polysaccharides: A review. *Phytotherapy Research*, 29(3), 317–322. <https://doi.org/10.1002/ptr.5251>
- Abramov, V. O., Bayazitov, V. M., Kamler, A. V., Fedulov, I. S., Nikonorov, R. V., Simonenko, S. V. et al. (2022). Study of the influence of ultrasound on

- family Caryophyllaceae. *Chemistry of Plant Raw Materials*, 2, 145–151. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018023703> (In Russian)
8. Bhargava, N., Mor, R. S., Kumar, K., Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, Article 105293. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2020.105293>
9. Castañeda-Valbuena, D., Ayora-Talavera, T., Luján-Hidalgo, C., Álvarez-Gutiérrez, P., Martínez-Galero, N., Rocío Meza-Gordillo, R. (2021). Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. *Food and Bioproducts Processing*, 127, 212–224. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.03.002>
10. Gallo, M., Ferrara, L., Naviglio, D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A perspective. *Foods*, 7(10), Article 164. <https://doi.org/10.3390/foods7100164>
11. Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, Article 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2020.105325>
12. Singla, M., Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, Article 105506. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2021.105506>
13. Samylina, I. A., Sorokina, A. A., Molchan, N. V., Rudakova, I. P. (2012). Water absorption and swelling coefficients in raw medicinal plant material. *Farmatsiya*, 4, 3–5. (In Russian)
14. Kryuchkov, F. A., Ivannikova, L. B. (1999). Hydroxypropylated polysaccharides: application in gel extraction. *Polymer Science, Series A*, 41(9), 948–953.
15. Drozdov, R. A., Kozhukhova, M. A., Borisova, M. M., Drozdova, T. A. (2019). Functional properties of dietary fibers derived from vegetable processing products. *Scientific Works of the Kuban State Technological University*, S9, 50–61. (In Russian)
16. Zipaev, D. V., Kozhukhov, A. N., Tulina, A. A. (2020). Hopped lemonade production technology. *Journal of International Academy of Refrigeration*, 1, 97–102. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-1-97-102> (In Russian)
17. Koldaev, V. M. (2015). The spectrophotometric values of extracts from rhubarb. *Pacific Medical Journal*, 2(60), 52–54. (In Russian)
18. Gusev, V. P., Strukova, V. E., Khristyuk, V. T., Talanyan, O. R. (2011). Soft drinks special purpose rich in vegetable biologically active substances. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 4, 59–62. (In Russian)
19. Chub, O. P. (2021). Functional dessert dishes: Ensuring the safety and quality by use of untraditional and secondary plant raw materials. *The Scientific Heritage*, 58–1(58), 68–75. <https://doi.org/10.24412/9215-0365-2021-58-1-68-75> (In Russian)
20. Shterman, S. V. (2012). Analysis of acid-basic interactions in formulations of instant (effervescent) products. *Food Industry*, 9, 70–74. (In Russian)
21. Razumovskaya, R. G., Kassamedinov, A. I., Thi Khue Kao, Wang Hing Nguyen, Zbrodova, O. V. (2011). Application of ECA-solutions in biotechnology of products made from fish and plant raw material. *Vestnik of Astrakhan State Technical University*, 1(51), 28–33. (In Russian)
22. Bakin, I. A., Mustafina, A. S., Lunin, P. N. (2015). Improvement of technology of berry raw materials extracting with use of processing by ultrasound. *Bulletin of KSAU*, 12, 91–96. (In Russian)
23. Patrakova, I. S., Gurinovich, G. V., Myshalova, O. M., Seregin, S. A., Parshina, M. V. (2021). Redox potential as an indicator of stability of meat systems. *Polzunovskiy Vestnik*, 1, 66–73. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2021.01.009> (In Russian)
24. Awulachew, M. T. (2021). Food product shelf stability overview of sour-dough-risen flatbread. International. *Journal of Food Science and Technology*, 3(3), 1–5. [https://doi.org/10.47363/JFTNS/2021\(3\)123](https://doi.org/10.47363/JFTNS/2021(3)123)

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ****Принадлежность к организации**

**Нициевская Ксения Николаевна** — кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, отдел пищевых систем и биотехнологий, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук  
630501, Новосибирская обл., р. п. Краснообск, а/я 463  
Тел.: +7-913-206-32-34  
E-mail: nitsievskayakn@sfscra.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7302-106X>

**Станкевич Светлана Владимировна** — кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник, отдел пищевых систем и биотехнологий, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук  
630501, Новосибирская обл., р. п. Краснообск, а/я 463  
Тел.: +7-923-134-85-73  
E-mail: stankevichsv@sfscra.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5157-2004>

**Бородай Елена Валерьевна** — старший научный сотрудник, отдел пищевых систем и биотехнологий, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук  
630501, Новосибирская обл., р. п. Краснообск, а/я 463  
Тел.: +7-953-764-68-82  
E-mail: borodayev@sfscra.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4350-085X>  
\* автор для контактов

**Критерии авторства**

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**AUTHOR INFORMATION****Affiliation**

**Kseniya N. Nitsievskaya**, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Department of Food Systems and Biotechnology, Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences Box 463, Novosibirsk region, 630501, Krasnoobsk, Russia  
Tel.: +7-913-206-32-34  
E-mail: nitsievskayakn@sfscra.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7302-106X>

**Svetlana V. Stankevich**, Candidate of Agricultural Sciences, Researcher, Department of Food Systems and Biotechnology, Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences Box 463, Novosibirsk region, 630501, Krasnoobsk, Russia  
Tel.: +7-923-134-85-73  
E-mail: stankevichsv@sfscra.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5157-2004>

**Elena V. Boroday**, Senior Researcher, Department of Food Systems and Biotechnology, Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences Box 463, Novosibirsk region, 630501, Krasnoobsk, Russia  
Tel.: +7-953-764-68-82  
E-mail: borodayev@sfscra.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4350-085X>  
\* corresponding author

**Contribution**

Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-180-187>

Поступила 16.03.2023

Поступила после рецензирования 21.05.2023

Принята в печать 23.05.2023

© Вафин Р. Р., Михайлова И. Ю., Агейкина И. И., 2023

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

Научная статья

Open access

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ *UFGT*-ГЕН-АССОЦИИРОВАННЫХ ГРУПП *VITIS VINIFERA* L. РАЗРАБОТАННЫМ СПОСОБОМ ПЦР-ПДРФ-ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ВИНОГРАДА

Вафин Р. Р.,\* Михайлова И. Ю., Агейкина И. И.

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

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:***Vitis vinifera* L., виноград, *UFGT*, ген, ДНК, ПЦР, ПДРФ, электрофорез, SNP, идентификация**АННОТАЦИЯ**

Ген *UFGT Vitis vinifera* L. является одним из диагностически значимых для генотестирования технических сортов винограда, а также производимых из них виноматериалов и вин. Ранее отработанная нами стратегия геноидентификации сортов винограда и ДНК-аутентификации виноматериалов на основе прямого секвенирования специфичного ПЦР-продукта длиной 99 bp дала импульс к прогнозной оценке применимости ПЦР-ПДРФ-анализа для детекции 5 диагностически значимых полиморфных позиций и последующей идентификации 13 *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. Цель работы заключалась в идентификации *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. детекцией диагностически значимых полиморфных позиций разработанным способом ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда. Объектами исследований послужили 24 образца технических сортов винограда, пробоподготовку которых проводили извлечением 50–100 mg мякоти зрелого плода или косточки с ее механическим измельчением в ступке и помещением в пробирку типа Эппендорф. Далее проводилось выделение нуклеиновых кислот при помощи коммерческих наборов innuPREP Plant DNA Kit или DiamondDNA Plant kit. Постановку ПЦР-ПДРФ с экстрагированной ДНК винограда осуществляли набором Phire Plant Direct PCR Master Mix и 4 подобранными рестриктазами (*Pst*I, *Bsa*XI, *Bts*IMutII и *Hinf*I) в соответствии с протоколами, представленными в материалах публикации. Детекцию ПЦР-ПДРФ-фрагментов выполняли визуализацией электрофореграмм в УФ-трансиллюминаторе после горизонтального электрофореза в 2,5% агарозном геле с окрашенным ТАЕ-буфером. Способ ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда, специально разработанный для идентификации *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. детекцией диагностически значимых полиморфных позиций, продемонстрировал работоспособность при тестировании 24 образцов технических сортов винограда. При этом положительный результат был достигнут благодаря практической способности каждой из четырех подобранных рестриктаз дискриминировать строго определенную полиморфную позицию, генерируя характерные ПЦР-ПДРФ-профили тринадцати *UFGT*-ген-ассоциированных групп, семь из которых выявлено в ходе настоящего исследования. Таким образом, в результате проведенной работы установлена генотипическая принадлежность целого ряда протестированных сортов винограда: шесть образцов были идентифицированы как представители *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 1; один образец относился к ген-ассоциированной группе № 2; два образца характеризовались признаком ассоциированной группы № 3; четыре образца принадлежали к группе № 4; один образец — к группе № 5; шесть образцов — к группе № 13.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2022-0012 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

**БЛАГОДАРНОСТЬ:** Авторы статьи выражают благодарность заведующей отделом технологии вина ВНИИПБиВП — филиала ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, кандидату технических наук Кузьминой Елене Ивановне за предоставленные образцы технических сортов винограда.

Received 16.03.2023

Accepted in revised 21.05.2023

Accepted for publication 23.05.2023

© Vafin R. R., Mikhailova I. M., Ageykina I. I., 2023

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

Original scientific article

Open access

# IDENTIFICATION OF *UFGT*-GENE-ASSOCIATED GROUPS OF *VITIS VINIFERA* L. BY THE DEVELOPED METHOD OF PCR-RFLP GENOTYPING OF GRAPE

Ramil R. Vafin,\* Irina Y. Mikhailova, Irina I. Ageykina

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

**KEY WORDS:***Vitis vinifera* L., grape, *UFGT*, gene, DNA, PCR, RFLP, electrophoresis, SNP, identification**ABSTRACT**

The *Vitis vinifera* L. *UFGT* gene is one of the diagnostically significant genes for genetic testing of technical grape varieties as well as wine materials and wines produced from them. The strategy for genetic identification of grape varieties and DNA authentication of wine materials that was previously developed by us and is based on direct sequencing of the specific PCR product with a length of 99 bp gave an impulse to prognostic assessment of feasibility

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Вафин, Р. Р., Михайлова, И. Ю., Агейкина, И. И. (2023). Идентификация *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. разработанным способом ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда. Пищевые системы, 6(2), 180-187. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-180-187>

**FOR CITATION:** Vafin, R. R., Mikhailova, I. M., Ageykina, I. I. (2023). Identification of *UFGT*-gene-associated groups of *Vitis vinifera* L. by the developed method of PCR-RFLP genotyping of grape. Food Systems, 6(2), 180-187. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-180-187>

of PCR-RFLP analysis for detection of five diagnostically significant polymorphic positions and the following identification of 13 *UFGT* gene-associated groups of *Vitis vinifera* L. The aim of this work consisted in identification of *UFGT* gene-associated groups of *Vitis vinifera* L. by detection of diagnostically significant polymorphic positions using the developed PCR-RFLP method for genotyping of grape. Objects of research were 24 samples of technical grape varieties. Their sample preparation was carried out by extracting 50–100 mg of mature grape pulp or stone with its mechanical comminution in a mortar and transfer to an Eppendorf-type tube. Then, nucleic acids were extracted using a commercial innuPREP Plant DNA Kit or DiamondDNA Plant kit. PCR-RFLP with the extracted grape DNA was performed with Phire Plant Direct PCR Master Mix and four selected restriction enzymes (*PstI*, *BsaXI*, *BtsIMutI* and *HinfI*) according to the protocols presented in the paper. The detection of the PCR-RFLP fragments was performed by visualization of electropherograms in a UV transilluminator after horizontal electrophoresis in 2.5% agarose gel with stained TAE buffer. The method for PCR-RFLP genotyping of grapes developed specially for identification of *UFGT* gene-associated groups of *Vitis vinifera* L. by detecting diagnostically significant polymorphic positions demonstrated its feasibility when testing 24 samples of technical grape varieties. With that, the positive result was achieved due to the practical ability of each of four selected restriction enzymes to discriminate the strictly specified polymorphic position generating characteristic PCR-RFLP profiles of 13 *UFGT* gene-associated groups of *Vitis vinifera* L., seven of which were revealed during this study. Therefore, as a result of the performed study, the genotypic affiliation of several tested grape varieties was established: six samples were identified as representatives of the *UFGT* gene-associated group No.1; one sample was assigned to gene-associated group No.2; two samples were characterized by the trait of associated group No.3; four samples belonged to group No.4; one sample to group No.5; six samples to group No.13.

FUNDING: The article was published as part of the research topic № FGUS-2022-0012 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ACKNOWLEDGMENT: The authors of the article express gratitude to the head of the wine technology department of VNIIPBiVP — Branch of Gorbatov Research Center for Food Systems, candidate of technical sciences Elena Ivanovna Kuzmina for providing samples of technical grape varieties.

## 1. Введение

Ген *UFGT* *Vitis vinifera* L. (UDP-glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase — уридинифосфат-глюкоза: флавоноид 3-O-глюкозилтрансфераза) [1] является одним из диагностически значимых для генотестирования технических сортов винограда [2,3], а также производимых из них виноматериалов и вин [4,5]. При этом ДНК-анализ более протяженного локуса данного гена длиной 705 нуклеотидов может позволить идентифицировать не менее 21 *UFGT*-ген-ассоциированной группы винограда-сырья благодаря интерпретации детектируемых методом секвенирования 34 полиморфных позиций (33 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms, однонуклеотидные полиморфизмы) и 1 INDEL (INsertion/DEletion, инсерция/дeлеция) [3,6]. Тогда как анализ локуса меньшей длины (от 119 до 99 нуклеотидов) всего с 5 полиморфными позициями (4 SNPs и 1 INDEL) способен дискриминировать лишь 13 *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. [6], но с потенциалом ДНК-аутентификации виноматериалов и вин [4,5].

Нацеливание на локус меньшей длины продиктовано сильной фрагментацией остаточной ДНК винограда, выделяемой из винного дебриса. Причем ее деградация и снижение концентрации происходит как в процессе винификации, так и при хранении уже готового продукта [7,8]. При этом доподлинно известно, что по мере старения вина уменьшается и выход экстрагируемой нуклеиновой кислоты *Vitis vinifera* L. [9,10].

Ранее отработанная нами стратегия геноидентификации сортов винограда и ДНК-аутентификации виноматериалов на основе прямого секвенирования специфичного ПЦР-продукта длиной 99 bp была реализована через интерпретацию детектируемых полиморфных позиций вариабельного локуса *UFGT*-гена *Vitis vinifera* L. [5]. Данная стратегия дала импульс к прогнозной оценке применимости ПЦР-ПДРФ-анализа (полимеразная цепная реакция — полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) для детекции 5 диагностически значимых полиморфных позиций и последующей идентификации 13 *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. при тестировании сортового многообразия винограда, а также производимого из него виноматериала [11].

Если при генотестировании технических сортов винограда пробоподготовка преимущественно сводится к извлечению мякоти плода с последующим помещением ото-

бранныго материала в пробирку, то для пробоподготовки виноматериалов и вин потребуется центрифужная прецентрипция дебриса с применением осадителей и соосадителей [5]. Известны различные способы пробоподготовки, предусматривающие предварительную экспозицию вина в смеси подобранных реагентов в морозильной камере (−20 °C) в течение 1–2 недель [12,13], краткосрочную выдержку при комнатной температуре [14], а также ночную или трехсуточную экспозицию при −20 °C или −80 °C соответственно [15,16].

Наиболее распространенными подходами к выделению ДНК из мякоти плода винограда или из осажденного винного дебриса являются способы, построенные на модификации общеизвестного СТАВ-метода [8]. К базовому перечню СТАВ-модифицированных способов экстракции нуклеиновых кислот *Vitis vinifera* L. из виноматериалов и вин можно отнести условно именные технические приемы Siret [17], Savazzini & Martinelli [12], Pereira [13] и Bigliazzi [15], имеющие сходные и отличительные признаки. Также известно об использовании для выделения ДНК целого ряда коммерческих наборов: DNeasy Plant Mini Kit и QIAprep Spin Miniprep Kit производства Qiagen [18,19], а также QuickExtract Seed DNA Extraction Solution (Epicentre Biotechnologies) и NucleoSpin Food (Macherey-Nagel) [20,21].

Актуальность проводимой научной работы продиктована необходимостью расширения арсенала методологических подходов к геноидентификации технических сортов винограда, потенциально пригодных для ДНК-аутентификации виноматериалов. Научная новизна выражена в применении ПЦР-ПДРФ-анализа по локусу *UFGT*-гена *Vitis vinifera* L. для установления генотипической принадлежности тестируемых образцов винограда.

Цель настоящего исследования — идентификация *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. детекцией диагностически значимых полиморфных позиций разработанным способом ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда.

## 2. Объекты и методы

Исследования проводили в Межотраслевом научно-техническом центре мониторинга качества пищевых продуктов Всероссийского научно-исследовательского института пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности — филиала ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН.

**Таблица 1. ПЦР-ПДРФ-протоколы амплификации локуса *UFGT*-гена *Vitis vinifera* L. с праймерами UFGT-F1 и UFGT-R2 и последующих эндонуклеазных расщеплений**

Table 1. PCR-RFLP protocols for amplification of the *Vitis vinifera* L. *UFGT* gene locus with primers UFGT-F1 and UFGT-R2, and the following endonuclease cleavage

ПЦР-протокол									
Реагенты	Исходная концентрация			Рабочая концентрация			1 проба (мкл)	5 проб (мкл)	10 проб (мкл)
H <sub>2</sub> O							18	90	180
2X Phire Plant Direct PCR Master Mix		2×			1×		25	125	250
UFGT-F1			50 мкМ			1 мкМ	1	5	10
UFGT-R2			50 мкМ			1 мкМ	1	5	10
Проба ДНК							5		
ВСЕГО							50		

Последовательности олигонуклеотидных праймеров:  
UFGT-F1: 5'-CTTGGCTGCCGTTTGGA-3' (18 н.)  
UFGT-R2: 5'-AGGTAAAACCACCTGAGACT-3' (20 н.)

Режим термоциклирования (Терцик, Россия):

×1: 98 °C – 5 мин.; ×40: 98 °C – 10 сек, 58 °C – 10 сек, 72 °C – 10 сек. ×1: 72 °C – 1 мин.

#### ПДРФ-протоколы

ПДРФ-протоколы									
Реагенты	Исходная концентрация			Рабочая концентрация			1 проба (мкл)	5 проб (мкл)	10 проб (мкл)
dH <sub>2</sub> O							7,5	37,5	75
rCutSmart™ Buffer		10×			1×		2	10	20
PstI	BsaXI	BtsIMutI	HinfI	20U	2U	1U	10U	1U	0,5U
ПЦР-проба							5U	0,5	2,5
ИТОГО								10	
Температура и время инкубирования:							37 °C	37 °C	55 °C
							37 °C	37 °C	37 °C
									в течение 4 часов

Объектами исследований служили 24 образца технических сортов винограда: «шардоне» (Севастопольская зона, Крым), «шардоне» (п. Солнечная Долина, Крым), «шардоне» (Вилла Виктория, Краснодарский край), «ркацители» (Кизлярский район, Республика Дагестан), «ркацители» (Дербентский район, Республика Дагестан), «левокумский устойчивый» (Ставропольский край), «мальбек» (п. Васильевка, Крым), «джават кара» (п. Солнечная Долина, Крым), «шабаш» (п. Коктебель, Крым), «алиготе» (п. Коктебель, Крым), «алиготе» (Фанагория, Краснодарский край), «саперави» (Фанагория, Краснодарский край), «эким кара» (п. Солнечная Долина, Крым), «мерло» (Севастопольская зона, Крым), «каберне совиньон»<sup>1</sup> (Россия), «каберне совиньон» (п. Васильевка, Крым), «каберне совиньон» (п. Солнечная Долина, Крым), «каберне совиньон» (Мильстрим, Краснодарский край), «каберне совиньон» (Вилла Виктория, Краснодарский край), «кефесия» (п. Солнечная Долина, Крым), «алиготе» (Бахчисарайский район, Крым), «саперави»<sup>2</sup> (Россия), «кокур белый» (п. Коктебель, Крым) и «кокур белый» (п. Солнечная Долина, Крым).

Пробоподготовку технических сортов винограда проводили извлечением 50–100 мг мякоти зрелого плода или косточки с ее механическим измельчением в ступке, с последующим помещением отобранного биоматериала в пробирку типа Эппендорф.

Экстракцию нукleinовых кислот *Vitis vinifera* L. из пробо-подготовленного биоматериала выполняли набором innu-PREP Plant DNA Kit (Analytik Jena GmbH, Germany) или DiamondDNA Plant kit («Алтайбиотех», Россия).

Постановку ПЦР-ПДРФ осуществляли набором Phire Plant Direct PCR Master Mix (Thermo Scientific, USA) и 4 подобранными рестриктазами: PstI, BsaXI, BtsIMutI, HinfI (New England Biolabs, USA) по протоколам, представленным в сводной Таблице 1.

<sup>1</sup> Данный образец винограда был получен без сведений о регионе произрастания.

<sup>2</sup> Данный образец винограда был получен без сведений о регионе произрастания.

Детекцию ПЦР-ПДРФ-фрагментов выполняли визуализацией электрофорограмм в УФ-трансиллюминаторе вслед за 2,5% агарозным гель-электрофорезом в ТАЕ-буфере, окрашенном этидием бромидом.

### 3. Результаты и обсуждение

В результате применения разработанного способа ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда детекцией диагностически значимых полиморфных позиций и идентификацией *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. была подтверждена и установлена генотипическая принадлежность целого ряда протестированных сортов.

Представители *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 1 *Vitis vinifera* L. генерировали специфичные ПЦР-ПДРФ-профили, наглядно продемонстрированные на Рисунке 1.

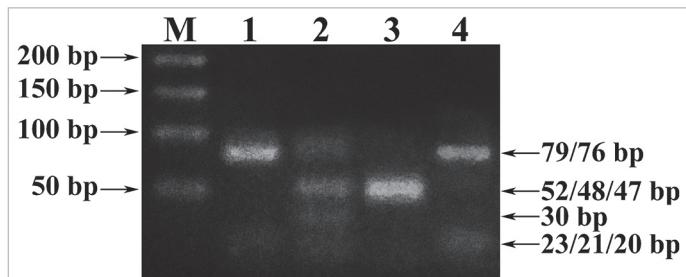


Рисунок 1. Электрофорограмма ПЦР-ПДРФ-профилей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 1 *Vitis vinifera* L.

Figure 1. Electropherogram of the PCR-RFLP profiles of *UFGT* gene-associated group No. 1 of *Vitis vinifera* L.

Примечание: M – маркер длины ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1 – PstI-ПДРФ-фрагменты (76/23 bp); 2 – BsaXI-ПДРФ-фрагменты (48/30/21 bp); 3 – BtsIMutI-ПДРФ-фрагменты (52/47 bp); 4 – HinfI-ПДРФ-фрагменты (79/20 bp)

К *UFGT*-ген-ассоциированной группе № 1 относились следующие образцы винограда: «шардоне» (Севастопольская зона, Крым), «шардоне» (п. Солнечная Долина, Крым), «шардоне» (Вилла Виктория, Краснодарский край), «ркацители» (Кизлярский район, Республика Дагестан), «ркацители»

(Дербентский район, Республика Дагестан), «левокумский устойчивый» (Ставропольский край).

При этом вывод о причастности шести вышеупомянутых образцов винограда именно к *UFGT*-ген-ассоциированной группе № 1 сделан на основании результатов эндонуклеазного расщепления ампликона по четырем использованным рестриктазам, которые генерируют картину электрофоретического разделения ПЦР-ПДРФ-фрагментов, своюственную исключительно представителям данной группы.

Достоверность полученных результатов подкреплена ранее проведенным нами исследованием, по результату которого сорта «шардоне», «ракацители» и «левокумский устойчивый» были соотнесены к *UFGT*-ген-ассоциированной группе № 1 [5]. Исследование проводилось в рамках отработанной стратегии геноидентификации интерпретацией детектируемых полиморфных позиций вариабельного *UFGT*-гена *Vitis vinifera* L. с использованием метода прямого секвенирования ПЦР-продукта. Депонированная в GenBank NCBI нуклеотидная последовательность локуса *UFGT*-гена сорта винограда «шардоне» с регистрационным номером JF522483, представленная в Таблице 2, выбрана в качестве референсной. Ее профили полиморфных позиций и рассчитанных ПЦР-ПДРФ-фрагментов стандартны для всех представителей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 1 [5,11].

Один представитель *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 2 *Vitis vinifera* L. — технический сорт винограда «мальбек» (п. Васильевка, Крым) — формировал характерные для нее ПЦР-ПДРФ-профили, приведенные на Рисунке 2.

Полученный результат ПЦР-ПДРФ-анализа фактически подтвердил генотипическую принадлежность сорта «мальбек», ранее установленную методом прямого секвенирования ПЦР-продукта [5].

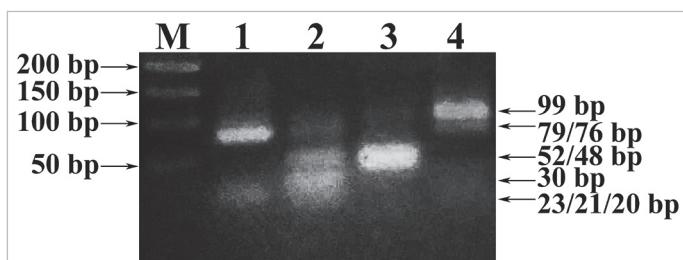


Рисунок 2. Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ-профилей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 2 *Vitis vinifera* L.

Figure 2. Electropherogram of the PCR-RFLP profiles of *UFGT* gene-associated group No.2 of *Vitis vinifera* L.

Примечание: M — маркер длии ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1 — *PstI*-ПДРФ-фрагменты (76/23 bp); 2 — *BsaXI*-ПДРФ-фрагменты (48/30/21 bp); 3 — *BtsIMutI*-ПДРФ-фрагменты (52/47 bp); 4 — *HinfI*-ПДРФ-фрагменты (99/79/20 bp)

Два других представителя *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 3 *Vitis vinifera* L. имели свойственные ей ПЦР-ПДРФ-профили, представленные на Рисунке 3.

В *UFGT*-ген-ассоциированную группу № 3 вошли образцы технических сортов винограда «джават кара» (п. Солнечная Долина, Крым) и «шабаш» (п. Коктебель, Крым), генотипическая принадлежность которых была установлена впервые.

Ряд представителей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 4 *Vitis vinifera* L. характеризовались специфичными ПЦР-ПДРФ-профилями, запечатленными на Рисунке 4.

В *UFGT*-ген-ассоциированную группу № 4 зашли следующие образцы винограда: «алиготе» (п. Коктебель, Крым), «алиготе» (Фанагория, Краснодарский край), «саперави» (Фанагория, Краснодарский край) и «эким кара» (п. Солнечная Долина, Крым), генотипическая принадлежность которых также была установлена впервые.

Единственный представитель *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 5 *Vitis vinifera* L. — технический сорт винограда «мерло» (Севастопольская зона, Крым) — генерировал специфичные ПЦР-ПДРФ-профили, наглядно продемонстрированные на Рисунке 5.

Депонированная в GenBank NCBI нуклеотидная последовательность локуса *UFGT*-гена сорта винограда «мерло» с регистрационным номером JF522450 выбрана в качестве референсной (Таблица 2). Ее профили полиморфных позиций и рассчитанных ПЦР-ПДРФ-фрагментов стандартны для всех представителей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 5 [4,10].

Следующие представители *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 13 *Vitis vinifera* L. формировали характерные для нее ПЦР-ПДРФ-профили, отображенные на Рисунке 6.

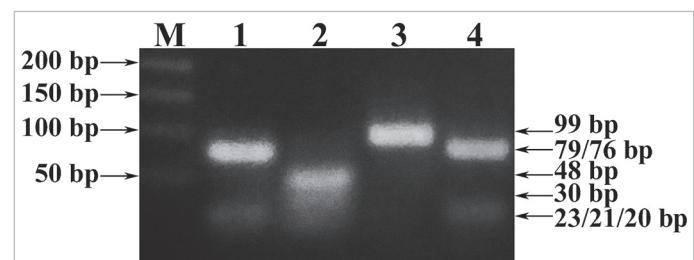


Рисунок 3. Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ-профилей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 3 *Vitis vinifera* L.

Figure 3. Electropherogram of the PCR-RFLP profiles of *UFGT* gene-associated group No.3 of *Vitis vinifera* L.

Примечание: M — маркер длии ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1 — *PstI*-ПДРФ-фрагменты (76/23 bp); 2 — *BsaXI*-ПДРФ-фрагменты (48/30/21 bp); 3 — *BtsIMutI*-ПДРФ-фрагменты (99 bp); 4 — *HinfI*-ПДРФ-фрагменты (79/20 bp)

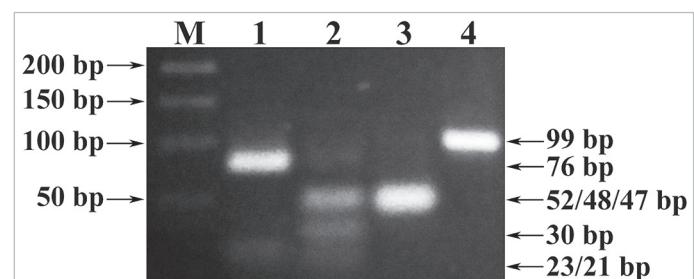


Рисунок 4. Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ-профилей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 4 *Vitis vinifera* L.

Figure 4. Electropherogram of the PCR-RFLP profiles of *UFGT* gene-associated group No.4 of *Vitis vinifera* L.

Примечание: M — маркер длии ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1 — *PstI*-ПДРФ-фрагменты (76/23 bp); 2 — *BsaXI*-ПДРФ-фрагменты (48/30/21 bp); 3 — *BtsIMutI*-ПДРФ-фрагменты (99/52/47 bp); 4 — *HinfI*-ПДРФ-фрагменты (79/20 bp)

Рисунок 5. Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ-профилей *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 5 *Vitis vinifera* L.

Figure 5. Electropherogram of the PCR-RFLP profiles of *UFGT* gene-associated group No.5 of *Vitis vinifera* L.

Обозначения: M — маркер длии ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1 — *PstI*-ПДРФ-фрагменты (99/76/23 bp); 2 — *BsaXI*-ПДРФ-фрагменты (48/30/21 bp); 3 — *BtsIMutI*-ПДРФ-фрагменты (52/47 bp); 4 — *HinfI*-ПДРФ-фрагменты (99 bp)

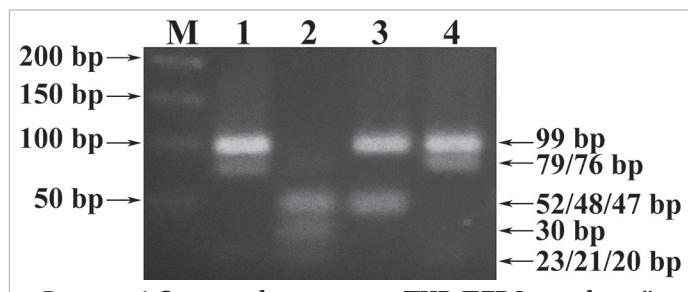


Рисунок 6. Электрофорограмма ПЦР-ПДРФ-профилей UFGT-ген-ассоциированной группы № 13 *Vitis vinifera* L.

Figure 6. Electropherogram of the PCR-RFLP profiles of *UFGT* gene-associated group No.13 of *Vitis vinifera* L.

Примечание: M — маркер длин ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1 — *PstI*-ПДРФ-фрагменты (99/76/23 bp); 2 — *BsaXI*-ПДРФ-фрагменты (48/30/21 bp); 3 — *BtsIMutI*-ПДРФ-фрагменты (99/52/47 bp); 4 — *HinfI*-ПДРФ-фрагменты (99/79/20 bp)

В *UFGT*-ген-ассоциированную группу № 13 входили шесть протестированных образцов винограда: «каберне совиньон» (Россия), «каберне совиньон» (п. Васильевка, Крым), «каберне совиньон» (п. Солнечная Долина, Крым), «каберне совиньон» (Мильстрим, Краснодарский край), «каберне совиньон» (Вилла Виктория, Краснодарский край) и «кефесия» (п. Солнечная Долина, Крым).

Еще четыре образца винограда имели признаки разносастицы, так как результаты ПЦР-ПДРФ-анализа с нуклеиновыми кислотами *Vitis vinifera* L., экстрагированными из разных выборок одной промаркированной партии, не сходились. Это относилось к следующим образцам:

- «алиготе» (Бахчисарайский район, Крым) с 1-й и 4-й группой по *UFGT*-гену;
- «саперави» (Россия) с 3-ей и 13-й группой по *UFGT*-гену;
- «кокур белый» (п. Коктебель, Крым) с 1-й и 4-й группой по *UFGT*-гену;
- «кокур белый» (п. Солнечная Долина, Крым) со 2-й и 11-й группой по *UFGT*-гену.

Сами же ПЦР-ПДРФ-профили *UFGT*-ген-ассоциированной группы № 11 *Vitis vinifera* L. представлены на электрофореграмме Рисунка 7.

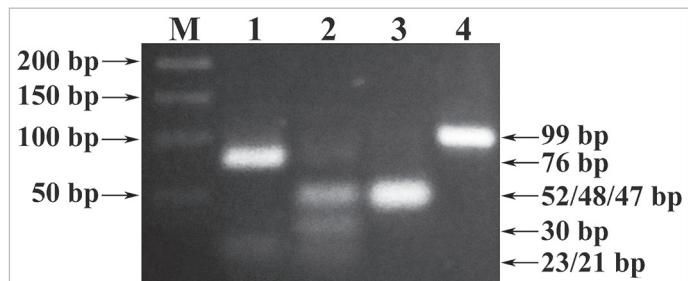


Рисунок 7. Электрофорограмма ПЦР-ПДРФ-профилей UFGT-ген-ассоциированной группы № 11 *Vitis vinifera* L.

Figure 7. Electropherogram of the PCR-RFLP profiles of *UFGT* gene-associated group No.11 of *Vitis vinifera* L.

Примечание: M — маркер длин ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1 — *PstI*-ПДРФ-фрагменты (76/23 bp); 2 — *BsaXI*-ПДРФ-фрагменты (48/30/21 bp); 3 — *BtsIMutI*-ПДРФ-фрагменты (52/47 bp); 4 — *HinfI*-ПДРФ-фрагменты (99 bp)

Таким образом, в результате ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда у протестированных образцов в общей сложности выявлено семь из тринадцати *UFGT*-ген-ассоциированной групп *Vitis vinifera* L. Подтверждена или установлена впервые генотипическая принадлежность целого ряда сортов винограда: «шардоне» (группа № 1), «ракацители» (группа № 1), «левокумский устойчивый» (группа № 1), «мальбек» (группа № 2), «джават кара» (группа № 3), «шабаш» (группа № 3), «алиготе» (группа № 4), «саперави» (группа № 4),

«эким кара» (группа № 4), «мерло» (группа № 5), «каберне совиньон» (группа № 13), «кефесия» (группа № 13).

Ряд исследованных образцов представляли из себя смесь разносортового винограда, что вскрылось при их генотипировании разработанным способом ПЦР-ПДРФ-анализа, который может быть задействован и для определения сортовой чистоты при выборе сырья для виноделия. Их генотипическая принадлежность с повторным отбором материала на исследование будет изучена в дальнейшей работе.

Рассчитанные ПЦР-ПДРФ-профили *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L., согласуемые с их профилями полиморфных позиций, представлены в сводной Таблице 2, сформированной в результате систематизации ранее полученных данных [3,5,11].

Таблица 2. Профили полиморфных позиций *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. и генерированных ПЦР-ПДРФ-фрагментов

Table 2. Profiles of polymorphic positions of *UFGT* gene-associated groups of *Vitis vinifera* L. and generated PCR-RFLP fragments

№ п.п.	Референсные сорта винограда	GenBank A/N	ПЦР-продукт (бр)	Полиморфные позиции (INDEL*/SNPs)				
				ПДРФ-фрагменты (бр)				
				<i>PstI</i>	<i>BsaXI</i>	<i>BtsIMutI</i>	<i>HinfI</i>	
01	Chardonnay	JF522483	99	— G	C	C	G	
			76/23	48/30/21	52/47	79/20		
02	Rabigato	JF522420	99	— G	C	C	R	
			76/23	48/30/21	52/47	99/79/20		
03	Fernao Pires	JF522408	99	— G	C	T	G	
			76/23	48/30/21	99	79/20		
04	Tinto Cao	JF522519	99	— G	C	Y	G	
			76/23	48/30/21	99/52/47	79/20		
05	Merlot	JF522450	99	— K	C	C	C	
			99/76/23	48/30/21	52/47	99		
06	Touriga Franca	JF522516	99	— K	C	C	S	
			99/76/23	48/30/21	52/47	99/79/20		
07	Freisa	JF522497	99	— G	C	Y	S	
			76/23	48/30/21	99/52/47	99/79/20		
08	Pedro Ximenez	JF522405	99	— G	M	Y	G	
			76/23	99/48/30/21	99/52/47	79/20		
09	Cabernet Sauvignon	ND	100	T G	C	Y	S	
			100	48/30/22	100/53/47	100/80/20		
10	Sousao	ND	100	T G	C	T	S	
			100	48/30/22	100	100/80/20		
11	Cannonaio	JF522522	99	— G	C	C	C	
			76/23	48/30/21	52/47	99		
12	Parda	JF522443	99	— G	M	C	G	
			76/23	99/48/30/21	52/47	79/20		
13	Rondinella	JF522509	99	— K	C	Y	S	
			99/76/23	48/30/21	99/52/47	99/79/20		

Примечание: ND — No Data; A — Adenine; T — Thymine; G — Guanine; C — Cytosine; Y — C или T; S — G or C; K — G or T; R — A or G; M — A or C.

При этом *UFGT*-ген-ассоциированная группа № 9 с заявленной инсерцией тимина (T) в положении 21\* продукта амплификации анализируемого локуса гена на деле может быть ее лишена. Об этом свидетельствуют результаты ПЦР-ПДРФ-анализа разных образцов сорта «каберне совиньон», относящихся к группе № 13, тем самым внося ясность в неверно интерпретированный ранее результат капиллярного секвенирования относительно ложной INDEL в анали-

зируемом локусе *Vitis vinifera* L. [5]. Еще одним аргументом в пользу отнесения сорта «каберне совиньон» к *UFGT*-ген-ассоциированной группе № 13 может служить ранее депонированная итальянскими селекционерами последовательность анализируемого локуса гена данного сорта с отсутствующей инсерцией тимила, чей регистрационный номер (GenBank A/N: JF522384) был упомянут в одной из наших публикаций [5].

Дополнительно следует отметить, что из всех референсных сортов винограда, указанных по порядку в Таблице 2, только типовые представители *UFGT*-ген-ассоциированных групп № 9 и № 10 не имеют депонированных в GenBank NCBI нуклеотидных последовательностей локуса *UFGT*-гена, при том что их результаты выравнивания секвенированной ДНК все же представлены в первоисточнике [3].

*UFGT*-ген *Vitis vinifera* L. — одна из диагностически значимых [4], но не единственная генетическая мишень для генотестирования сортового многообразия винограда и ДНК-аутентификации производимой из него продукции [5]. Идентификационный потенциал еще двух генов, *F3H* (flavanone 3-hydroxylase — флаванон-3-гидроксилаза) [22] и *LDOX* (leucoanthocyanidin dioxygenase — лейкоантоксианидин диоксигеназа) [23], впервые был раскрыт в тематическом научном труде S. Gomes et al. (2018) [24] и далее изучен в последующих исследованиях [7,2].

Анализ методологических подходов к геноидентификации технических сортов винограда, пригодных для ДНК-аутентификации виноматериалов, указывает на более высокий идентификационный потенциал *UFGT* по отношению к *F3H* и *LDOX*. Этот потенциал связан с большим количеством диагностически значимых полиморфных позиций во фланкируемом локусе анализируемого гена [8]. Поэтому выбор именно этой генетической мишени для исследования был приоритетным.

Полученные в ходе настоящей работы практические результаты подтвердили ранее проведенную прогнозную оценку о применимости ПЦР-ПДРФ-анализа для детекции диагностически значимых полиморфных позиций и последующей идентификации *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. при тестировании сортового многообразия винограда [11].

Таким образом, в качестве инструмента детекции полиморфных позиций вариабельного локуса *UFGT*-гена и идентификации ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. был задействован разработанный нами способ ПЦР-ПДРФ-анализа, при помощи которого был выявлен неверно интерпретированный ранее результат капиллярного секвенирования

[5]. Использование предложенного способа как по отдельности [11], так и в связке с прямым секвенированием специфичного ПЦР-продукта длиной 99 bp [5] направлено на повышение точности геноидентификации технических сортов винограда. А его применимость в части ДНК-аутентификации виноматериалов и вин будет изучена в будущем.

Наряду с этим особого внимания заслуживают и другие аналитические инструменты ДНК-технологий [25,26], включая анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM-анализ) на ПЦР-платформах с флуоресцентно-гибридизационной детекцией [3,4] и биосенсоры [24, 27]. Также в этот список можно включить недавно протестированный портативный графеновый сенсорный чип с высокой разрешающей способностью в части распознавания одноклостидных полиморфизмов (SNPs) даже в исследуемых образцах с крайне низкой концентрацией нуклеиновых кислот *Vitis vinifera* L. [28].

Вышеперечисленные подходы задают вектор будущих исследований с комплексным ДНК-анализом по трем генетическим мишениям (*UFGT*, *F3H*, *LDOX*). А одной из первостепенных задач станет прогнозная оценка применимости ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда и по локусам генов *F3H* и *LDOX* с последующей практической оценкой работоспособности разрабатываемых способов, ожидаемо менее дорогостоящих и более доступных в использовании. При этом практическая значимость проведенных и планируемых исследований направлена на внедрение разработок в систему менеджмента качества сырья и продукции на основе разрабатываемых стандартов для винодельческой промышленности.

#### 4. Заключение

Способ ПЦР-ПДРФ-генотипирования винограда, разработанный для идентификации *UFGT*-ген-ассоциированных групп *Vitis vinifera* L. детекцией диагностически значимых полиморфных позиций, продемонстрировал работоспособность при тестировании 24 образцов технических сортов винограда. Положительный результат был достигнут благодаря практической способности каждой из подобранных рестриктаз дискриминировать определенную полиморфную позицию, генерируя ПЦР-ПДРФ-профили 13 *UFGT*-ген-ассоциированных групп, семь из которых выявлено в ходе настоящего исследования. Потенциал предложенного способа, примененного при тестировании сортового многообразия винограда, будет дальше изучен на предмет ДНК-аутентификации мезги, сусла, виноматериалов и вин в контексте прослеживаемости этапов винификации.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). *UFGT anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase 2 [Vitis vinifera (wine grape)]. Gene ID: 100233099, updated on 24-Aug-2022. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100233099 Accessed May 15, 2023*
- Barrias, S., Pereira, L., Rocha, S., de Sousa, T. A., Ibáñez, J., Martins-Lopes, P. (2023). Identification of Portuguese traditional grapevines using molecular marker-based strategies. *Scientia Horticulturae*, 311, Article 111826. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.111826>
- Pereira, L., Martins-Lopes, P. (2015). *Vitis vinifera* L. Single-nucleotide polymorphism detection with high-resolution melting analysis based on the UDP-glucose: Flavonoid 3-O-Glucosyltransferase gene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(41), 9165–9174. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03463>
- Pereira, L., Gomes, S., Castro, C., Eiras-Dias, J. E., Brazão, J., Graça, A. et al. (2017). High Resolution Melting (HRM) applied to wine authenticity. *Food Chemistry*, 216, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.185>
- Galstyan, A. G., Semipyatnyi, V. K., Mikhailova, I. Yu., Gilmanov, K. K., Bigaeva, A. V., Vafin, R. R. (2021). Methodological Approaches to DNA Authentication of Foods, Wines and Raw Materials for Their Production. *Foods*, 10(3), Article 595. <https://doi.org/10.3390/foods10030595>
- Vafin, R. R., Mikhailova, I. Y., Semipyatnyi, V. K., Gilmanov, Kh. Kh., Bigaeva, A. V., Lazareva, E. G. (2020). Raw materials identification and manufactured products authentication technologies. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series Chemistry and Technology*, 6(44), 119–126. <https://doi.org/10.32014/2020.2518–1491.106>
- Teixeira, R. J. S., Gomes, S., Malheiro, V., Pereira, L., Fernandes, J. R., Mendes-Ferreira, A. et al. (2021). A multidisciplinary fingerprinting approach for authenticity and geographical traceability of Portuguese wines. *Foods*, 10(5), Article 1044. <https://doi.org/10.3390/foods10051044>
- Oganesyants, L. A., Vafin, R. R., Galstyan, A. G., Semipyatnyi, V. K., Khurshudyan, S. A., Ryabova, A. E. (2018). Prospects for DNA authentication in wine production monitoring. *Foods and Raw Materials*, 6(2), 438–448. <https://doi.org/10.21603/2308–4057–2018–2–438–448>
- Pereira, L., Gomes, S., Barrias, S., Gomes, E. P., Baleiras-Couto, M., Fernandes, J. R. et al. (2018). From the field to the bottle – An integrated strategy for wine authenticity. *Beverages*, 4(4), Article 71. <https://doi.org/10.3390/beverages4040071>

10. Catalano, V., Moreno-Sanz, P., Lorenzi, S., Grando, M. S. (2016). Experimental review of DNA-based methods for wine traceability and development of a Single-Nucleotide Polymorphism (SNP) genotyping assay for quantitative varietal authentication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(37), 6969–6984. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02560>
11. Вафин, Р. Р., Михайлова, И. Ю., Агейкина, И. И. (2023). Прогнозирование применимости ПЦР-ПДРФ-анализа для тестирования сортового многообразия винограда. *Пищевая промышленность*, 1, 6–9. <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.1.1.001>
12. Savazzini, F., Martinelli, L. (2006). DNA analysis in wines: Development of methods for enhanced extraction and real-time polymerase chain reaction quantification. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.078>
13. Pereira, L., Guedes-Pinto, H., Martins-Lopes, P. (2011). An enhanced method for *Vitis vinifera* L. DNA extraction from wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62(4), 547–552. <https://doi.org/10.5344/ajev.2011.10022>
14. Drábek, J., Stávek, J., Jalůvková, M., Jurček, T., Frébort, I. (2008). Quantification of DNA during winemaking by fluorimetry and *Vitis vinifera* L.-specific quantitative PCR. *European Food Research and Technology*, 226(3), 491–497. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0561-8>
15. Bigliazzi, J., Scali, M., Paolucci, E., Cresti, M., Vignani, R. (2012). DNA extracted with optimized protocols can be genotyped to reconstruct the varietal composition of monovarietal wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(4), 568–573. <https://doi.org/10.5344/ajev.2012.12014>
16. İşçi, B., Yıldırım, H. K., Altındıslı A. (2014). Evaluation of methods for DNA extraction from must and wine. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(3), 238–243. <https://doi.org/10.1002/jib.129>
17. Siret, R., Boursiquot, J. M., Merle, M. H., Cabanis, J. C., This, P. (2000). Toward the authentication of varietal wines by the analysis of grape (*Vitis vinifera* L.) residual DNA in must and wine using microsatellite markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 5035–5040. <https://doi.org/10.1021/jf991168a>
18. Scali, M., Elisa, P., Jacopo, B., Mauro, C., Vignani, R. (2014). Vineyards genetic monitoring and Vernaccia di San Gimignano wine molecular fingerprinting. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 5(2), 142–154. <https://doi.org/10.4236/abb.2014.52018>
19. Siret, R., Gigaud, O., Rosec, J. P., This, P. (2002). Analysis of grape *Vitis vinifera* L. DNA in must mixtures and experimental mixed wines using microsatellite markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3822–3827. <https://doi.org/10.1021/jf011462e>
20. Hărță, M., Pamfil, D., Pop, R., Vicaș, S. (2011). DNA fingerprinting used for testing some Romanian wine varieties. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture*, 68(1), 143–148. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:7041>
21. di Renzo, V., Miazzi, M. M., Fanelli, V., Savino, V., Pollastro, S., Colucci, F. et al. (2016). An enhanced analytical procedure to discover table grape DNA adulteration in industrial musts. *Food Control*, 60, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.015>
22. National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). F3H flavanone 3-hydroxylase [*Vitis vinifera* (wine grape)]. Gene ID: 100233079, updated on 28-Aug-2022. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100233079> Accessed May 15, 2023
23. National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). LDOX leucoanthocyanidin dioxygenase [*Vitis vinifera* (wine grape)]. Gene ID: 100233142, updated on 29-Aug-2022. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100233142> Accessed May 15, 2023
24. Gomes, S., Castro, C., Barrias, S., Pereira, L., Jorge, P., Fernandes J. R. et al. (2018). Alternative SNP detection platforms, HRM and biosensors, for varietal identification in *Vitis vinifera* L. using F3H and LDOX genes. *Scientific Reports*, 8(1), Article 5850. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24158-9>
25. Azizi, M. M. F., Lau, H. Y., Abu-Bakar, N. (2021). Integration of advanced technologies for plant variety and cultivar identification. *Journal of Bio-sciences*, 46, Article 91. <https://doi.org/10.1007/s12038-021-00214-x>
26. Villano, C., Aiese Cigliano, R., Esposito, S., D'Amelia, V., Iovene, M., Carputo, D. et al. (2022). DNA-based technologies for grapevine biodiversity exploitation: State of the art and future perspectives. *Agronomy*, 12(2), Article 491. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020491>
27. Barrias, S., Fernandes, J. R., Eiras-Dias, J. E., Brazão, J., Martins-Lopes, P. (2019). Label free DNA-based optical biosensor as a potential system for wine authenticity. *Food Chemistry*, 270, 299–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.058>
28. Purwidyantri, A., Azinheira, S., Roldán, A. G., Jaegerova, T., Vilaça, A., Machado, R. et al. (2023). Integrated approach from sample-to-answer for grapevine varietal identification on a portable graphene sensor chip. *ACS Sensors*, 8(2), 640–654. <https://doi.org/10.1021/acssensors.2c02090>

## REFERENCES

1. National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). UFGT anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase 2 [*Vitis vinifera* (wine grape)]. Gene ID: 100233099, updated on 24-Aug-2022. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100233099> Accessed May 15, 2023
2. Barrias, S., Pereira, L., Rocha, S., de Sousa, T. A., Ibáñez, J., Martins-Lopes, P. (2023). Identification of Portuguese traditional grapevines using molecular marker-based strategies. *Scientia Horticulturae*, 311, Article 111826. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.111826>
3. Pereira, L., Martins-Lopes, P. (2015). *Vitis vinifera* L. Single-nucleotide polymorphism detection with high-resolution melting analysis based on the UDP-glucose: Flavonoid 3-O-Glucosyltransferase gene. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(41), 9165–9174. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03463>
4. Pereira, L., Gomes, S., Castro, C., Eiras-Dias, J. E., Brazão, J., Graça, A. et al. (2017). High Resolution Melting (HRM) applied to wine authenticity. *Food Chemistry*, 216, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.185>
5. Galstyan, A. G., Semipyatny, V. K., Mikhailova, I. Yu., Gilmanov, K. K., Bigaeva, A. V., Vafin, R. R. (2021). Methodological approaches to DNA authentication of foods, wines and raw materials for their production. *Foods*, 10(3), Article 595. <https://doi.org/10.3390/foods10030595>
6. Vafin, R. R., Mikhailova, I. Y., Semipyatny, V. K., Gilmanov, Kh. Kh., Bigaeva, A. V., Lazareva, E. G. (2020). Raw Materials Identification and Manufactured Products Authentication Technologies. *News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series Chemistry and Technology*, 6(444), 119–126. <https://doi.org/10.32014/2020.2518-1491.106>
7. Teixeira, R. J. S., Gomes, S., Malheiro, V., Pereira, L., Fernandes, J. R., Mendes-Ferreira, A. et al. (2021). A multidisciplinary fingerprinting approach for authenticity and geographical traceability of Portuguese wines. *Foods*, 10(5), Article 1044. <https://doi.org/10.3390/foods10051044>
8. Oganesyan, L. A., Vafin, R. R., Galstyan, A. G., Semipyatny, V. K., Khurshudyan, S. A., Ryabova, A. E. (2018). Prospects for DNA authentication in wine production monitoring. *Foods and Raw Materials*, 6(2), 438–448. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-438-448>
9. Pereira, L., Gomes, S., Barrias, S., Gomes, E. P., Baleiras-Couto, M., Fernandes, J. R. et al. (2018). From the field to the bottle – An integrated strategy for wine authenticity. *Beverages*, 4(4), Article 71. <https://doi.org/10.3390/beverages4040071>
10. Catalano, V., Moreno-Sanz, P., Lorenzi, S., Grando, M. S. (2016). Experimental review of DNA-based methods for wine traceability and development of a Single-Nucleotide Polymorphism (SNP) genotyping assay for quantitative varietal authentication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(37), 6969–6984. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02560>
11. Vafin, R. R., Mikhailova I. Yu., Ageykinia I. I. (2023). Predicting the applicability of PCR-RFLP analysis for testing grape varietal diversity. *Food Industry*, 1, 6–9. <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.1.1.001> (In Russian)
12. Savazzini, F., Martinelli, L. (2006). DNA analysis in wines: Development of methods for enhanced extraction and real-time polymerase chain reaction quantification. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.078>
13. Pereira, L., Guedes-Pinto, H., Martins-Lopes, P. (2011). An enhanced method for *Vitis vinifera* L. DNA extraction from wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 62(4), 547–552. <https://doi.org/10.5344/ajev.2011.10022>
14. Drábek, J., Stávek, J., Jalůvková, M., Jurček, T., Frébort, I. (2008). Quantification of DNA during winemaking by fluorimetry and *Vitis vinifera* L.-specific quantitative PCR. *European Food Research and Technology*, 226(3), 491–497. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0561-8>
15. Bigliazzi, J., Scali, M., Paolucci, E., Cresti, M., Vignani, R. (2012). DNA extracted with optimized protocols can be genotyped to reconstruct the varietal composition of monovarietal wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(4), 568–573. <https://doi.org/10.5344/ajev.2012.12014>
16. İşçi, B., Yıldırım, H. K., Altındıslı A. (2014). Evaluation of methods for DNA extraction from must and wine. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(3), 238–243. <https://doi.org/10.1002/jib.129>
17. Siret, R., Boursiquot, J. M., Merle, M. H., Cabanis, J. C., This, P. (2000). Toward the authentication of varietal wines by the analysis of grape (*Vitis vinifera* L.) residual DNA in must and wine using microsatellite markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 5035–5040. <https://doi.org/10.1021/jf991168a>
18. Scali, M., Elisa, P., Jacopo, B., Mauro, C., Vignani, R. (2014). Vineyards genetic monitoring and Vernaccia di San Gimignano wine molecular fingerprinting. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 5(2), 142–154. <https://doi.org/10.4236/abb.2014.52018>
19. Siret, R., Gigaud, O., Rosec, J. P., This, P. (2002). Analysis of grape *Vitis vinifera* L. DNA in must mixtures and experimental mixed wines using microsatellite markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3822–3827. <https://doi.org/10.1021/jf011462e>
20. Hărță, M., Pamfil, D., Pop, R., Vicaș, S. (2011). DNA fingerprinting used for testing some Romanian wine varieties. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture*, 68(1), 143–148. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:7041>
21. di Renzo, V., Miazzi, M. M., Fanelli, V., Savino, V., Pollastro, S., Colucci, F. et al. (2016). An enhanced analytical procedure to discover table grape DNA adulteration in industrial musts. *Food Control*, 60, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.015>

22. National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). F3H flavanone 3-hydroxylase [Vitis vinifera (wine grape)]. Gene ID: 100233079, updated on 28-Aug-2022. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100233079> Accessed May 15, 2023
23. National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). LDOX leucoanthocyanidin dioxygenase [Vitis vinifera (wine grape)]. Gene ID: 100233142, updated on 29-Aug-2022. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100233142> Accessed May 15, 2023
24. Gomes, S., Castro, C., Barrias, S., Pereira, L., Jorge, P., Fernandes J. R. et al. (2018). Alternative SNP detection platforms, HRM and biosensors, for varietal identification in *Vitis vinifera* L. using F3H and LDOX genes. *Scientific Reports*, 8(1), Article 5850. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24158-9>
25. Azizi, M. M. F., Lau, H. Y., Abu-Bakar, N. (2021). Integration of advanced technologies for plant variety and cultivar identification. *Journal of Bio-sciences*, 46, Article 91. <https://doi.org/10.1007/s12038-021-00214-x>
26. Villano, C., Aiese Cigliano, R., Esposito, S., D'Amelia, V., Iovene, M., Carputo, D. et al. (2022). DNA-based technologies for grapevine biodiversity exploitation: State of the art and future perspectives. *Agronomy*, 12(2), Article 491. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020491>
27. Barrias, S., Fernandes, J. R., Eiras-Dias, J. E., Brazão, J., Martins-Lopes, P. (2019). Label free DNA-based optical biosensor as a potential system for wine authenticity. *Food Chemistry*, 270, 299–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.058>
28. Purwidyantri, A., Azinheira, S., Roldán, A. G., Jaegerova, T., Vilaça, A., Machado, R. et al. (2023). Integrated approach from sample-to-answer for grapevine varietal identification on a portable graphene sensor chip. *ACS Sensors*, 8(2), 640–654. <https://doi.org/10.1021/acssensors.2c02090>

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ****Принадлежность к организации**

**Рамиль Ришадович Вафин** — доктор биологических наук, профессор РАН, заместитель заведующего, Межотраслевой научно-технический центр мониторинга качества пищевых продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности  
119021, Москва, ул. Россолимо, 7  
Тел.: +7-937-778-88-21  
E-mail: vafin-ramil@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0914-0053>  
\* автор для контактов

**Ирина Юрьевна Михайлова** — научный сотрудник, Межотраслевой научно-технический центр мониторинга качества пищевых продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности  
119021, Москва, ул. Россолимо, 7  
Тел.: +7-916-250-88-76  
E-mail: irina-mikhailova54@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9180-1043>

**Ирина Игоревна Агейкина** — младший научный сотрудник, Межотраслевой научно-технический центр мониторинга качества пищевых продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности  
119021, Москва, ул. Россолимо, 7  
Тел.: +7-915-101-75-84  
E-mail: agira\_@ro.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5667-1335>

**AUTHOR INFORMATION****Affiliation**

**Ramil R. Vafin**, Doctor of Biological Science, Professor of RAS, Deputy Head, Intersectoral Scientific and Technical Center for Monitoring the Quality of Food Products, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry  
7, Rossolimo Str., 119021, Moscow, Russia  
Tel.: +7-937-778-88-21  
E-mail: vafin-ramil@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0914-0053>  
\* corresponding author

**Irina Y. Mikhailova**, Researcher, Intersectoral Scientific and Technical Center for Monitoring the Quality of Food Products, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry  
7, Rossolimo Str., 119021, Moscow, Russia  
Tel.: +7-916-250-88-76  
E-mail: irina-mikhailova54@mail.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9180-1043>

**Irina I. Ageykina**, Junior Researcher, Intersectoral Scientific and Technical Center for Monitoring the Quality of Food Products, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry  
7, Rossolimo Str., 119021, Moscow, Russia  
Tel.: +7-915-101-75-84  
E-mail: agira\_@ro.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5667-1335>

**Критерии авторства**

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

**Contribution**

Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-188-201>

Поступила 16.03.2023

Поступила после рецензирования 19.05.2023

Принята в печать 23.05.2023

© Кондратенко В. В., Кондратенко Т. Ю., 2023

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

Обзорная статья

Open access

# ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ФРАГМЕНТАЦИИ ОСНОВНОЙ ЦЕПИ РАМНОГАЛАКТУРОНАНОВЫХ УЧАСТКОВ ПРОТОПЕКТИНОВОГО КОМПЛЕКСА РАСТИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Кондратенко В. В.<sup>1,\*</sup> Кондратенко Т. Ю.<sup>2</sup><sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования, Московская область, Россия

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**  
 ферменты, фрагментация,  
 лиазы, гидролазы,  
 рамногалактуронан,  
 пектиновые вещества,  
 протопектиновый комплекс

**АННОТАЦИЯ**

Особенности структуры протопектинового комплекса растительной ткани предполагают необходимость проведения точечной деструкции отдельных гликозидных связей в структуре полимерных цепей рамногалактуронана для промышленного производства пектина. В состав этих цепей входят гомогалактуронановые участки и зоны ветвления. В связи с тем, что основную функциональную нагрузку несут гомогалактуронановые фрагменты протопектинового комплекса, целевыми являются гликозидные связи между остатками рамнозы и галактуроновой кислоты. Для их направленной деструкции наилучше целесообразно использовать ферменты лиазного и гидролазного действия. Целью данного обзора является систематизация представлений о молекулярных особенностях ферментов лиазного и гидролазного действия, катализирующих процесс ферментативной деструкции основной цепи рамногалактуронана. В статье рассматриваются систематики лиазных и гидролазных ферментов по механизму деструкции гликозидных связей и по молекулярной структуре. Показано, что данные классификации пересекаются, в результате чего в каждое семейство может входить как одна, так и несколько групп ферментов. В обзоре показано основное структурное отличие ферментов лиазного и гидролазного действия, заключающееся в обязательном присутствии в составе лиазных ферментов катионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Эти катионы участвуют в стабилизации конформации молекулы фермента и в самом каталитическом процессе, блокируя остаток галактуроновой кислоты. В составе целевых гидролазных ферментов катионы  $\text{Ca}^{2+}$  отсутствуют. Молекулярные особенности лиазных ферментов определяют чувствительность их каталитической активности к присутствию катионов  $\text{Ca}^{2+}$  в системе. Превышение определенной концентрации способно приводить к антагонистическому эффекту. В отношении гидролазных ферментов однозначное представление на этот счет отсутствует. Показана необходимость исследования подходов к оценке целесообразности предварительного частичного удаления катионов из субстрата.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № 0585–2019–00015 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 16.03.2023

Accepted in revised 19.05.2023

Accepted for publication 23.05.2023

© Кондратенко В. В., Кондратенко Т. Ю., 2023

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

Review article

Open access

# ENZYME SYSTEMS FOR FRAGMENTATION OF THE MAIN CHAIN OF THE RHAMNOGALACTURONAN SITES IN PLANT TISSUE PROTOPECTIN COMPLEX

Vladimir V. Kondratenko<sup>1,\*</sup> Tatyana Yu. Kondratenko<sup>2</sup><sup>1</sup> Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia<sup>2</sup> Russian Research Institute of Canning Technology, Moscow Region, Russia**KEY WORDS:**

enzyme, fragmentation, lyase,  
 hydrolase, rhamnogalacturonan,  
 pectin substance, protopectin  
 complex

**ABSTRACT**

Special features of the protopectin complex structure of plant tissue suggest the necessity of performing point destruction of certain glycoside bonds in the structure of rhamnogalacturonan polymer chains for industrial production of pectin. These chains include homogalacturonan sites and branching zones. As the homogalacturonan fragments of the protopectin complex carry the main functional load, glycoside bonds between residues of rhamnose and galacturonic acid are targeted bonds. For their directional destruction, it is most expedient to use enzymes of lyase and hydrolase action. The aim of this review is to systemize notions of molecular specific features of enzymes of lyase and hydrolase action that catalyze the process of enzymatic destruction of the rhamnogalacturonan main chain. The paper examines systematics of lyase and hydrolase enzymes by mechanism of destruction of glycoside bonds and by molecular structure. It is shown that the classification data intercross, as a result, each family can include one or several enzyme groups. The review shows the main structural difference of enzymes of lyase and hydrolase action that consists in the obligatory presence of  $\text{Ca}^{2+}$  cations in the composition of lyase

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Кондратенко, В. В., Кондратенко, Т. Ю. (2023). Ферментные системы для фрагментации основной цепи рамногалактуронановых участков протопектинового комплекса растительной ткани. Пищевые системы, 6(2), 188–201. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-188-201>

**FOR CITATION:** Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu. (2023). Enzyme systems for fragmentation of the rhamnogalacturonan sites main chains in plant tissue protopectin complex. Food Systems, 6(2), 188–201. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-188-201>

enzymes. These cations take part in stabilization of conformation of the enzyme molecule and in the catalytic process per se blocking the residue of galacturonic acid.  $\text{Ca}^{2+}$  cations are absent in the composition of targeted hydrolase enzymes. Molecular specific features of lyase enzymes determine sensitivity of their catalytic activity to the presence of  $\text{Ca}^{2+}$  cations in the system. Exceeding certain concentration can lead to the antagonistic effect. There is no unambiguous idea of this regarding hydrolase enzymes. The review demonstrates the necessity of studying approaches to assessment of expediency of preliminary partial removal of cations from the substrate.

FUNDING: The article was published as part of the research topic № 0585–2019–00015 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

## 1. Введение

Растительное сырье и продукты его первичной переработки являются источником биологически активных составляющих олиго- и полигликановой природы [1]. Один из ключевых компонентов растительного сырья представляет собой совокупный массив клеточных стенок, срединных пластинок и межклетников [2]. В основе этих составляющих лежит сложный матрикс из олиго- и полисахаридов (арабинанов, галактанов, арабиногалактанов, ксиланов, арабиноксиланов, целлюлоз), производных (гомогалактуронанов, рамногалактуронанов I и II, арабиногалактуронанов I и II, ксилогалактуронанов, и др.) [3, 4], структурных белков (экстенсина, экспансина и арабиногалактанового протеина) и полифенолов (лигнинов) [3, 5]. Сюда же входит и некоторое количество инкорпорированных локальных белковых агрегаций межклеточной транспортной системы, сигнальной системы и т. д. [2, 5]. Все компоненты матрикса объединены в единую разветвленную надмолекулярную структуру посредством эфирных, боратных и водородных связей, а также солевых мостиков с участием поливалентных катионов металлов (преимущественно  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ) и остатков фосфорной кислоты.

Молекулярная структура олиго- и полигликановых компонентов матрикса клеточных стенок в значительной степени варьирует в зависимости от таксономической принадлежности растительного организма (Рисунок 1). Также она зависит от локализации и физиологических функций ткани, от этапа вегетационного периода, от почвенно-климатических и погодных условий, микробиологического фона, условий культивирования, степени зрелости, а также от условий и продолжительности хранения.

Глубокая переработка растительной ткани и вторичных продуктов её обработки, предполагающая максимально

полную фрагментацию исходного матрикса на составляющие компоненты, имеет большие перспективы. Это связано с наличием значительного биологического и/или технического потенциала пектиновых веществ, растворимых и нерастворимых пищевых волокон, их производных и других компонентов.

В настоящее время из всех нативных компонентов клеточных стенок растительной ткани и вторичных продуктов её переработки наибольший спектр физико-химических свойств, обладающих выраженной потребительской ценностью, соответствует пектиновым веществам — продуктам направленной фрагментации нативного протопектинового комплекса исходного сырья. Основную нагрузку в процессе реализации этих свойств пектиновыми веществами несут гомогалактуроновые участки их молекул. Соответственно, для выделения из растительного сырья гомогалактуронановой составляющей посредством фрагментации нативного протопектинового комплекса матрикса клеточных стенок наиболее эффективным является ферментативное воздействие на целевые гликозидные связи, фиксирующие гомогалактуронановые участки в полимерных цепях.

Результаты наших предыдущих исследований [6, 7] позволили разработать методологический подход к определению целесообразности ферментативной фрагментации протопектинового комплекса на основе системы критерииев. Основной акцент был сделан на представлении гомогалактуронана как неотъемлемой составляющей более сложной структуры — рамногалактуронана. При этом последний характеризуется наличием дополненной зоны ветвления, представляющей собой последовательность пар  $[-\alpha-(1 \rightarrow 2)\text{-Rha}-\alpha-(1 \rightarrow 4)\text{-GalA}-]^n$  из остатков  $\alpha$ -L-рамнозы (Rha,  $\alpha$ -L-рамнопиранозы) и  $\alpha$ -D(+)-галактуроновой кислоты (GalA).

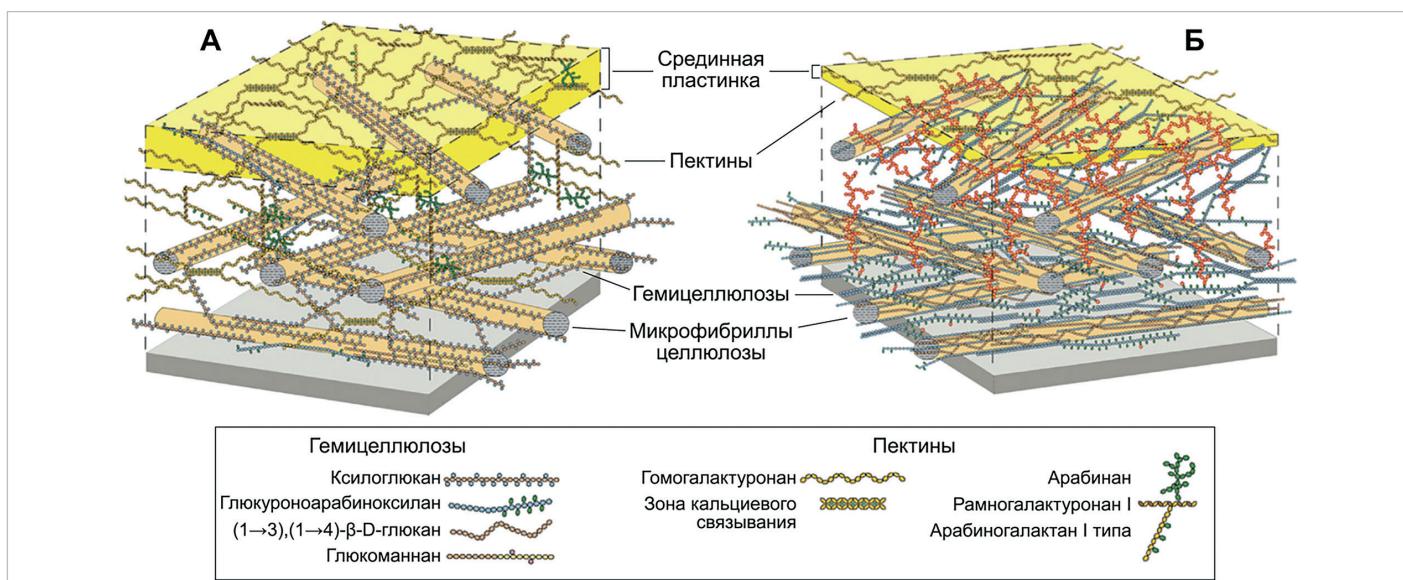


Рисунок 1. Структура первичных клеточных стенок двудольных, некоторых однодольных (А) и травянистых однодольных (Б) растений [1]

Figure 1. Structure of primary cell walls of dicotyledonous plants, certain monocotyledonous plants (A) and herbaceous monocotyledonous plants (B) [1]

В силу сложности и высокой степени гетерогенности пектиновых молекул в отношении молекулярной структуры и углеводного состава, для полной их компонентной фрагментации необходим достаточно большой пул ферментов [8–10]. Однако принадлежность гомогалактуронановой составляющей к структуре рамногалактуронана предполагает акцентирование внимания на ферментах, катализирующих фрагментацию именно данной структуры. К таковым относятся ферменты лиазного и гидролазного действия бактериального, грибного и растительного происхождения.

Цель данного обзора заключается в систематизации знаний о молекулярных особенностях ферментов лиазного и гидролазного действия, отвечающих за осуществление каталитического процесса направленной деструкции основной цепи рамногалактуронана в составе протопектинового комплекса матрикса клеточных стенок растительной ткани.

## 2. Материалы и методы

В качестве объектов исследований были приняты научные издания отечественных и зарубежных учёных. Область исследований включала в себя современные представления о классификации, особенностях молекулярной структуры и механизма проявления целевой активности лиазных и гидролазных ферментов, применяемых для направленной деструкции углеводного биополимерного матрикса клеточных стенок растительной ткани. Поиск осуществляли в базах CAZy, IUBMB Enzyme Nomenclature, ScienceDirect, NCBI, Mendeley, Google Scholar, eLibrary, LibGen и других открытых электронных источниках в соответствии с протоколом PRIZMA. Использовали комбинации ключевых слов, включающие такие как лиазы, гидролазы, рамногалактуронан, протопектин, пектиновые вещества, гликозидные связи, полигликаны, активный сайт, ингибиция. Ключевые слова использовали в английском и русском вариантах.

Из результатов поиска были исключены нерецензируемые, малоинформационные и дублирующие источники, а также источники, не относящиеся, либо имеющие опровергнутое отношение к теме исследований.

## 3. Ферментативная деструкция основной цепи пектиновых веществ

Ферменты лиазного действия катализируют расщепление гликозидной связи между углеводными остатками посредством  $\beta$ -элиминирования (Рисунок 2). При этом происходит расщепление  $\alpha$ -(1→4)-гликозидных связей между остатками  $\alpha$ -L-рамнопирозы и  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты на участ-

ках ветвления рамногалактуронана. В процессе расщепления возникает L-рамнопирозильный остаток на восстановливающем конце одного из фрагментов. В случае эндо-ферментативного процесса на невосстановливающем конце другого фрагмента образуется 4-деокси-4,5-ненасыщенный остаток D-галактуроновой кислоты. В случае экзо-ферментативного процесса возможно образование дисахарида 2-O-(4-дезокси- $\beta$ -L-трех-4-енопирозил)- $\alpha$ -L-рамнопирозы и укороченного фрагмента основной цепи рамногалактуронана с 4-деокси-4,5-ненасыщенным остатком D-галактуроновой кислоты на невосстановливающем конце.

Ферменты гидролазного действия катализируют гидролитическое расщепление (инверсию) гликозидной связи между углеводными остатками (Рисунок 3): происходит расщепление в присутствии молекулы воды  $\alpha$ -(1→4)- или  $\alpha$ -(1→2)-гликозидных связей между остатками  $\alpha$ -L-рамнопирозы и  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты с изменением аномерной конфигурации галактуронового остатка до  $\beta$ -формы либо без таковой.

В отношении того, какие именно группы лиазных и гидролазных ферментов целесообразно применять для фрагментирования основной цепи рамногалактуронана, мнения исследователей расходятся.

Так, в настоящее время существует два вида классификации ферментов — в зависимости от целевого действия и в зависимости от особенностей молекулярной структуры. В соответствии с первой классификацией [13], все ферменты, фрагментирующие основную цепь рамногалактуронана, представлены шестью группами: две группы лиаз (EC4.2.2.23 и EC4.2.2.24) и четыре группы гидролаз (EC3.2.1.171, EC3.2.1.172, EC3.2.1.173 и EC3.2.1.174). Функциональные особенности каждой из данных групп схематично представлены на Рисунке 4.

В группу EC4.2.2.23 входят эндо-лиазы, катализирующие расщепление гликозидных связей внутри основной цепи рамногалактуронана, тогда как группа EC4.2.2.23 включает экзолиазы, результатом действия которых является отщепление дисахаридного фрагмента от конца цепи, приводя в итоге к её укорочению.

В группу гидролаз EC3.2.1.171 входят ферменты, осуществляющие эндогидролиз  $\alpha$ -(1→2)-гликозидной связи между остатками  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты и  $\alpha$ -L-рамнопирозой в основной цепи рамногалактуронана с начальной инверсией ее аномерной конфигурации в  $\beta$ -форму остатка  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты на восстановливающем конце фрагмента рамногалактуронана.

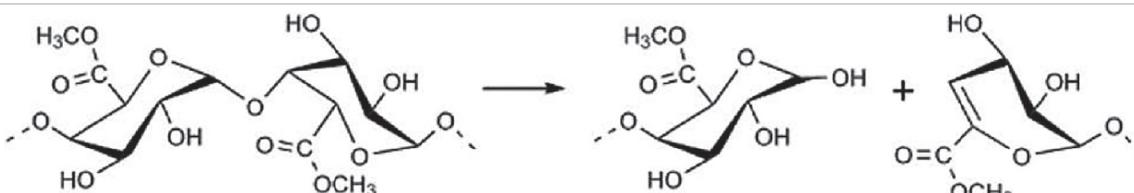


Рисунок 2. Реакция  $\beta$ -элиминирования [11]  
Figure 2. Reaction of  $\beta$ -elimination [11]

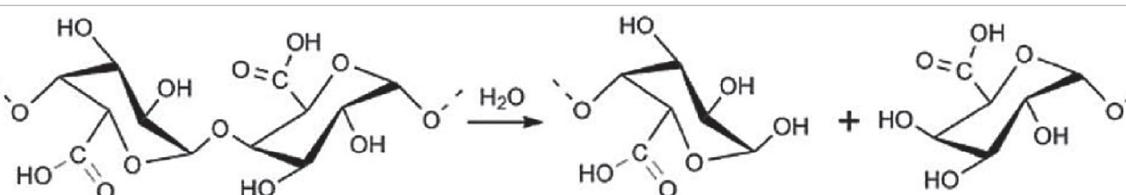


Рисунок 3. Реакция гидролитического расщепления (инверсии) гликозидной связи [11,12]  
Figure 3. Reaction of hydrolytic cleavage (inversion) of glycoside bond [11,12]

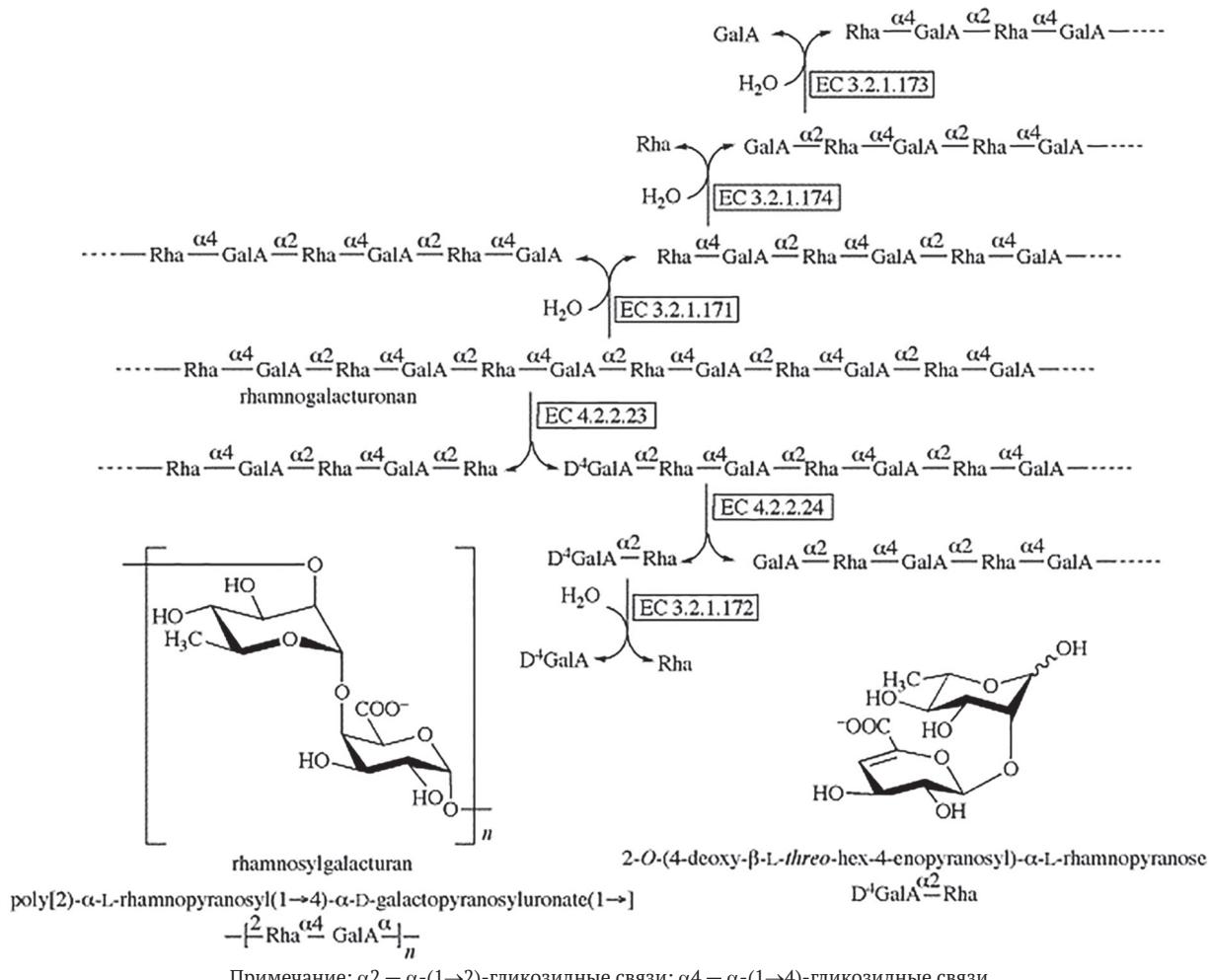


Рисунок 4. Схема ферментативной фрагментации участка ветвления основной цепи рамногалактуронана [14]  
 Figure 4 Scheme of enzymatic fragmentation of the branching site of the rhamnogalacturonan main chain [14]

В группу EC3.2.1.172 входят экзо-гидролазы, осуществляющие гидролиз  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-гликозидной связи между остатками  $\beta$ -элиминированной формы  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты и  $\alpha$ -L-рамнопиранозы в основной цепи рамногалактуронана.

Группа EC 3.2.1.173 включает в себя гидролазы, осуществляющие экзо-гидролиз  $\alpha$ -(1→2)-гликозидной связи между остатками  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты и  $\alpha$ -L-рамнопиранозой в основной цепи рамногалактуронана с начальной инверсией гликозидной связи, которая высвобождает остаток  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты на невосстановляющем конце фрагмента рамногалактуронана.

К группе EC3.2.1.174 относятся гидролазы, осуществляющие экзогидролиз  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-гликозидной связи между остатками  $\alpha$ -L-рамнопиранозы и  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты в основной цепи рамногалактуронана с начальной инверсией конфигурации в  $\beta$ -форму остатка  $\alpha$ -L-рамнопиранозы на невосстановляющем конце фрагмента рамногалактуронана.

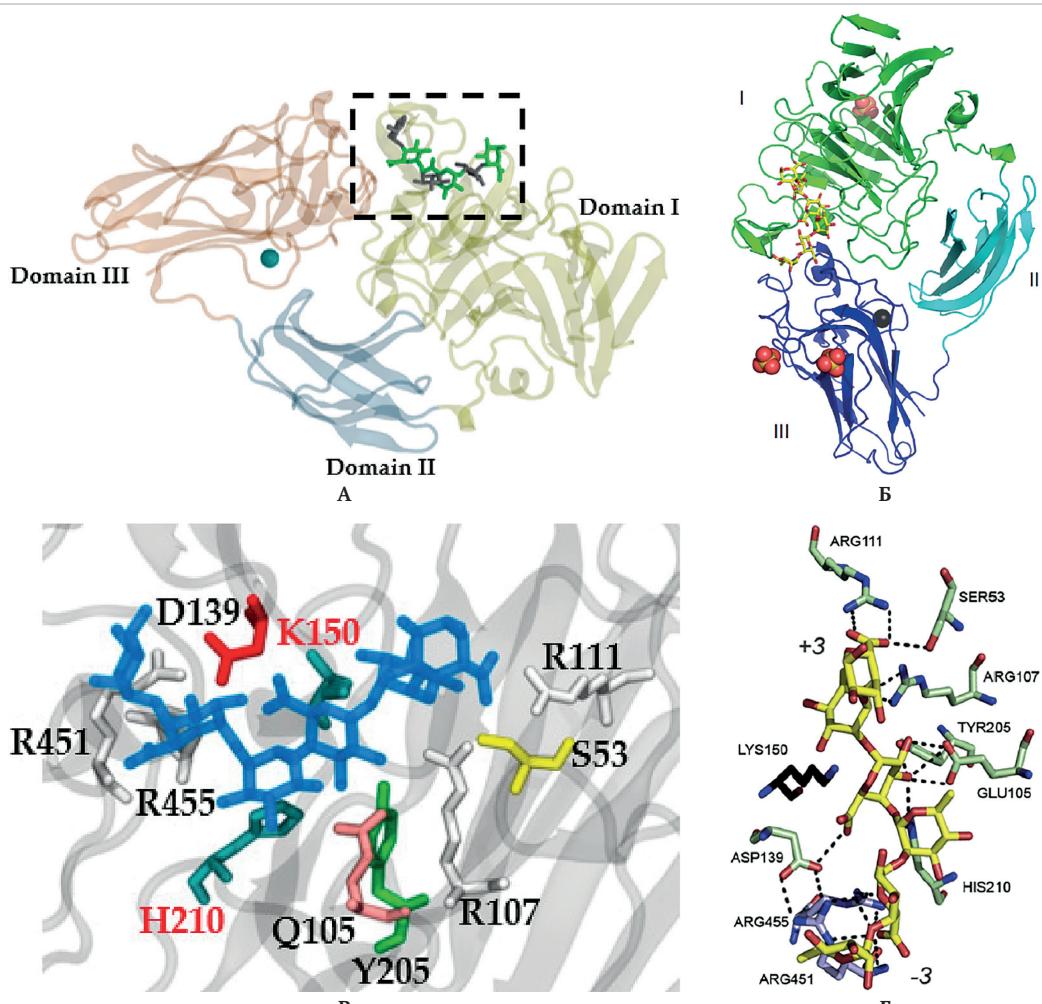
В соответствии со второй классификацией [15], все ферменты сгруппированы в семейства и подсемейства в зависимости от особенностей молекулярной структуры. При этом обе группы ферментов лиазного и гидролазного действия, фрагментирующих основную цепь рамногалактуронана, представлены четырьмя семействами полисахарид-лиаз (PL) — PL4, PL9, PL11 и PL26 — и четырьмя семействами гликозид-гидролаз (GH) — GH28, GH78, GH105 и GH138.

4. Молекулярные особенности ферментов лиазного и гидролазного действия в отношении рамногалактуронановых участков протопектинового комплекса

#### 4.1. Ферменты лиазного действия

Из двух вариантов рамногалактуронан-лиазных ферментов группы EC4.2.2 в семейство PL4 входит только рамногалактуронан эндо-лиаза EC4.2.2.23 [16–20]. В составе фермента присутствуют три домена, пространственные структуры которых представлены комбинациями  $\beta$ -сэндвичей и  $\beta$ -листов. При этом домен I содержит в своей структуре сульфат-ион, а также активный сайт фермента с ключевыми аминокислотными остатками Lys150 и His210. В составе домена III присутствуют катион  $\text{Ca}^{2+}$  и сульфат-ион (Рисунок 5). При этом  $\text{Ca}^{2+}$  находится достаточно далеко от активного сайта, в силу чего играет только структурную роль в поддержании необходимой конформации молекулы фермента. В составе активного сайта в процессе ферментативной реакции ключевую роль играют аминокислотные остатки Lys150 и His210 (Рисунок 6).

Так же, как и в PL4, в семейство PL9 входит рамногалактуронан эндо-лиаза EC4.2.2.23 [21–23]. Кроме того, структура фермента включает в себя три домена. Но, в отличие от PL4, домены образованы  $\beta$ -спиралью, которая включает 10 плотных полипептидных витков, в совокупности формирующих три аксиально вытянутых параллельных  $\beta$ -листа (Рисунок 7). При этом активный сайт включает в себя кати-



Примечание: А и Б – пространственные отображения трёхмерной структуры фермента [20] и [18] соответственно с активным сайтом в домене I, с участком полимерной цепи лиганда (субстрата) в доменах I и II, с сульфат-ионами в доменах I и III и с катионом  $\text{Ca}^{2+}$  в домене III; В и Г – увеличенная область активного сайта [20] и [18] соответственно, с лигандом и аминокислотными остатками K150 (Lys150) и H210 (His210)

Рисунок 5. Молекулярная структура тела и активного сайта фермента семейства PL4  
Figure 5. Molecular structure of the body and active site of the enzyme of the PL4 family

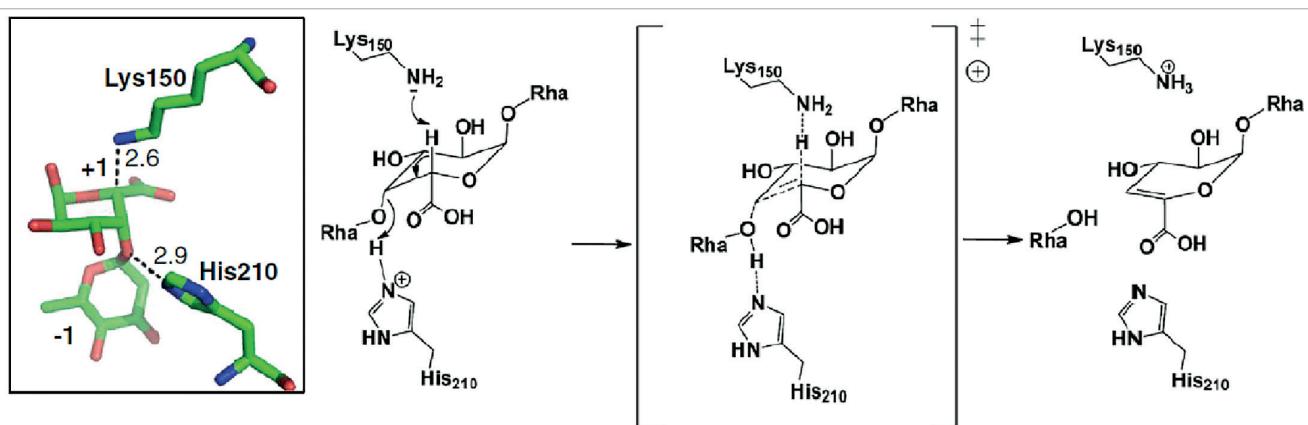
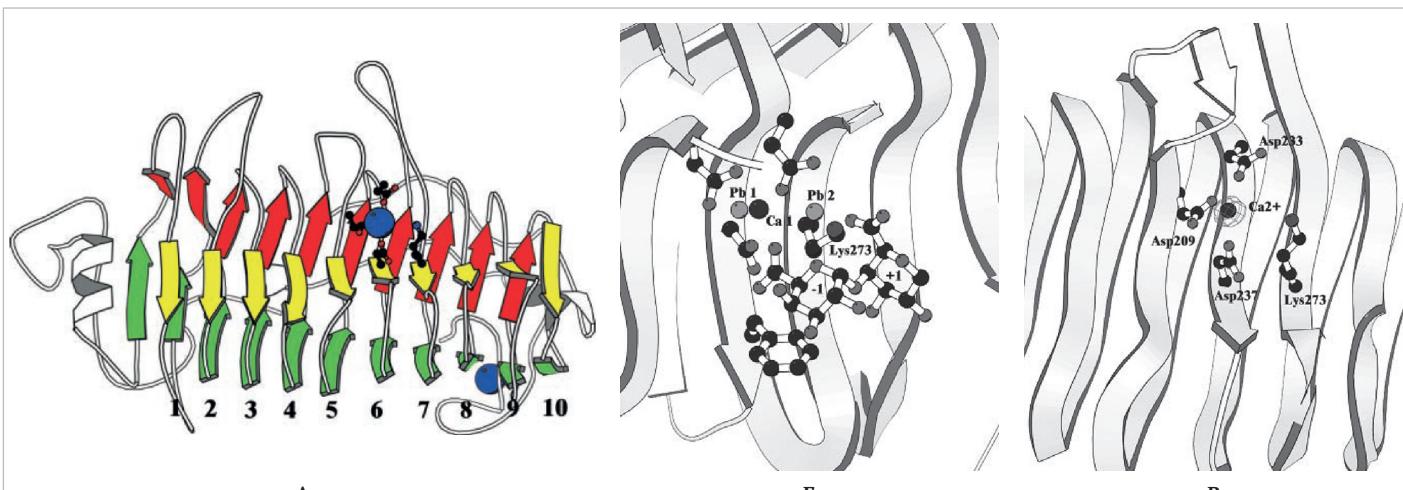


Рисунок 6. Предполагаемый механизм ферментативной реакции PL4 [18]  
Figure 6. Assumed mechanism of the PL4 enzymatic reaction [18]

он  $\text{Ca}^{2+}$  в окружении ключевых аминокислотных остатков Lys273, Asp209, Asp233, Asp 234, Asp238 и Asp268. Важным фактором каталитического процесса является связывание остатка GalA субстрата катионом  $\text{Ca}^{2+}$  и аминогруппой остатка Asp268 (Рисунок 8).

В семейство PL11 в силу схожести молекулярной структуры входит как рамногалактуронан эндо-лиаза EC4.2.2.23, так и рамногалактуронан экзо-лиаза EC4.2.2.24 [24–30]. В отличие от предыдущих семейств PL, структура ферментов

данного семейства представлена двумя доменами. Один – в виде  $\beta$ -пропеллера с восемью лопастями (А, В, С, Д, Е, F, G и H), образованными  $\beta$ -листами и  $\beta$ -спиралями, с включением ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в каждую лопасть; другой домен образован  $\beta$ -листом и включает N-терминал (Рисунок 9). Активный сайт ферментов имеет щелевидную структуру, что способствует строгому захвату двухзвенных участков Rha-GalA субстрата со стабилизацией карбоксильной группы GalA совместным действием катиона  $\text{Ca}^{2+}$  и аминокислотного



Примечание: А — пространственное отображение трёхмерной структуры фермента с тремя доменами. Домены образованы  $\beta$ -спиралью, состоящей из 10 плотных витков, которые формируют три параллельных  $\beta$ -листа; Б и В — увеличенная область активного сайта, соответственно, с катионом  $\text{Ca}^{2+}$ , связанным с участком субстрата и с аминокислотными остатками Lys273, Asp209, Asp233, Asp237, Asp234 и Asp268 (последние два не показаны).

Рисунок 7. Молекулярная структура тела и активного сайта фермента семейства PL9 [21]  
Figure 7. Molecular structure of the body and active site of the enzyme of the PL9 family [21]

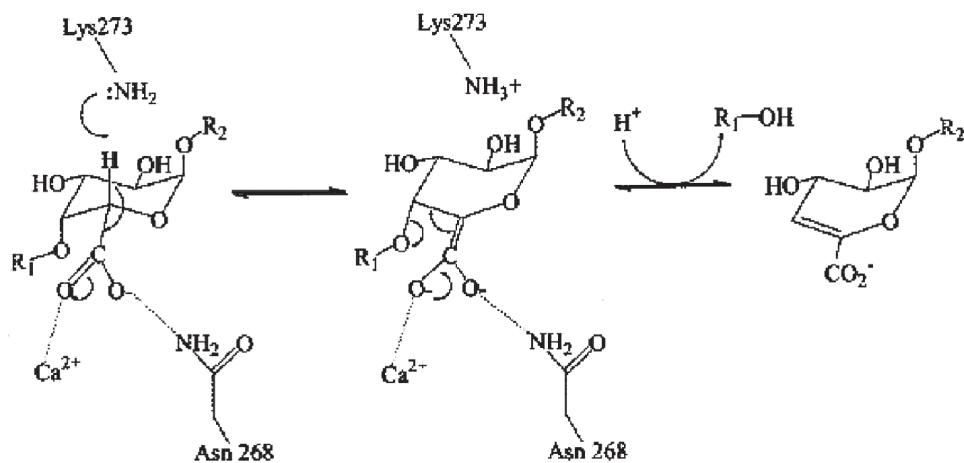
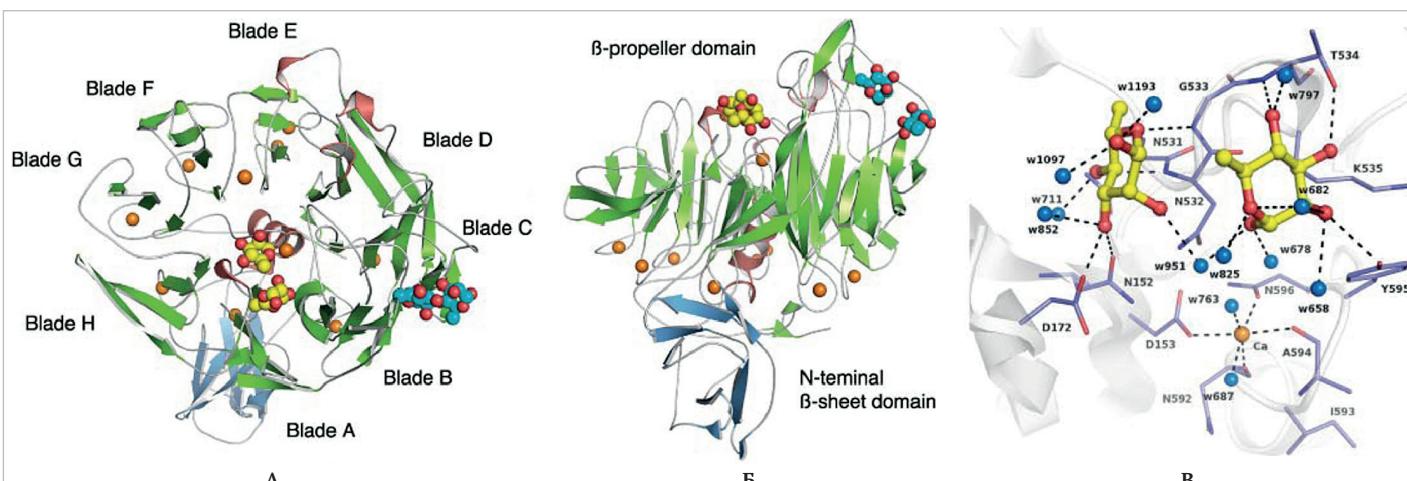


Рисунок 8. Предполагаемый механизм ферментативной реакции PL9 [21]  
Figure 8. Assumed mechanism of the PL9 enzymatic reaction [21]



Примечание: А — пространственное отображение трёхмерной структуры фермента с доменом в виде  $\beta$ -пропеллера с восемью лопастями (А, В, С, Д, Е, Ф, Г и Н), образованными  $\beta$ -листами и спиралью, с включением ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в каждую лопасть; Б — то же пространственное отображение фермента, развернутое на  $90^\circ$  для отображения N-терминала в домене, образованном  $\beta$ -листом; В — увеличенная область активного сайта.

Рисунок 9. Молекулярная структура тела и активного сайта фермента семейства PL11 [25,26]  
Figure 9. Molecular structure of the body and active site of the enzyme of the PL11 family [25,26]

остатка Lys 170. Стабилизация осуществляется в комплексе с четырьмя остатками Asp153 (D153), Asn592 (N592), Ala594 (A594), и Asn596 (N596).

В семейство PL26 входят ферменты рамногалактуронан эндо-лиаза EC4.2.2.23 и рамногалактуронан экзо-лиаза EC4.2.2.24 [31]. Особенностью молекулярной структуры ферментов этого семейства является то, что в составе трёхдоменного комплекса конформация домена III имеет конфигурацию  $(\alpha/\alpha)_6$ -ротора (Рисунок 10).

С этим, предположительно, связана и локализация активного сайта именно в этом домене.

Ключевыми аминокислотными остатками активного сайта рамногалактуронан эндо-лиазы являются Arg634 и Arg648. У рамногалактуронан экзо-лиазы — Lis535 и Arg452. Несмотря на некоторую удалённость от активного сайта катиона  $\text{Ca}^{2+}$ , он также принимает участие в каталитическом процессе, блокируя карбоксильную группу GalA в окружении аминокислотных остатков Asp562, Asp585, His616, Asp621 и His639.

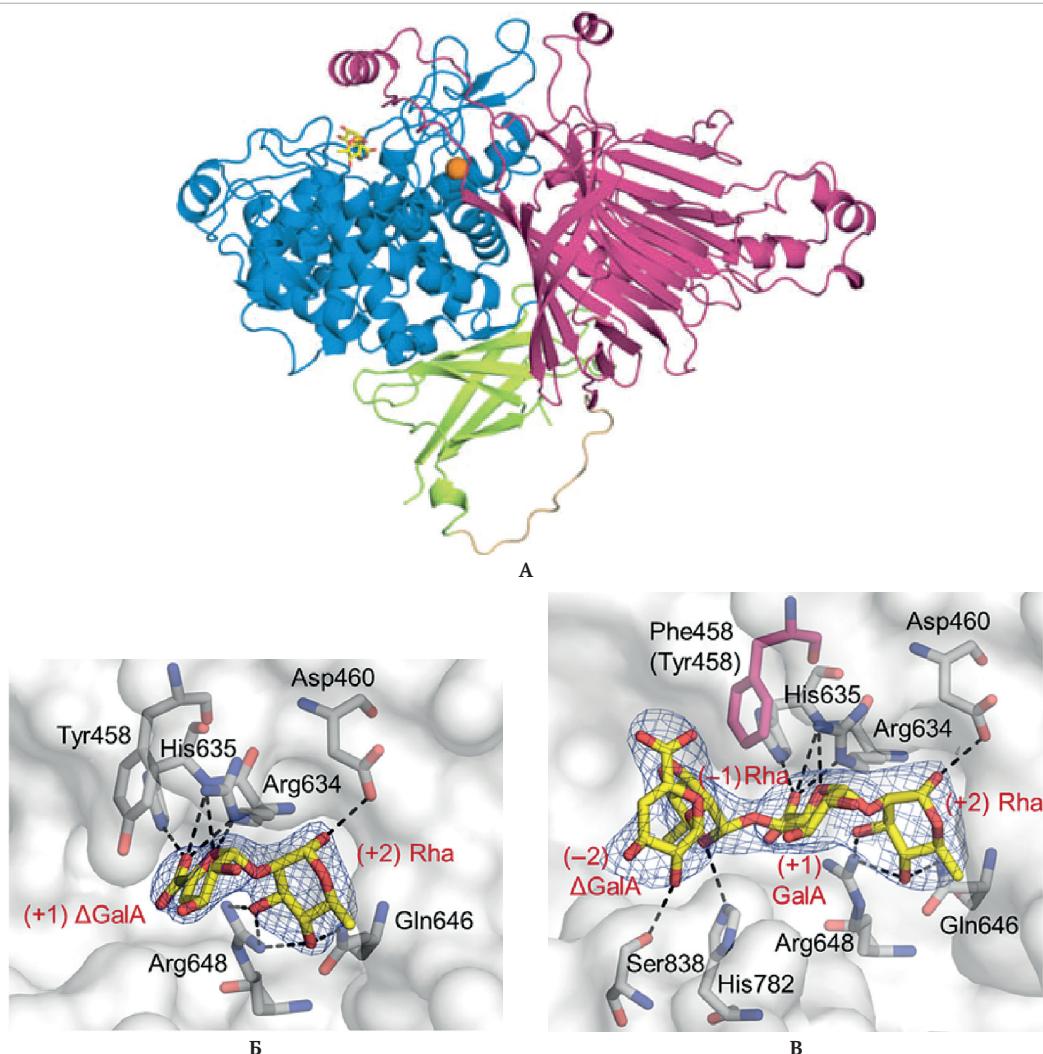
#### 4.2. Ферменты гидролазного действия

В состав семейства гликозид-гидролаз GH28 входят ферменты рамногалактуроназа EC3.2.1.171 и рамногалактуронан  $\alpha$ -1,2-галактуроногидролаза EC3.2.1.173 [22, 32–35]. В молекулярной структуре ферментов  $\beta$ -спираль скомпонована в три параллельных  $\beta$ -листата (Рисунок 11). Активный сайт фермен-

тов данного семейства включает кластер из четырех остатков аминокислот Asp177, Asp180, Asp197 и Glu198, а также — отдельно стоящий остаток Asp156. При этом расстояние между функциональными группами остатков Asp180 и Asp156 хорошо согласуется с существующим пониманием каталитического механизма инверсии гликозидных связей.

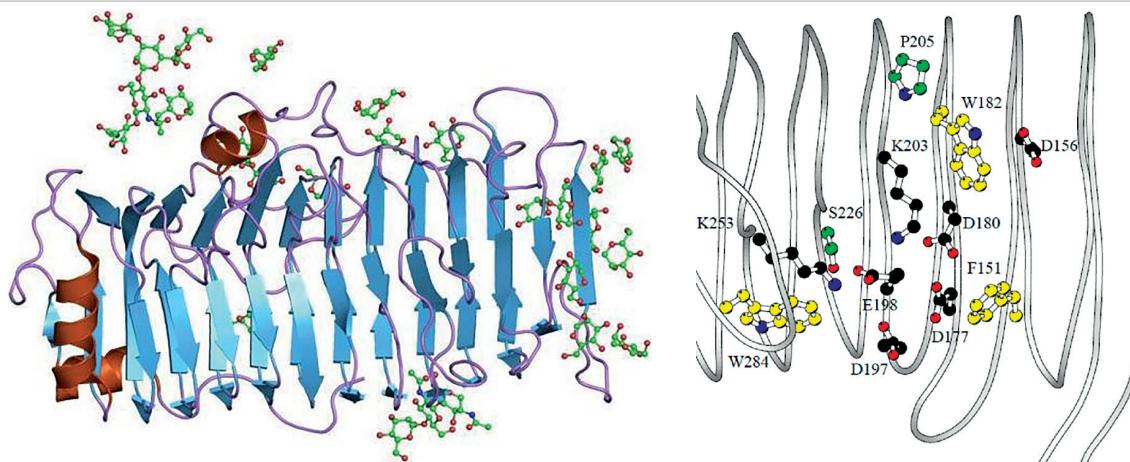
В семейство GH78 из рассматриваемых ферментов входит только рамногалактуронан  $\alpha$ -L-рамногидролаза EC3.2.1.174 [36, 37]. Молекулярная структура фермента включает пять отдельных домена, собранных воедино в четвертичную структуру. При этом четыре домена в высокой степени насыщены  $\beta$ -структурными (спиралями и листами), в то время как пятый — каталитически активный и самый большой — представлен в конформации  $(\alpha/\alpha)_6$ -ротора (Рисунок 12). Для рамногалактуронан  $\alpha$ -L-рамногидролазы EC3.2.1.174, входящей в данное семейство, точный путь ключевых аминокислотных остатков активного сайта неизвестен. По некоторым предположениям [36], в качестве таковых может выступать Glu572 в комбинации с Asp567 или Glu841.

В семейство GH105 входит ненасыщенная рамногалактуронил гидролаза EC3.2.1.172 [38, 39]. Особенность ферментов данного семейства состоит в том, что сам фермент мономерен, то есть, представлен единственным доменом, имеющим структуру  $(\alpha/\alpha)_6$ -ротора (Рисунок 13). Ключевым каталитическим аминокислотным остатком активного



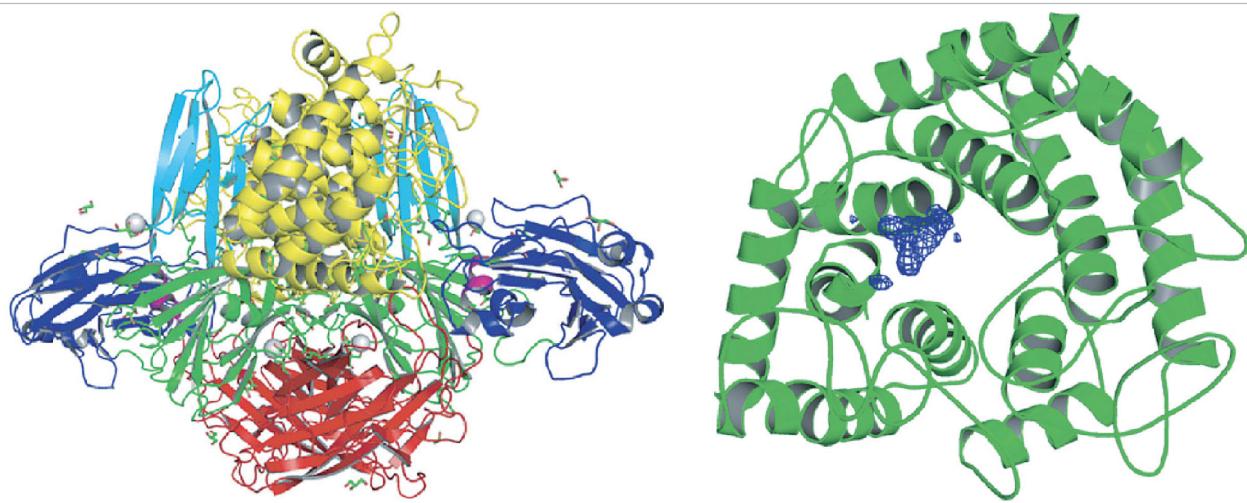
Примечание: А — пространственное отображение трехмерной структуры фермента с доменами I, II и III (домен III — в конфигурации  $(\alpha/\alpha)_6$ -ротора), с активным сайтом в домене III с катионом  $\text{Ca}^{2+}$ ; Б и В — увеличенные области активного сайта с каталитическими центрами Arg634 и Arg648.

Рисунок 10. Молекулярная структура тела и активного сайта фермента семейства PL26 [31]  
Figure 10. Molecular structure of the body and active site of the enzyme of the PL26 family [31]



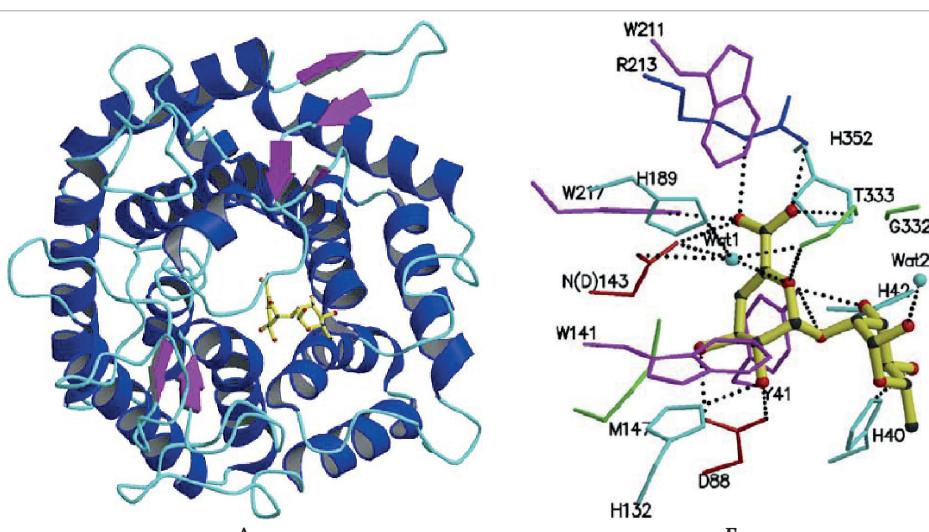
Примечание: А – пространственное отображение трёхмерной структуры фермента с параллельными  $\beta$ -спиралями; Б – увеличенная область активного сайта с каталитическими центрами Asp180 (D180) и Asp156 (D156).

Рисунок 11. Молекулярная структура фермента семейства GH28 [34,38]  
Figure 11. Molecular structure of the enzyme of the GH28 family [34,38]



Примечание: А – пространственное отображение трёхмерной структуры фермента, включающей пять доменов; Б – каталитически-активный домен в конформации ( $\alpha/\alpha_r$ )-ротора.

Рисунок 12. Молекулярная структура фермента семейства GH78 [36,38]  
Figure 12. Molecular structure of the enzyme of the GH78 family [36,38]



Примечание: А – пространственное отображение трёхмерной структуры фермента в конформации ( $\alpha/\alpha_r$ )-ротора; Б – увеличенные области активного сайта с каталитическими аминокислотными остатками Asn(Asp)143 (D143), Thr333 (T333) и His189 (H189).

Рисунок 13. Молекулярная структура тела и активного сайта фермента семейства GH105 [39]  
Figure 13. Molecular structure of the body and active site of the enzyme of the GH105 family [39]

сайта является Asn(Asp)143. При этом важную роль в катализическом процессе играют также остатки Thr333 и His189, удерживающие молекулу воды, которая участвует в процессе гидролитического расщепления гликозидной связи, в катализически выгодной позиции (Рисунок 14).

К семейству GH138 относится фермент рамногалактуронан  $\alpha$ -1,2-галактуроногидролазаза EC3.2.1.173 [40,41]. Четвертичная молекулярная структура фермента образована четырьмя доменами (ND1, D2, D3 и CB4). Активный сайт локализован в домене D2, имеющем конформацию ( $\beta/\alpha$ )<sub>8</sub>-ротора (Рисунок 15).

В составе активного сайта аминокислотные остатки Arg332 и Arg521 выполняют роль детерминанта специфичности каталитической активности фермента в отношении остатков D-галактуроновой кислоты.

В то же время ключевыми аминокислотными остатками, определяющими каталитическую активность фермента, являются Glu294 и Glu361 (Рисунок 16).

Описанная классификация ферментов лиазного и гидролазного действия, фрагментирующих основную цепь рамногалактуронана, с точки зрения некоторых учёных является избыточной. Так, одни исследователи [31,42–45] полагают,

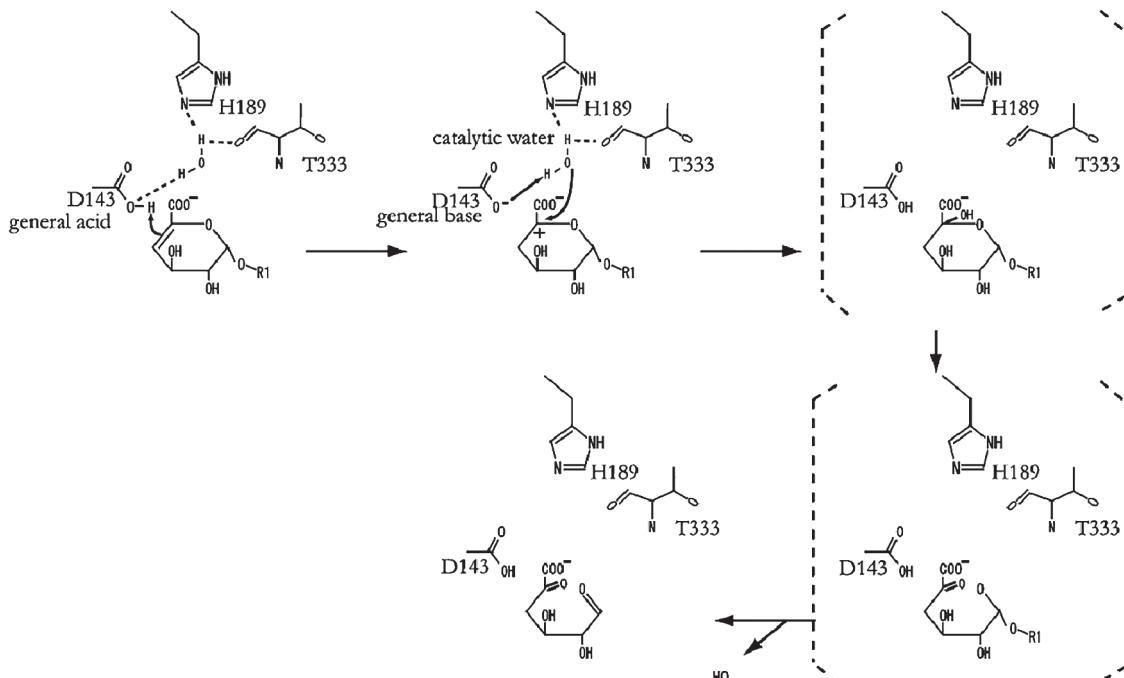
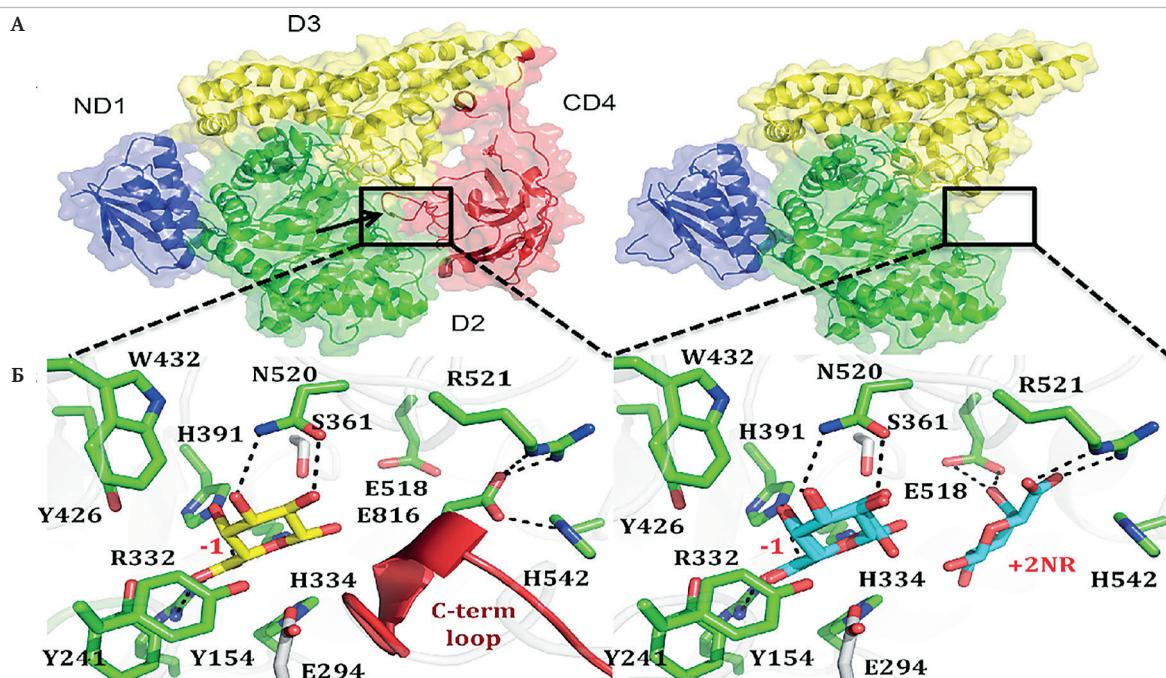
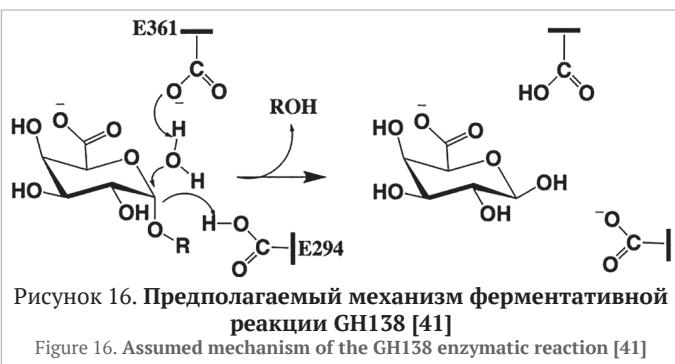


Рисунок 14. Предполагаемый механизм ферментативной реакции GH105 [39]  
Figure 14. Assumed mechanism of the GH105 enzymatic reaction [39]



Примечание: А – пространственное отображение трёхмерной структуры фермента с четырьмя доменами ND1, D2, D3 и CB4; Б – увеличенные области активного сайта в конформации ( $\beta/\alpha$ )<sub>8</sub>-ротора с каталитическими аминокислотными остатками Glu361 (S361) и Glu294 (E294)

Рисунок 15. Молекулярная структура тела и активного сайта фермента семейства GH138 [41]  
Figure 15. Molecular structure of the body and active site of the enzyme of the GH138 family [41]

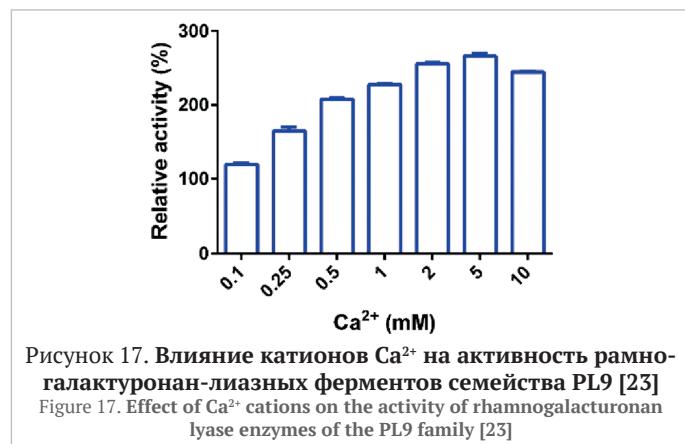


что рамногалактуронан лиазы эффективно представлены всего двумя семействами — PL4 и PL11, другие авторы [46] относят к ним также семейство PL26. В то же время в работе [47] и в базе данных The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy) [15] речь идёт уже обо всех четырёх семействах.

Похожая картина имеет место и в отношении гликозидгидролаз: в работе [45] из четырёх описанных семейств рамногалактуронан-гидролаз к таковым отнесены только GH28 и GH78, тогда как в [37,44] — GH28 и GH105. Более того, в работах [11,45] к рамногалактуронан-гидролазам не относят ферменты группы EC3.2.1.172. В то же время в базе данных CAZy [15] так же речь идет обо всех четырёх семействах.

#### 4.3. Влияние катионов на ферментативную активность лиаз и гидролаз

На каталитическую активность ферментов, фрагментирующих основную цепь рамногалактуронана, может оказывать влияние как концентрация субстрата (в этом случае сам процесс следует рассматривать в контексте классической ферментативной кинетики Михаэлиса–Ментен), так и концентрация сторонних компонентов, в качестве которых могут теоретически выступать и продукты ферментативного процесса. Однако, несомненно, первостепенную роль играют условия проведения процесса: температура и pH среды. Так как каждый рассматриваемый фермент как лиазного, так и гидролазного действия имеет свои значения оптимума температуры процесса и pH среды при условии наличия необходимого субстрата. Также в отношении лиаз особую значимость приобретает концентрация катионов поливалентных металлов. При этом влияние катионов на ферменты разных семейств лиаз проявляется по-разному. Так, все рассматриваемые семейства полисахарид-лиаз, за исключением PL4, крайне чувствительны к присутствию катионов  $\text{Ca}^{2+}$ : в отсутствии в среде катионов каталитическая активность ферментов практически исчезает [23,25,27,29,30]. При этом все исследователи отмечают, что введение в систему комплексона приводит



к частичной или полной инактивации фермента. Стоит заметить, что инактивация эта носит обратимый характер: при восстановлении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  активность практически полностью восстанавливается. Такое положение дел, по всей вероятности, связано с обязательным присутствием катионов в теле фермента. Причем в большинстве случаев сами катионы являются составляющей активных сайтов ферментов и непосредственно участвуют в катализическом процессе. По всей видимости, в составе фермента катионы достаточно подвижны, чтобы в случае гипотонической концентрации их в среде покидать исходное местоположение, переходя в неё.

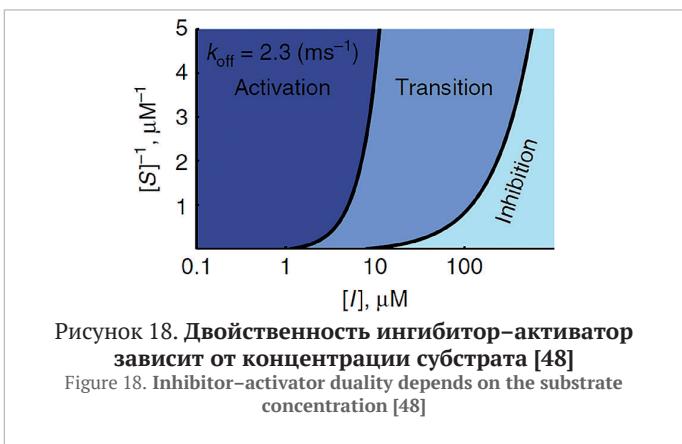
Полисахарид-лиазы семейства PL4 нарушают общую картину, не требуя обязательного присутствия катионов  $\text{Ca}^{2+}$  в среде [16,18–20], что, предположительно, может быть связано с пониженной подвижностью катионов в составе фермента на фоне повышенного сродства к связанным с ними остаткам аминокислот.

Во всех работах отмечено, что вне зависимости от принадлежности к описанным семействам полисахарид-лиаз для всех входящих в них ферментов имеет место повышение активности при некотором увеличении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в среде. При этом в работах [19,23,25,27,29,30] показано, что возрастанию активности лиазных ферментов может способствовать увеличение концентрации в среде не только катионов  $\text{Ca}^{2+}$ , но и  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и даже  $\text{Hg}^{2+}$ . Однако те же авторы отмечают, что при превышении некоторого критического значения концентрации катионов в среде активность фермента начинает убывать, что указывает на инициацию процессов ингибирования (Рисунок 17).

Таким образом, присутствие одних и тех же катионов в среде может инициировать как усиление активности ферментов, так и её инактивацию. Это хорошо согласуется с теорией [48] о двойственности влияния (Рисунок 18). Также на активность лиазных ферментов может оказывать влияние присутствие в среде либо накопление в ней в процессе ферментативной реакции отдельных углеводов (Таблица 1).

В отношении гидролазных ферментов, не содержащих нативно в составе своей молекулярной структуры катионы  $\text{Ca}^{2+}$ , в настоящее время нет однозначного представления о влиянии катионов на каталитическую активность. Однако отдельные исследования [49–51] косвенно указывают на такую возможность.

Протопектиновый комплекс матрикса клеточных стенок растительной ткани — надмолекулярная структура, одним из основных компонентов которой являются цепи рамногалактуронана. Он включает в свой состав не только полигликановые структуры, но и элементы их взаимосвязи, в том числе  $\text{Ca}^{2+}$ - и  $\text{Mg}^{2+}$ -, а также солевые (комбинированные с кислотным остатком) мостики (Рисунок 19).



Следовательно, в процессе ферментативной фрагментации протопектинового комплекса локальные концентрации высвобождающихся катионов могут превышать некоторые пороговые значения.

**Таблица 1. Влияние различных углеводов на рамногалактуронан экзо-лиазы (PL11) [25]**

Table 1. Effect of different carbohydrates on rhamnogalacturonan exo-lyases (PL11) [25]

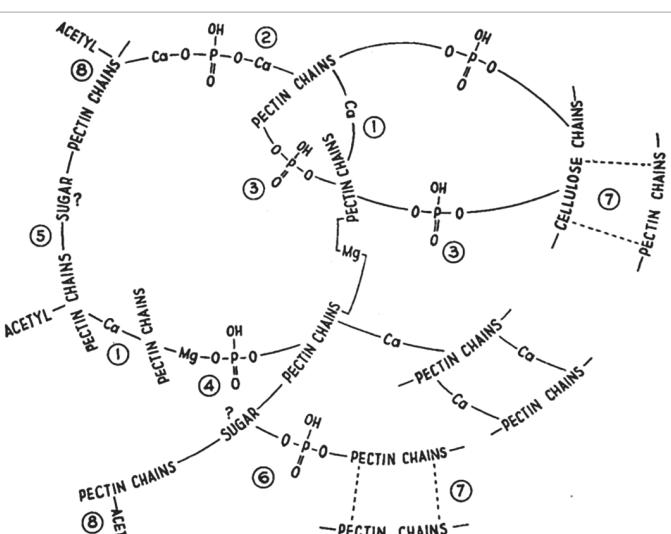
Добавленные углеводы *	Активность, % **	
	YesW	YesX
—	100	100
L-фукоза	108	92
D-галактоза	89	104
D-глюкоза	86	120
D-глюкуроновая кислота	117	125
D-манноза	117	116
L-рамноза	108	124
D-ксилоза	106	137
D-сахароза	77	120
D-галактуроновая кислота (GalA)	43	59
2-деоксиглюкоза	73	102
D-глюказамин	90	108

\* Углеводы добавлены в концентрации 5 mM;

\*\* Активность в вариантах без углеводов принята за 100%.

## 5. Выводы

Благодаря широкому спектру физико-химических, технологических и органолептических свойств, пектиновые вещества, направленно выделяемые из растительного сырья, имеют наибольший потенциал применения в пищевой и перерабатывающей промышленности среди остальных компонентов матрикса клеточных стенок. Поскольку основную функциональную нагрузку несут гомогалактуроновые фрагменты протопектинового комплекса в составе полимерных цепей рамногалактуронана, направленная биотехнологическая деструкция данных компонентов протопектинового комплекса с использованием ферментов лиазного и гидролазного действия представляет собой наиболее перспективный технологический подход при разработке эффективных технологий промышленного производства пектина. В соответствии с классификацией по механизму ферментативной деструкции основной цепи рамногалактуронана, ферменты лиазного действия представлены двумя группами, а гидролазного — четырьмя. В то же время, в соответствии с классификацией по молекулярной структуре, каждый рассматриваемый вид ферментов представлен четырьмя семействами. При этом данные классификации пересекаются, и в каждое семейство может входить как одна группа ферментов, так и несколько. Следует учитывать, что особенностью ферментов лиазного действия является непременное присутствие в одном или нескольких доменах катионов  $\text{Ca}^{2+}$ , за исключением семейства PL4. Катионы играют роль стабилизаторов/фиксаторов галактуронидных звеньев в положении, благоприятствующем выполнению целевыми аминокислотными остатками активных сайтов ферментов своих катализических функций. В составе гидролазных ферментов катионы  $\text{Ca}^{2+}$  не участвуют. Такое положение дел способствует чувствительности каталитической активности ферментов лиазного действия к присутствию катионов  $\text{Ca}^{2+}$  в системе «фермент — субстрат». При этом существует некоторый предел концентрации катионов, при превышении которых они начинают оказывать антагонистическое влияние на активность ферментов. В отношении ферментов гидролазного действия описанных семейств однозначное мнение на этот счёт отсутствует. Однако имеющиеся разрозненные данные показывают ненулевую вероятность наличия предела концентрации катионов и для данных ферментов. Учитывая особенности состава и структуры протопектинового комплекса, а молекулярные особенности целевых ферментов лиазного и гидролазного действия, при разработке биотехнологии промышленного производства пектиновых веществ с использованием ферментов необходимо принимать во внимание возможный ингибирующий эффект от присутствия катионов  $\text{Ca}^{2+}$  в системе. Для этого целесообразно исследовать возможность проведения предварительной декатионизации — удаления избыточной части катионов из системы непосредственно перед ферментативной обработкой.



**Рисунок 19. Структура связей между участками протопектинового комплекса, а также неуронидными полигликановыми компонентами матрикса клеточной стенки растительной ткани [52,53]**

Figure 19. Structure of bonds between sites of the protopectin complex as well as non-uronide polyglycan components of the cell wall matrix of plant tissue [52,53]

Таким образом, разработка подхода к определению необходимой степени предварительной декатионизации субстрата с использованием комплексона и последующим его удалением из среды является актуальным направлением.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кондратенко, В.В., Петров, А.Н., Кондратенко, Т.Ю. (2022). Основные представления о кинетике ферментативных процессов и подходах к её определению. *Все о мясе*, 6, 12–19. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-6-12-19>
2. Shin, Y., Chane, A., Jung, M., Lee, Y. (2021). Recent advances in understanding the roles of pectin as an active participant in plant signaling networks. *Plants*, 10(8), Article 1712. <https://doi.org/10.3390/plants10081712>
3. Carpita, N. C., McCann, M. C. (2020). Redesigning plant cell walls for the biomass-based bioeconomy. *Journal of Biological Chemistry*, 295(44), 15144–15157. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.014561>
4. Kaczmarska, A., Pieczywak, P. M., Cybulska, J., Zdunek, A. (2022). Structure and functionality of Rhamnogalacturonan I in the cell wall and in solution: A review. *Carbohydrate Polymers*, 278, Article 118909. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118909>
5. Majda, M., Robert, S. (2018). The role of Auxin in cell wall expansion. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), Article 951. <https://doi.org/10.3390/ijms19040951>
6. Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., Petrov, A. N., Belozerov, G. A. (2020). Assessing protopectin transformation potential of plant tissue using a zoned criterion space. *Foods and Raw Materials*, 8(2), 348–361. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-348-361>
7. Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., Petrov, A. N. (2021). Directed homoenzymatic fragmentation of the plant protopectin complex: Assessment criteria. *Foods and Raw Materials*, 9(2), 254–261. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-254-261>
8. Benz, J. P., Chau, B. H., Zheng, D., Bauer, S., Glass, N. L., Somerville, C.R. (2014). A comparative systems analysis of polysaccharide-elicited responses in *Neurospora crassa* reveals carbon source-specific cellular adaptations. *Molecular Microbiology*, 91(2), 275–299. <https://doi.org/10.1111/mmi.12459>
9. Кондратенко, В.В., Кондратенко, Т.Ю. (2022). Методологический подход к определению последовательности ферментов для фрагментации полигликанового комплекса растительной ткани. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 4, 85–101. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.366>
10. Петров, А.Н., Кондратенко, Т.Ю. (2022). О введении принципа насыщающей дополнительности ферментативного процесса в методологию глубокой переработки растительного сырья. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 93–108. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.365>
11. Kanungo, A., Bag, B. P. (2019). Structural insights into the molecular mechanisms of pectinolytic enzymes. *Journal of Proteins and Proteomics*, 10, 325–344. <https://doi.org/10.1007/s42485-019-00027-5>
12. Lombard, V., Bernard, T., Rancurel, C., Brumer, H., Coutinho, P. M., Henrissat, B. (2010). A hierarchical classification of polysaccharide lyases for glycogenomics. *Biochemical Journal*, 432(3), 437–444. <https://doi.org/10.1042/BJ20101185>
13. Webb, E. C. (ed.) (1992). Enzyme Nomenclature 1992: Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology and the Nomenclature and Classification of Enzymes. Washington: Academic Press, 1992.
14. International Union of Biochemistry and Molecular Biology. (2022). Rhamnogalacturonan Degradation. Retrieved from <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/reaction/polysacc/RhaGalA.html>. Accessed September 14, 2022.
15. Cantarel, B. L., Coutinho, P. M., Rancurel, C., Bernard, T., Lombard, V., Henrissat, B. (2009). The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic Acids Research*, 37, D233–D238. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn663>
16. Laatu, M., Condemein, G. (2003). Rhamnogalacturonate lyase RhiE is secreted by the out system in *Erwinia chrysanthemi*. *Journal of Bacteriology*, 185(5), 1642–1649. <https://doi.org/10.1128/JB.185.5.1642-1649.2003>
17. McDonough, M. A., Kadivelraj, R., Harris, P., Poulsen, J.-C.N., Larsen, S. (2004). Rhamnogalacturonan lyase reveals a unique three-domain modular structure for polysaccharide lyase family 4. *FEBS Letters*, 565(1–3), 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.03.094>
18. Jensen, M. H., Otten, H., Christensen, U., Borchert, T. V., Christensen, L. L. H., Larsen, S. et al. (2010). Structural and biochemical studies elucidate the mechanism of Rhamnogalacturonan Lyase from *Aspergillus aculeatus*. *Journal of Molecular Biology*, 404(1), 100–111. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.09.013>
19. Iwai, M., Yamada, H., Ikemoto, T., Matsumoto, S., Fujiwara, D., Takenaka, S. et al. (2015). Biochemical characterization and overexpression of an Endo-rhamnogalacturonan Lyase from *Penicillium chrysogenum*. *Molecular Biotechnology*, 57(6), 539–548. <https://doi.org/10.1007/s12033-015-9847-4>
20. Morales-Quintana, L., Ramos, P., Méndez-Yáñez, A. (2022). Rhamnogalacturonan Endolyase family 4 enzymes: An update on their importance in the fruit ripening process. *Horticulturae*, 8(5), Article 465. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050465>
21. Jenkins, J., Shevchik, V. E., Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Pickersgill, R. W. (2004). The crystal structure of Pectate Lyase Pel19A from *Erwinia chrysanthemi*. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(10), 9139–9145. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311390200>
22. Luis, A. S., Briggs, J., Zhang, X., Farnell, B., Ndeh, D., Labourel, A. et al. (2018). Dietary pectic glycans are degraded by coordinated enzyme pathways in human colonic *Bacteroides*. *Nature Microbiology*, 3(2), 210–219. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0079-1>
23. Yuan, Y., Zhang, X.-Y., Zhao, Y., Zhang, H., Zhou, Y.-F., Gao, J. (2019). A novel PL9 Pectate Lyase from *Paenibacillus polymyxia* KF-1: Cloning, expression, and its application in pectin degradation. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), Article 3060. <https://doi.org/10.3390/ijms20123060>
24. McKie, V. A., Vincken, J. P., Voragen, A. G., van den Broek, L. A., Stimson, E., Gilbert, H. J. (2001). A new family of rhamnogalacturonan lyases contains an enzyme that binds to cellulose. *Biochemical Journal*, 355(Pt1), 167–177. <https://doi.org/10.1042/bj3550167>
25. Ochiai, A., Itoh, T., Kawamata, A., Hashimoto, W., Murata, K. (2007). Plant cell wall degradation by saprophytic *Bacillus subtilis* strains: gene clusters responsible for rhamnogalacturonan depolymerization. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(12), 3803–3813. <https://doi.org/10.1128/aem.00147-07>
26. Ochiai, A., Itoh, T., Maruyama, Y., Kawamata, A., Mikami, B., Hashimoto, W. et al. (2007). A novel structural Fold in Polysaccharide Lyases: *Bacillus subtilis* family 11 rhamnogalacturonan lyase YesW with an eight-bladed  $\beta$ -propeller. *Journal of Biological Chemistry*, 282(51), 37134–37145. <https://doi.org/10.1074/jbc.M704663200>
27. Silva, I. R., Larsen, D. M., Meyer, A. S., Mikkelsen, J. D. (2011). Identification, expression, and characterization of a novel bacterial RGI lyase enzyme for the production of bio-functional fibers. *Enzyme and Microbial Technology*, 49(2), 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.04.015>
28. Silva, I. R., Jers, C., Otten, H., Nyffenegger, C., Larsen, D. M., Derkx, P. M. F. et al. (2014). Design of thermostable rhamnogalacturonan lyase mutants from *Bacillus licheniformis* by combination of targeted single point mutations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 4521–4531. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5483-8>
29. Dhillon, A., Fernandes, V. O., Dias, F. M. V., Prates, J. A. M., Ferreira, L. M. A., Fontes, C. M. G. A. et al. (2016). A new member of family 11 Polysaccharide Lyase, Rhamnogalacturonan Lyase (CtRGLf) from *Clostridium thermocellum*. *Molecular Biotechnology*, 58(4), 232–240. <https://doi.org/10.1007/s12033-016-9921-6>
30. Wang, W., Wang, Y., Yi, H., Liu, Y., Zhang, G., Zhang, L. et al. (2022). Biochemical characterization of two Rhamnogalacturonan Lyases from *Bacteroides ovatus* ATCC8483 with preference for RG-I substrates. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 799875. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.799875>
31. Kunishige, Y., Iwai, M., Nakazawa, M., Ueda, M., Tada, T., Nishimura, S. et al. (2018). Crystal structure of exo-rhamnogalacturonan lyase from *Penicillium chrysogenum* as a member of polysaccharide lyase family 26. *FEBS Letters*, 592(8), 1378–1388. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13034>
32. Kofod, L. V., Kauppinen, S., Christgau, S., Andersen, L. N., Heldt-Hansen, H. P., Dörrereich, K. et al. (1994). Cloning and characterization of two structurally and functionally divergent rhamnogalacturonases from *Aspergillus aculeatus*. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(46), 29182–29189. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)62028-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)62028-4)
33. Suykerbuik, M. E., Kester, H. C., Schaap, P. J., Stam, H., Musters, W., Visser, J. (1997). Cloning and characterization of two rhamnogalacturonan hydrolase genes from *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2507–2515. <https://doi.org/10.1128/aem.63.7.2507-2515.1997>
34. Petersen, T. N., Kauppinen, S., Larsen, S. (1997). The crystal structure of rhamnogalacturonase A from *Aspergillus aculeatus*: a right-handed parallel beta helix. *Structure*, 5(4), 533–544. [https://doi.org/10.1016/S0969-2120\(97\)00209-8](https://doi.org/10.1016/S0969-2120(97)00209-8)
35. Fu, J., Prade, R., Mort, A. (2001). Expression and action pattern of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) rhamnogalacturonan hydrolase in *Pichia pastoris*. *Carbohydrate Research*, 330(1), 73–81. [https://doi.org/10.1016/s0008-6215\(00\)00268-8](https://doi.org/10.1016/s0008-6215(00)00268-8)
36. Cui, Z., Maruyama, Y., Mikami, B., Hashimoto, W., Murata, K. (2007). Crystal structure of glycoside hydrolase family 78  $\alpha$ -L-Rhamnosidase from *Bacillus sp.* GL1. *Journal of Molecular Biology*, 374(2), 384–398. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.09.003>
37. Matsumoto, S., Yamada, H., Kunishige, Y., Takenaka, S., Nakazawa, M., Ueda, M. et al. (2017). Identification of a novel *Penicillium chrysogenum* rhamnogalacturonan rhamnohydrolase and the first report of a rhamnogalacturonan rhamnohydrolase gene. *Enzyme and Microbial Technology*, 98, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.12.008>
38. Shrivastava, S. (2020). Introduction to glycoside hydrolases: Classification, identification and occurrence. Chapter in a book: Industrial Applications of Glycoside Hydrolases. Singapore: Springer, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-4767-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4767-6_1)
39. Itoh, T., Ochiai, A., Mikami, B., Hashimoto, W., Murata, K. (2006). Structure of unsaturated rhamnogalacturonyl hydrolase complexed with substrate. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 347(4), 1021–1029. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.07.034>
40. Ndeh, D., Rogowski, A., Cartmell, A., Luis, A. S., Baslé, A., Gray, J. et al. (2017). Complex pectin metabolism by gut bacteria reveals novel catalytic functions. *Nature*, 544(7648), 65–70. <https://doi.org/10.1038/nature21725>

41. Labourel, A., Baslé, A., Muñoz-Muñoz, J., Ndeh, D., Booth, S., Nepogodiev, S.A. et al. (2019). Structural and functional analyses of glycoside hydrolase 138 enzymes targeting chain A galacturonic acid in the complex pectin rhamnogalacturonan II. *Journal of Biological Chemistry*, 294(19), 7711–7721. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra118.006626>
42. Ochoa-Jiménez, V.-A., Berumen-Varela, G., Fernández-Valle, R., Tiznado-Hernández, M.-E. (2018). Rhamnogalacturonan Lyase: A pectin modification enzyme of higher plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30(11), 910–917. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i11.1858>
43. van den Brink, J., de Vries, R.P. (2011). Fungal enzyme sets for plant polysaccharide degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(6), 1477–1492. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3473-2>
44. Silva, I. R., Jers, C., Meyer, A. S., Mikkelsen, J. D. (2016). Rhamnogalacturonan I modifying enzymes: an update. *New Biotechnology*, 33(1), 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.07.008>
45. Samanta, S. (2019). Microbial pectinases: A review on molecular and biotechnological perspectives. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(2), 248–266. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.9.2.248-266>
46. Méndez-Yáñez, A., González, M., Carrasco-Orellana, C., Herrera, R., Moya-León, M. A. (2020). Isolation of a rhamnogalacturonan lyase expressed during ripening of the Chilean strawberry fruit and its biochemical characterization. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 411–419. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.041>
47. Lombard, V., Bernard, Th., Rancurel, C., Brumer, H., Coutinho, P.M., Henrissat, B. (2010). A hierarchical classification of polysaccharide ly-
- ases for glycogenomics. *Biochemical Journal*, 432(3), 437–444. <https://doi.org/10.1042/BJ20101185>
48. Robin, T., Reuveni, S., Urbakh, M. (2018). Single-molecule theory of enzymatic inhibition. *Nature Communications*, 9, Article 779. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02995-6>
49. Furusawa, G., Azami, N. A., Teh, A.-H. (2021). Genes for degradation and utilization of uronic acid-containing polysaccharides of a marine bacterium Catenovulum sp. CCB-QB4. *PeerJ*, 9, Article e10929. <http://doi.org/10.7717/peerj.10929>
50. O'Neill, E. C., Stevenson, C. E. M., Paterson, M. J., Rejzek, M., Chauvin, A.-L., Lawson, D. M. et al. (2015). Crystal structure of a novel two domain GH78 family  $\alpha$ -rhamnosidase from *Klebsiella oxytoca* with rhamnose bound. *Proteins*, 83(9), 1742–1749. <https://doi.org/10.1002/prot.24807>
51. Fujimoto, Z., Jackson, A., Michikawa, M., Maehara, T., Momma, M., Henrissat, B. et al. (2013). The structure of a Streptomyces avermitilis  $\alpha$ -L-rhamnosidase reveals a novel carbohydrate-binding module CBM67 within the six-domain arrangement. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(17), 12376–12385. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.460097>
52. Joslyn, M. A. (1963). The chemistry of protopectin: A critical review of historical data and recent developments. *Advances in Food Research*, 11, 1–107. [https://doi.org/10.1016/S0006-2628\(08\)60064-6](https://doi.org/10.1016/S0006-2628(08)60064-6)
53. Henglein, F. A. (1958). Die Uron- und Polyuronsäuren (Pektin und Alginäsure). Chapter in a book: Aufbau Speicherung Mobilisierung und Umbildung der Kohlenhydrate. Handbuch der Pflanzenphysiologie, V.6. Berlin, Heidelberg: Springer, 1958. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-94731-5\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-642-94731-5_18) (In German)

## REFERENCES

1. Kondratenko, V. V., Petrov, A. N., Kondratenko, T. Yu. (2022). Basic notions for kinetics of enzymatic processes and approaches to its determination. *Vsyo o Myase*, 6, 12–19. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-6-12-19> (In Russian)
2. Shin, Y., Chane, A., Jung, M., Lee, Y. (2021). Recent advances in understanding the roles of pectin as an active participant in plant signaling networks. *Plants*, 10(8), Article 1712. <https://doi.org/10.3390/plants10081712>
3. Carpita, N. C., McCann, M. C. (2020). Redesigning plant cell walls for the biomass-based bioeconomy. *Journal of Biological Chemistry*, 295(44), 15144–15157. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.014561>
4. Kaczmarśka, A., Pieczywak, P. M., Cybulska, J., Zdunek, A. (2022). Structure and functionality of Rhamnogalacturonan I in the cell wall and in solution: A review. *Carbohydrate Polymers*, 278, Article 118909. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118909>
5. Majda, M., Robert, S. (2018). The role of Auxin in cell wall expansion. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), Article 951. <https://doi.org/10.3390/ijms19040951>
6. Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., Petrov, A. N., Belozerov, G. A. (2020). Assessing protopectin transformation potential of plant tissue using a zoned criterion space. *Foods and Raw Materials*, 8(2), 348–361. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-348-361>
7. Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., Petrov, A. N. (2021). Directed homoenzymatic fragmentation of the plant protopectin complex: Assessment criteria. *Foods and Raw Materials*, 9(2), 254–261. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-254-261>
8. Benz, J. P., Chau, B. H., Zheng, D., Bauer, S., Glass, N. L., Somerville, C.R. (2014). A comparative systems analysis of polysaccharide-elicited responses in *Neurospora crassa* reveals carbon source-specific cellular adaptations. *Molecular Microbiology*, 91(2), 275–299. <https://doi.org/10.1111/mmi.12459>
9. Kondratenko, V.V., Kondratenko, T. Yu. (2022). Methodological approach to determine the sequence of enzymes for plant tissue polyglycan complex fragmentation. *Storage and Processing of Farm Products*, 4, 85–101. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.366> (In Russian)
10. Petrov, A.N., Kondratenko, T. Yu. (2022). Introduction the principle of saturation addititonality for enzymatic process into the methodology of plants raw materials complete processing. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 93–108. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.365> (In Russian)
11. Kanungo, A., Bag, B. P. (2019). Structural insights into the molecular mechanisms of pectinolytic enzymes. *Journal of Proteins and Proteomics*, 10, 325–344. <https://doi.org/10.1007/s42485-019-00027-5>
12. Lombard, V., Bernard, T., Rancurel, C., Brumer, H., Coutinho, P. M., Henrissat, B. (2010). A hierarchical classification of polysaccharide lyases for glycogenomics. *Biochemical Journal*, 432(3), 437–444. <https://doi.org/10.1042/BJ20101185>
13. Webb, E. C. (ed.) (1992). Enzyme Nomenclature 1992: Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology and the Nomenclature and Classification of Enzymes. Washington: Academic Press, 1992.
14. International Union of Biochemistry and Molecular Biology. (2022). Rhamnogalacturonan Degradation. Retrieved from <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/reaction/polysacc/RhaGalA.html>. Accessed September 14, 2022.
15. Cantarel, B. L., Coutinho, P. M., Rancurel, C., Bernard, T., Lombard, V., Henrissat, B. (2009). The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic Acids Research*, 37, D233–D238. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn663>
16. Laatu, M., Condemeine, G. (2003). Rhamnogalacturonate lyase RhiE is secreted by the out system in *Erwinia chrysanthemi*. *Journal of Bacteriology*, 185(5), 1642–1649. <https://doi.org/10.1128/JB.185.5.1642-1649.2003>
17. McDonough, M. A., Kadirvelraj, R., Harris, P., Poulsen, J. -C.N., Larsen, S. (2004). Rhamnogalacturonan lyase reveals a unique three-domain modular structure for polysaccharide lyase family 4. *FEBS Letters*, 565(1–3), 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.03.094>
18. Jensen, M. H., Otten, H., Christensen, U., Borchert, T. V., Christensen, L. L. H., Larsen, S. et al. (2010). Structural and biochemical studies elucidate the mechanism of Rhamnogalacturonan Lyase from *Aspergillus aculeatus*. *Journal of Molecular Biology*, 404(1), 100–111. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.09.013>
19. Iwai, M., Yamada, H., Ikemoto, T., Matsumoto, S., Fujiwara, D., Takenaka, S., et al. (2015). Biochemical characterization and overexpression of an Endo-rhamnogalacturonan Lyase from *Penicillium chrysogenum*. *Molecular Biotechnology*, 57(6), 539–548. <https://doi.org/10.1007/s12033-015-9847-4>
20. Morales-Quintana, L., Ramos, P., Méndez-Yáñez, A. (2022). Rhamnogalacturonan Endolyase family 4 Enzymes: An update on their importance in the fruit ripening process. *Horticulturae*, 8(5), Article 465. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050465>
21. Jenkins, J., Shevchik, V. E., Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Pickersgill, R. W. (2004). The Crystal Structure of Pectate Lyase Pel9A from *Erwinia chrysanthemi*. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(10), 9139–9145. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311390200>
22. Luis, A. S., Briggs, J., Zhang, X., Farnell, B., Ndeh, D., Labourel, A. et al. (2018). Dietary pectic glycans are degraded by coordinated enzyme pathways in human colonic *Bacteroides*. *Nature Microbiology*, 3(2), 210–219. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0079-1>
23. Yuan, Y., Zhang, X.-Y., Zhao, Y., Zhang, H., Zhou, Y.-F., Gao, J. (2019). A novel PL9 Pectate Lyase from *Paenibacillus polymyxa* KF-1: Cloning, expression, and its application in pectin degradation. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), Article 3060. <https://doi.org/10.3390/ijms20123060>
24. McKie, V. A., Vincenck, J. P., Voragen, A. G., van den Broek, L. A., Stimson, E., Gilbert, H. J. (2001). A new family of rhamnogalacturonan lyases contains an enzyme that binds to cellulose. *Biochemical Journal*, 355(Pt1), 167–177. <https://doi.org/10.1042/bj3550167>
25. Ochiai, A., Itoh, T., Kawamata, A., Hashimoto, W., Murata, K. (2007). Plant cell wall degradation by saprophytic *Bacillus subtilis* strains: gene clusters responsible for rhamnogalacturonan depolymerization. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(12), 3803–3813. <https://doi.org/10.1128/aem.00147-07>
26. Ochiai, A., Itoh, T., Maruyama, Y., Kawamata, A., Mikami, B., Hashimoto, W. et al. (2007). A novel structural fold in Polysaccharide Lyases: *Bacillus subtilis* family 11 rhamnogalacturonan lyase YesW with an eight-bladed  $\beta$ -propeller. *Journal of Biological Chemistry*, 282(51), 37134–37145. <https://doi.org/10.1074/jbc.M704663200>
27. Silva, I. R., Larsen, D. M., Meyer, A. S., Mikkelsen, J. D. (2011). Identification, expression, and characterization of a novel bacterial RGI lyase enzyme for the production of bio-functional fibers. *Enzyme and Microbial Technology*, 49(2), 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.04.015>
28. Silva, I. R., Jers, C., Otten, H., Nyffenegger, C., Larsen, D. M., Derkx, P. M. F. et al. (2014). Design of thermostable rhamnogalacturonan lyase mutants from *Bacillus licheniformis* by combination of targeted single point mutations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 4521–4531. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5483-8>

29. Dhillon, A., Fernandes, V. O., Dias, F. M. V., Prates, J. A. M., Ferreira, L. M. A., Fontes, C. M. G. A. et al. (2016). A new member of family 11 Polysaccharide Lyase, Rhamnogalacturonan Lyase (CtRGLf) from *Clostridium thermocellum*. *Molecular Biotechnology*, 58(4), 232–240. <https://doi.org/10.1007/s12033-016-9921-6>
30. Wang, W., Wang, Y., Yi, H., Liu, Y., Zhang, G., Zhang, L. et al. (2022). Biochemical characterization of two Rhamnogalacturonan Lyases from *Bacteroides ovatus* ATCC8483 with preference for RG-I substrates. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 799875. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.799875>
31. Kunishige, Y., Iwai, M., Nakazawa, M., Ueda, M., Tada, T., Nishimura, S. et al. (2018). Crystal structure of exo-rhamnogalacturonan lyase from *Penicillium chrysogenum* as a member of polysaccharide lyase family 26. *FEBS Letters*, 592(8), 1378–1388. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13054>
32. Kofod, L. V., Kauppinen, S., Christgau, S., Andersen, L. N., Heldt-Hansen, H. P., Dörreich, K. et al. (1994). Cloning and characterization of two structurally and functionally divergent rhamnogalacturonases from *Aspergillus aculeatus*. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(46), 29182–29189. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)62028-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)62028-4)
33. Suykerbuyk, M. E., Kester, H. C., Schaap, P. J., Stam, H., Musters, W., Visser, J. (1997). Cloning and characterization of two rhamnogalacturonan hydro-lase genes from *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2507–2515. <https://doi.org/10.1128/aem.63.7.2507-2515.1997>
34. Petersen, T. N., Kauppinen, S., Larsen, S. (1997). The crystal structure of rhamnogalacturonase A from *Aspergillus aculeatus*: a right-handed parallel beta helix. *Structure*, 5(4), 533–544. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(97\)00209-8](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(97)00209-8)
35. Fu, J., Prade, R., Mort, A. (2001). Expression and action pattern of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) rhamnogalacturonan hydrolase in *Pichia pastoris*. *Carbohydrate Research*, 330(1), 73–81. [https://doi.org/10.1016/s0008-6215\(00\)00268-8](https://doi.org/10.1016/s0008-6215(00)00268-8)
36. Cui, Z., Maruyama, Y., Mikami, B., Hashimoto, W., Murata, K. (2007). Crystal structure of glycoside hydrolase family 78 α-L-Rhamnosidase from *Bacillus sp.* GL1. *Journal of Molecular Biology*, 374(2), 384–398. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.09.003>
37. Matsumoto, S., Yamada, H., Kunishige, Y., Takenaka, S., Nakazawa, M., Ueda, M. et al. (2017). Identification of a novel *Penicillium chrysogenum* rhamnogalacturonan rhamnohydrolase and the first report of a rhamnogalacturonan rhamnohydrolase gene. *Enzyme and Microbial Technology*, 98, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.12.008>
38. Shrivastava, S. (2020). Introduction to glycoside hydrolases: Classification, identification and occurrence. Chapter in a book: Industrial Applications of Glycoside Hydrolases. Singapore: Springer, 2020. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-4767-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4767-6_1)
39. Itoh, T., Ochiai, A., Mikami, B., Hashimoto, W., Murata, K. (2006). Structure of unsaturated rhamnogalacturonyl hydrolase complexed with substrate. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 347(4), 1021–1029. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.07.034>
40. Ndeh, D., Rogowski, A., Cartmell, A., Luis, A. S., Baslé, A., Gray, J. et al. (2017). Complex pectin metabolism by gut bacteria reveals novel catalytic functions. *Nature*, 544(7648), 65–70. <https://doi.org/10.1038/nature21725>
41. Labourel, A., Baslé, A., Munoz-Munoz, J., Ndeh, D., Booth, S., Nepogodiev, S.A. et al. (2019). Structural and functional analyses of glycoside hydrolase 138 enzymes targeting chain A galacturonic acid in the complex pectin rhamnogalacturonan II. *Journal of Biological Chemistry*, 294(19), 7711–7721. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra118.006626>
42. Ochoa-Jiménez, V.-A., Berumen-Varela, G., Fernández-Valle, R., Tiznado-Hernández, M.-E. (2018). Rhamnogalacturonan Lyase: A Pectin modification enzyme of higher plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30(11), 910–917. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i11.1858>
43. van den Brink, J., de Vries, R.P. (2011). Fungal enzyme sets for plant polysaccharide degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(6), 1477–1492. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3473-2>
44. Silva, I. R., Jers, C., Meyer, A. S., Mikkelsen, J. D. (2016). Rhamnogalacturonan I modifying enzymes: an update. *New Biotechnology*, 33(1), 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.07.008>
45. Samanta, S. (2019). Microbial pectinases: A review on molecular and biotechnological perspectives. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(2), 248–266. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.9.2.248-266>
46. Méndez-Yáñez, A., González, M., Carrasco-Orellana, C., Herrera, R., Moya-León, M. A. (2020). Isolation of a rhamnogalacturonan lyase expressed during ripening of the Chilean strawberry fruit and its biochemical characterization. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 411–419. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.041>
47. Lombard, V., Bernard, Th., Rancurel, C., Brumer, H., Coutinho, P.M., Henrissat, B. (2010). A hierarchical classification of polysaccharide lyases for glycogenomics. *Biochemical Journal*, 432(3), 437–444. <https://doi.org/10.1042/BJ20101185>
48. Robin, T., Reuveni, S., Urbakh, M. (2018). Single-molecule theory of enzymatic inhibition. *Nature Communications*, 9, Article 779. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02995-6>
49. Furusawa, G., Azami, N. A., Teh, A.-H. (2021). Genes for degradation and utilization of uronic acid-containing polysaccharides of a marine bacterium *Catenomvulum sp.* CCB-QB4. *PeerJ*, 9, Article e10929. <http://doi.org/10.7717/peerj.10929>
50. O'Neill, E. C., Stevenson, C. E.M., Paterson, M. J., Rejzek, M., Chauvin, A.-L., Lawson, D. M. et al. (2015). Crystal structure of a novel two domain GH78 family α-rhamnosidase from *Klebsiella oxytoca* with rhamnose bound. *Proteins*, 83(9), 1742–1749. <https://doi.org/10.1002/prot.24807>
51. Fujimoto, Z., Jackson, A., Michikawa, M., Maehara, T., Momma, M., Henrissat, B. et al. (2013). The structure of a Streptomyces avermitilis α-L-rhamnosidase reveals a novel carbohydrate-binding module CBM67 within the six-domain arrangement. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(17), 12376–12385. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.460097>
52. Joslyn, M. A. (1963). The Chemistry of protopectin: A critical review of historical data and recent developments. *Advances in Food Research*, 11, 1–107. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60064-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60064-6)
53. Henglein, F. A. (1958). Die Uron- und Polyuron-säuren (Pektin und Algin-säure). Chapter in a book: Aufbau Speicherung Mobilisierung und Umbildung der Kohlenhydrate. Handbuch der Pflanzenphysiologie, V.6. Berlin, Heidelberg: Springer, 1958. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-94731-5\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-642-94731-5_18) (In German)

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ****Принадлежность к организации**

**Кондратенко Владимир Владимирович** — кандидат технических наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория технологии пищевых систем общего и специализированного назначения, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования  
115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7  
Тел.: +7-916-328-61-03  
E-mail: v\_kondratenko@vnimi.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0913-5644>  
\* автор для контактов

**Кондратенко Татьяна Юрьевна** — старший научный сотрудник, лаборатория технологии пищевых систем общего и специализированного назначения, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования  
142703, Россия, Московская область, г. Видное, ул. Школьная, 78  
Тел.: +7-985-445-76-23  
E-mail: t.kondratenko@fncps.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8237-0774>

**Критерии авторства**

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за пластификатор.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**AUTHOR INFORMATION****Affiliation**

**Vladimir V. Kondratenko**, Candidate of Technical Sciences, Docent, Senior Researcher, Laboratory of Technology for Milk-Protein Concentrates, Food Additives and Products on their Basis, Russian Dairy Research Institute 35/7, Lusinovskaya Str., Москва, 115093, Russia  
Tel.: +7-916-328-61-03  
E-mail: v\_kondratenko@vnimi.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0913-5644>  
\* corresponding author

**Tatyana Yu. Kondratenko**, Senior Researcher, Laboratory of Food Systems Technology for General and Specialized Purposes, Russian Research Institute of Canning Technology 78, Shkolnaya Str., 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia  
Tel.: +7-985-445-76-23  
E-mail: t.kondratenko@fncps.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8237-0774>

**Contribution**

Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-202-210>

Поступила 23.03.2023

Поступила после рецензирования 13.06.2023

Принята в печать 19.06.2023

© Сухих С. А., Долганюк В. Ф., Кремлева О. Е., Ульрих Е. В., Каширских Е. В., Бабич О. О., 2023

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

Научная статья

Open access

# ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАКЦИИ, КОЛИЧЕСТВЕННОГО ВЫХОДА ПОЛИСАХАРИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПСИХРОФИЛЬНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Сухих С. А.<sup>1</sup>, Долганюк В. Ф.<sup>1,2</sup>, Кремлева О. Е.<sup>3</sup>, Ульрих Е. В.<sup>4\*</sup>,  
Каширских Е. В.<sup>1</sup>, Бабич О. О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

<sup>2</sup> Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

<sup>3</sup> Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь

<sup>4</sup> Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

микроводоросли,  
цианобактерии,  
антиоксидантный комплекс,  
ультразвук, биомасса,  
свободные радикалы

## АННОТАЦИЯ

Экзополисахариды и эндополисахариды являются основными составляющими антиоксидантного комплекса психрофильных микроводорослей и цианобактерий. Для извлечения данных соединений из клетки требуются высокие затраты энергии или большое количество химических веществ из-за неподатливости, сложности и разнообразия клеточной стенки микроводорослей. Целью данной работы являлось изучение количественного выхода полисахаридов в зависимости от мощности ультразвука и продолжительности экстракции, а также определение антиоксидантной активности антиоксидантного комплекса психрофильных микроводорослей и цианобактерий. Для выявления антиоксидантных свойств комплексов, полученных из биомассы микроскопических водорослей, использовали метод, основанный на измерении оптической плотности (в жидкой питательной среде), метод определения антиоксидантной активности исследуемых образцов по их способности восстанавливать свободные радикалы. В результате проведенных исследований установлены рациональные условия экстракции антиоксидантного комплекса из культуральной жидкости и связанных с клетками психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*. Установлено, что для экстракции экзополисахаридов психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* используется этанольная экстракция с модулем экстракции 1:2 и температурой экстракции 5 °C. Изучена способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать антиоксидантный комплекс. Установлено, что в состав данного комплекса входят полисахариды: эндо- и экзополисахарида. Способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать антиоксидантный комплекс доказана наличием значительной антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий, определенной методами ABTS, DPPH и FRAP. Наибольшей антиоксидантной активностью обладает психрофильная микроводоросль *Skeletonema pseudocostatum*. Наличие антиоксидантных свойств у психрофильных микроводорослей и цианобактерий открывает перспективы их использования в практических целях.

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

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Сухих, С. А., Долганюк, В. Ф., Кремлева, О. Е., Ульрих, Е. В., Каширских, Е. В., Бабич, О. О. (2023). Изучение параметров экстракции, количественного выхода полисахаридов и антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий. Пищевые системы, 6(2), 202-210. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-202-210>

FOR CITATION: Sukhikh, S. A., Dolganyuk, V. F., Kremleva, O. E., Ulrich, E. V., Kashirskikh, E. V., Babich, O. O. (2023). Study of extraction parameters, quantitative yield of polysaccharides and antioxidant activity of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. Food Systems, 6(2), 202-210. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-202-210>

Received 23.03.2023

Accepted in revised 13.06.2023

Accepted for publication 19.06.2023

© Sukhikh S. A., Dolganyuk V. F., Kremleva O. E., Ulrikh E. V., Kashirskikh E. V., Babich O. O., 2023

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

Original scientific article

Open access

# STUDY OF EXTRACTION PARAMETERS, QUANTITATIVE YIELD OF POLYSACCHARIDES AND THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PSYCHROPHILIC MICROALGAE AND CYANOBACTERIA

Stanislav A. Sukhikh<sup>1</sup>, Vyacheslav F. Dolganyuk<sup>1,2</sup>, Olga E. Kremleva<sup>3</sup>,  
Elena V. Ulrikh<sup>4</sup>,\* Egor V. Kashirskikh<sup>1</sup>, Olga O. Babich<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Baltic Federal University I. Kant, Kaliningrad, Russia

<sup>2</sup> Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

<sup>3</sup> Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

<sup>4</sup> Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia

## KEY WORDS:

*microalgae, cyanobacteria, antioxidant complex, ultrasound, biomass, free radicals*

## ABSTRACT

Exopolysaccharides and endopolysaccharides are the main components in the antioxidant complex of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. The extraction of these compounds from the cells is really energy consuming, as well as it requires large doses of chemicals due to the resilience, recalcitrance, complexity and diversity of the cell wall in microalgae. The purpose of this article was to study the dependence of polysaccharides quantitative yield on the power of ultrasound treatment and duration of their extraction, as well as to determine the antioxidant activity of the antioxidant complex of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. In order to find and confirm the antioxidant properties of the complexes obtained from the microscopic algae biomass, we used the method based on measuring the optical density (in a liquid nutrient medium), i. e. the method for determining the antioxidant activity of the samples under research by their ability to reduce the level of free radicals. As a result of the studies the rational conditions were found for the extraction of the antioxidant complex from the cell culture fluid, and from the cell-related psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile*, and *Anabaena cylindrica*. For the exopolysaccharides extraction from the psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica*, the method of ethanol extraction with an extraction module of 1:2 and an extraction temperature of 5°C was used. The ability of psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica* to produce an antioxidant complex was studied. It was found that this complex contains polysaccharides: endopolysaccharides and exopolysaccharides in particular. The ability of psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile*, and *Anabaena cylindrica* to produce an antioxidant complex was proven by the presence of significant antioxidant activity of psychrophilic microalgae and cyanobacteria, determined and confirmed by the methods ABTS, DPPH, and FRAP. The psychrophilic microalgae *Skeletonema pseudocostatum* possesses the highest antioxidant activity. The availability of antioxidant properties in psychrophilic microalgae and cyanobacteria opens up the prospects for their practical application.

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

## 1. Введение

Основное содержание антиоксидантного комплекса (АК) психрофильных микроводорослей и цианобактерий заключено в клеточной стенке [1]. Нарушение клеточной стенки является ключевым фактором для реализации АК [2]. Для извлечения соединений из клетки требуются высокие затраты энергии или большое количество химических веществ из-за неподатливости, сложности и разнообразия клеточной стенки микроводорослей [3]. Для разрушения клеток микроводорослей используются механические, физические и немеханические методы, которые применяются для разрушения или дезинтеграции клеточной мембранны. Это повышает выход желаемого компонента (например полисахаридов), который может быть извлечен из биомассы [4]. На Рисунке 1 показаны общие различия между механическими и немеханическими методами разрушения клеток.

В настоящее время используются следующие методы экстракции полисахаридов: экстракция горячей водой, экстракция горячей водой под давлением, экстракция с помощью микроволнового излучения, экстракция с помощью ультразвука, ферментативная экстракция, ферментативная экстракция с помощью ультразвука и экстракция с помощью



кислот и щелочей. При использовании этих видов были получены сходные показатели по выходу экстрактов, молекулярной массе, составу моносахаридов и содержанию нейтральных сахаров, фуказы, уроновых кислот и сульфатных групп [5], однако для исследований выбрали два метода экстракции: механическую/физическую экстракцию ультразвуком и химическую экстракцию с использованием растворов этилендиаминетрауксусной кислоты (ЭДТА).

Ультразвук действует в процессе, называемом кавитацией, которая создает ударные волны, влияющие на целостность клеточных стенок микроводорослей. Это увеличивает извлечение ряда соединений, в том числе менее доступных полисахаридов за более короткое время и при более низких температурах. Ультразвуковой метод разрушения клеток основан на силе сдвига жидкости, вызванной излучением звуков волн высокой частоты (до 15–20 кГц). В жидкости эти звуковые волны создают газовые пузырьки или полости, которые после определенного количества циклов достигают критического размера, схлопываясь и выделяя большое количество энергии. Кроме того, акустическая кавитация происходит за счет повышения локальной температуры и образования гидроксильных радикалов, которые повреждают клеточную стенку [6]. Помимо того, что это масштабируемый метод с низкими эксплуатационными затратами, можно оптимизировать некоторые параметры (например, температуру, концентрацию клеток, интенсивность звука и время) с целью частичного разрушения клеток, что приведет к селективному высвобождению белков [7]. Более того, на многообещающее использование ультразвука для крупномасштабной обработки биомассы микроводорослей ранее указывали Wei et al. [8], которые предположили, что крупномасштабные реакторы ультразвуковой экстракции, используемые в пищевой и химической промышленности, могут быть легко модифицированы для проведения ультразвуковой экстракции биомолекул микроводорослей в количествах до 200 кг/ч сухой массы биомассы. Однако этот метод не очень эффективен для некоторых видов микроводорослей и обычно сочетается с химическими обработками для повышения эффективности и снижения потребности в энергии [9]. Ультразвук включает в себя быстрое сжатие и декомпрессию последовательностей звуковых волн. Этот непрерывный цикл создает кавитацию внутри ячейки, содержащей жидкий пар, называемый микропузырьками — они образуются за счет появления акустических волн движения молекул жидкости. В зависимости от интенсивности ультразвука микропузырьки сжимаются, а затем разрушаются. Следовательно, они повышают давление, производят тепло, свободные радикалы, ударные волны и, в конечном итоге, разрушают клеточные стенки.

Экзополисахариды обычно экстрагируют из культуральной среды путем осаждения спиртом. Термическая стабильность экзополисахаридов является ключевой характеристикой, которая открывает возможности для использования экзополисахаридов микроводорослей в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности [10]. Экзополисахариды, полученные с использованием спиртов с различной длиной радикалов, отличаются растворимостью в воде и водоудерживающей способностью, что обеспечивает стабильные характеристики для их применения в качестве гидроколлоидов и стабилизаторов [11].

АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий, используемые для детоксикации АФК, имеют углеводное и полифенольное происхождение с внутриклеточным или внеклеточным механизмом действия (например, гасители синглетного кислорода, поглотители радикалов, доноры электронов, доноры водорода, разлагатели пероксидов, ин-

гибиторы ферментов, регуляторы экспрессии генов, синергисты и металлохелатирующие агенты) [4].

АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий — комплекс полисахаридов, который обладает способностью ингибировать окисление молекул и имеет множество медицинских и фармакологических применений. Из-за вредного воздействия обычных синтетических антиоксидантов их замена природными АК является правильным решением.

Данное исследование экстракции полисахаридов с помощью ультразвука было нацелено на изучение количественного выхода полисахаридов в зависимости от мощности и продолжительности экстракции и на определение антиоксидантной активности АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий.

## 2. Объекты и методы

### 2.1. Объекты исследований

Объектами исследований в работе были образцы психрофильных микроводорослей и цианобактерий, которые отбирали из природных источников (вода, песок, почва). Отбор природных образцов осуществляли в период с марта 2022 г. по май 2022 г. в акватории Балтийского моря в Калининградской области (Куршский залив, Балтийский залив).

### 2.2. Определение эндополисахаридов

Для выделения эндополисахаридов взвешенный осадок культуральной жидкости растворяли в дистиллированной воде и подбирали параметры ультразвукового диспергирования в ультразвуковой установке Ultrasonic Processor (Antylia Scientific, США) с различной мощностью (20 Вт, 40 Вт, 60 Вт) и продолжительностью обработки (0,5; 1,0; 2,0; 3,0; и 4,0 мин). Затем массу эндополисахаридов измеряли анtron-сернокислым методом и пересчитывали на сухую биомассу (мг/г с. в.).

### 2.3. Определение экзополисахаридов

Присутствие и количественную оценку экзополисахаридов психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* проводили методом антисульфата на каждом этапе выбора параметра. 150 мкл анtronового агента (0,1% раствор перекристаллизованного антрана в концентрированной серной кислоте) добавляли в каждую лунку микропланшета (DV-эксперт, Москва, Россия), содержащего 50 мкл образцов. Затем пластины помещали в холодильник Pozis RK-102 S (Diamond Elektrik, Москва, Россия) на 10 мин при температуре 4 °C. После охлаждения образцы инкубировали в термостате A-24 (Millab, Москва, Россия) в течение 20 мин при 70 °C. После нагрева образцы охлаждали до комнатной температуры. Оптическую плотность измеряли при 620 нм. Стандартную кривую строили с применением растворов сахараозы [12].

Осаждение спиртом использовали в связи с тем, что при добавлении этанола в раствор полисахаридов он нарушал баланс взаимодействий между молекулами полисахарид-полисахарид и полисахарид-вода. Это вызывало агрегацию полисахаридов и в конечном счете выпадение в осадок [13].

Культуральную среду с клетками микроводорослей центрифугировали при 3900 об/мин в течение 20 мин в центрифуге 1701 Hettich ROTINA 380 (DV-expert, Москва, Россия), собирали надосадочную жидкость и фильтровали через бумажный фильтр с размером пор 2–3 мкм (Millab, Москва, Россия). Фильтрат смешивали с различными спиртами (этанол, бутанол, изопропанол) в различных соотношениях (1:1,

1:2, 1:3) и оставляли отстаиваться на 12 ч при различных температурах ( $-30^{\circ}\text{C}$  ...  $+30^{\circ}\text{C}$  с шагом  $10^{\circ}\text{C}$ ). После осаждения растворы центрифугировали при 3900 об/мин в центрифуге (DV-expert, Москва, Россия), надосадочную жидкость декантировали, а осадок высушивали в лиофильной сушилке «Иней-6» (Институт биологического приборостроения Российской академии наук, Пущино, Россия) в течение 12 ч при  $-20^{\circ}\text{C}$  при давлении 0,350 мбар. После сушки выход выделенных полисахаридов определяли гравиметрически. Затем выделенную массу полисахарида пересчитывали на сухую биомассу (мг/г сухой биомассы) по формуле:

$$m = \frac{m_{od480}}{m_{d.w.}} \quad (1)$$

#### 2.4. Определение антиоксидантной активности экстрактов микроводорослей

Для доказательства способности психрофильных микроводорослей и цианобактерий продуцировать полисахариды была выявлена антиоксидантная активность самих психрофильных микроводорослей и цианобактерий путем анализа активности по поглощению радикалов, восстанавливающей способности и хелатной активности.

При определении антиоксидантной активности методом DPPH 20 мкл образца психрофильных микроводорослей и цианобактерий или стандартного раствора (тролокса) смешивали с 300 мкл свежеприготовленного 0,1 mM раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. Смесь инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Снижение оптической плотности по сравнению с контролем, состоящем из 0,1 mM раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила и растворителя (метанола), регистрировали с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Япония) при 515 нм [14].

При определении антиоксидантной активности методом ABTS предварительно готовили раствор с реагентом ABTS, который получали путем смешивания аликвот 7,0 mM раствора реагента ABTS и 2,45 mM раствора персульфата калия. Раствор выдерживали 16 часов в темном месте при комнатной температуре. Для запуска реакции 300 мкл раствора катион-радикала ABTS<sup>+</sup> добавляли к 20 мкл психрофильных микроводорослей и цианобактерий или стандарта (тролокс). Оптическую плотность измеряли с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Япония) при 734 нм после инкубации смеси в течение 15 мин при  $37^{\circ}\text{C}$  в темноте. В качестве контроля применяли пробу с реагентом ABTS и соответствующим растворителем (метанолом) [13].

Для определения восстанавливающей активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий использовали свежеприготовленный реагент FRAP, полученный путем смешивания 10 частей 0,3 M ацетатного буфера (pH 3,6), одной части 10 mM раствора 2,4,6-трипиридил-s-триазина в 40 mM HCl и одну часть 20 mM водного раствора хлорида железа  $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ . Реакцию запускали смешиванием 300 мкл реагента FRAP и 20 мкл испытуемого АК или стандартного раствора (тролокс). Время реакции — 10 мин при  $37^{\circ}\text{C}$  в темноте. Оптическую плотность определяли с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Япония) при 593 нм. В качестве контроля применяли пробу с реагентом FRAP и соответствующим растворителем (метанолом).

При измерении антиоксидантной активности методами DPPH, ABTS и FRAP в качестве стандартного раствора использовали растворы тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) известной концентрации. При анализе психрофильных микроводорослей и цианобактерий результаты анализов выражали в мкмоль эквивалентов тролокса на грамм сухого веса (мкмоль экви-

валентов тролокса/г). Все спектрофотометрические измерения были выполнены с использованием устройства для чтения CLARIOstar (BMG Labtech, Ортенберг, Германия).

#### 2.5 Статистический анализ

Все эксперименты и вычисления проводились в трех повторностях. Результаты представляли как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для обработки полученных данных использовали стандартные статистические методы. Данные подвергали дисперсионному анализу (ANOVA) с применением пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc., 2007, США). Апостериорный анализ (критерий Дункана) проводился для выявления образцов, существенно отличающихся друг от друга. Равенство дисперсий извлеченных выборок проверяли с помощью критерия Левена. Различия между средними считались значимыми, если доверительный интервал был менее 5% ( $p < 0,05$ ). Графики строили с помощью пакета Excel (Microsoft 300 Office, Microsoft Corporation, 15.0, 2016, «Редмонд», Вашингтон, США).

#### 3. Результаты и обсуждение

В Таблице 1 показана зависимость выхода полисахаридов от времени и мощности обработки ультразвуком.

Таблица 1. Влияние параметров ультразвуковой обработки на выход полисахаридов из клеток микроводорослей и цианобактерий

Table 1. Effect of ultrasonic treatment parameters on the yield of polysaccharides from the cells of microalgae and cyanobacteria

Мощность, Вт	Выход полисахаридов, мг/г с. в.				
	1 <i>Skeletonema pseudocostatum</i>	2 <i>Thalassiosira pseudonana</i>	3 <i>Fragilaria kerguelensis</i>	4 <i>Aphanizomenon gracile</i>	5 <i>Anabaena cylindrica</i>
0,5	6,49 $\pm$ 0,2*	28,72 $\pm$ 0,9	27,39 $\pm$ 0,8	23,77 $\pm$ 0,7	43,38 $\pm$ 1,3*
	1,0	21,10 $\pm$ 0,6	37,45 $\pm$ 1,1*	46,96 $\pm$ 1,4*	27,49 $\pm$ 0,8
	2,0	25,16 $\pm$ 0,6	50,73 $\pm$ 1,5	54,78 $\pm$ 1,6	37,41 $\pm$ 1,1
	3,0	26,79 $\pm$ 0,8*	46,30 $\pm$ 1,4	60,00 $\pm$ 1,8	65,11 $\pm$ 1,9*
	4,0	30,84 $\pm$ 0,9	57,48 $\pm$ 1,4*	62,61 $\pm$ 1,9	56,15 $\pm$ 1,7
	0,5	9,74 $\pm$ 0,3	35,24 $\pm$ 1,1	28,70 $\pm$ 0,9	28,59 $\pm$ 0,9*
20	1,0	33,28 $\pm$ 1,0	45,02 $\pm$ 1,4	53,48 $\pm$ 1,6	34,24 $\pm$ 1,0
	2,0	36,79 $\pm$ 1,1	53,52 $\pm$ 1,6	60,00 $\pm$ 1,8*	26,66 $\pm$ 0,8
	3,0	34,90 $\pm$ 1,0	62,73 $\pm$ 1,9	66,52 $\pm$ 1,9	45,54 $\pm$ 1,4
	4,0	25,97 $\pm$ 0,6	64,01 $\pm$ 1,9	69,13 $\pm$ 2,1	40,72 $\pm$ 1,2
	0,5	12,18 $\pm$ 0,4	47,47 $\pm$ 1,4	27,39 $\pm$ 0,8	25,42 $\pm$ 0,8
	1,0	35,71 $\pm$ 1,1	48,98 $\pm$ 1,5*	66,52 $\pm$ 2,0	23,91 $\pm$ 0,7
40	2,0	53,38 $\pm$ 1,6	49,11 $\pm$ 1,5	74,09 $\pm$ 2,2	33,55 $\pm$ 1,0*
	3,0	34,90 $\pm$ 1,0	62,73 $\pm$ 1,9	66,52 $\pm$ 1,9	45,54 $\pm$ 1,4
	4,0	25,97 $\pm$ 0,6	64,01 $\pm$ 1,9	69,13 $\pm$ 2,1	40,72 $\pm$ 1,2
	0,5	12,18 $\pm$ 0,4	47,47 $\pm$ 1,4	27,39 $\pm$ 0,8	25,42 $\pm$ 0,8
	1,0	35,71 $\pm$ 1,1	48,98 $\pm$ 1,5*	66,52 $\pm$ 2,0	23,91 $\pm$ 0,7
	2,0	53,38 $\pm$ 1,6	49,11 $\pm$ 1,5	74,09 $\pm$ 2,2	33,55 $\pm$ 1,0*
60	3,0	41,40 $\pm$ 1,2*	68,18 $\pm$ 2,0*	73,17 $\pm$ 2,2	57,80 $\pm$ 1,7
	4,0	37,34 $\pm$ 1,1	56,32 $\pm$ 1,7	62,61 $\pm$ 1,9	29,42 $\pm$ 0,9
	0,5	12,18 $\pm$ 0,4	47,47 $\pm$ 1,4	27,39 $\pm$ 0,8	25,42 $\pm$ 0,8
	1,0	35,71 $\pm$ 1,1	48,98 $\pm$ 1,5*	66,52 $\pm$ 2,0	23,91 $\pm$ 0,7
	2,0	53,38 $\pm$ 1,6	49,11 $\pm$ 1,5	74,09 $\pm$ 2,2	33,55 $\pm$ 1,0*
	3,0	41,40 $\pm$ 1,2*	68,18 $\pm$ 2,0*	73,17 $\pm$ 2,2	57,80 $\pm$ 1,7

Примечание: Значения строк, за которыми следует знак \*, существенно не отличаются ( $p > 0,05$ ), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

Поле получения данных, представленных в Таблице 1, было определено, что универсальных параметров ультразвуковой обработки для всех исследуемых микроводорослей и цианобактерий нет, однако при максимальной выбранной мощности (60 Вт) почти у всех образцов наблюдался максимальный выход полисахаридов в раствор. Время обработки при 60 Вт для наибольшего выхода полисахаридов колеблется между 2–3 минутами. При этом варианте физической обработки максимальный выход полисахаридов

наблюдается для цианобактерии *Anabaena cylindrica* и равен  $146,35 \pm 4,4$  мг/г с. в. Также высокий выход, равный  $74,09 \pm 2,2$  мг/г с. в., отмечается при мощности 60 Вт и продолжительности обработки 2 минуты для образца микроводоросли *Fragilaropsis kerguelensis*.

При более длительной обработке количество полисахаридов снижалось. Вероятно, это связано с разрушением их структуры под действием ультразвука. Наименьший выход полисахаридов установлен при мощности ультразвуковой обработки микроводоросли *Skeletonema pseudocostatum* 20 Вт в течение 0,5 минут; выход составил  $6,49 \pm 0,2$  мг/г с. в.

Известно, что полисахариды трудно экстрагируются водой, однако их можно солюбилизировать с помощью хелатирующих агентов, таких как этилендиаминетрауксусная кислота (ЭДТА) или 1,2-диаминоциклогексан-N, N, NO, NО-тетрауксусная кислота (CDTA) [14]. В ходе проведения работы исследовали влияние различных концентраций ЭДТА на количественное извлечение полисахаридов из клеток микроводорослей и цианобактерий. В процессе изучения литературных данных были выбраны следующие концентрации ЭДТА: 1%, 2%, 4%, 6%.

В Таблице 2 представлены результаты эксперимента по подбору концентрации ЭДТА с целью более полной экстракции полисахаридов.

Таблица 2. Влияние концентрации ЭДТА на выход полисахаридов

Table 2. Effect of EDTA concentration on the yield of polysaccharides

Концентрация ЭДТА, %	Выход полисахаридов, мг/г с. в.				
	<i>Skeletonema pseudocostatum</i>	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	<i>Fragilaropsis kerguelensis</i>	<i>Aphanizomenon gracile</i>	<i>Anabaena cylindrica</i>
1	$14,61 \pm 0,4^*$	$25,91 \pm 0,8$	$15,65 \pm 0,5$	$69,12 \pm 2,1^*$	$150,68 \pm 4,5$
2	$22,21 \pm 0,7$	$34,90 \pm 1,0$	$49,57 \pm 1,5^*$	$72,41 \pm 2,2$	$155,25 \pm 4,7$
4	$14,15 \pm 0,4$	$33,12 \pm 1,0$	$53,48 \pm 1,7^*$	$61,13 \pm 1,8$	$132,42 \pm 3,9$
6	$12,18 \pm 0,4$	$30,00 \pm 0,9$	$46,96 \pm 1,4$	$60,08 \pm 1,8^*$	$132,42 \pm 3,9^*$

Примечание: значения строк, за которыми следует знак \*, существенно не отличаются ( $p > 0,05$ ), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

После проведения эксперимента были сделаны выводы, что оптимальная концентрация ЭДТА для экстракции полисахаридов для большинства микроводорослей и цианобактерий составляет 2%. При данной концентрации ЭДТА наибольший выход полисахаридов наблюдался для цианобактерий *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* —  $72,41 \pm 2,2$  мг/г с. в. и  $155,25 \pm 4,7$  мг/г с. в. соответственно.

В результате экспериментального подбора режимов и сбора теоретических данных были подобраны условия экстракции полисахаридов из биомассы отобранных штаммов микроводорослей и цианобактерий. Исходя из литературных данных [15], оптимальными методами экстракции полисахаридов является химическая экстракция ЭДТА и ультразвуковая обработка.

В Таблице 3 представлены количественные выходы спиртового осаждения полисахаридов этанолом (96%) в разных соотношениях и при разных температурах.

Анализируя полученные данные (Таблица 3), можно сделать вывод, что максимальный выход полисахаридов в культуральную среду наблюдался при 5 °C, модуле экстракции (образец: спирт) 1:2 для психрофильных цианобактерий *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* —  $1134,3 \pm 34,0$  мг/г с. в. и  $1611,9 \pm 48,3$  мг/г с. в. соответственно. Начальная кон-

центрация этанола составляла 96%. Наименьший выход полисахаридов отмечался при 10 °C, модуле экстракции 1:1 для психрофильной микроводоросли *Skeletonema pseudocostatum* —  $104,5 \pm 3,1$  мг/г с. в. Психрофильные микроводоросли *Thalassiosira pseudonana* и *Fragilaropsis kerguelensis* выделяют наибольшее количество полисахаридов при 5 °C, модуле экстракции 1:2— $432,8 \pm 12,9$  мг/г с. в. и  $537,8 \pm 16,2$  мг/г с. в. соответственно. Выявлено, что при 10 °C и модуле экстракции 1:1 все психрофильные микроводоросли и цианобактерии *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* выделяют наименьшее количество экзополисахаридов в культуральную среду.

Таблица 3. Содержание полисахаридов в психрофильных микроводорослях и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* в зависимости от условий экстракции

Table 3. Content of polysaccharides in psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica* depending on the conditions of extraction

Наименование образца	Модуль экстракции, (образец: спирт)	Температура осадков, °C	Выход экзополисахаридов, мг/г с. в.
<i>Skeletonema pseudocostatum</i>	1:1	10	$104,5 \pm 3,1^*$
		5	$239,1 \pm 7,3$
	1:2	0	$179,1 \pm 5,3$
		10	$194,0 \pm 5,8$
		5	$806,0 \pm 24,1$
		0	$253,7 \pm 7,6$
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	1:1	10	$477,6 \pm 14,3$
		5	$955,2 \pm 28,6$
	1:2	0	$373,1 \pm 11,2^*$
		10	$328,4 \pm 9,8$
		5	$432,8 \pm 12,9^*$
		0	$358,2 \pm 10,7$
<i>Fragilaropsis kerguelensis</i>	1:1	10	$159,7 \pm 1,8^*$
		5	$343,3 \pm 10,3$
	1:2	0	$174,6 \pm 2,2$
		10	$189,1 \pm 5,3$
		5	$537,8 \pm 16,2$
		0	$253,7 \pm 7,6^*$
<i>Aphanizomenon gracile</i>	1:1	10	$507,5 \pm 15,2$
		5	$940,3 \pm 28,2$
	1:2	0	$626,9 \pm 18,7$
		10	$716,4 \pm 21,4$
		5	$985,1 \pm 29,5$
		0	$806,0 \pm 24,2$
<i>Anabaena cylindrica</i>	1:1	10	$850,7 \pm 25,5$
		5	$1134,3 \pm 34,0$
	1:2	0	$955,2 \pm 28,6$
		10	$641,8 \pm 19,2$
		5	$1611,9 \pm 48,3$
		0	$985,3 \pm 29,5$

Примечание: значения строк, за которыми следует знак \*, существенно не отличаются ( $p > 0,05$ ), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

Анализ табличных данных (Таблица 3) свидетельствует о том, что для экстракции психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*

*gracile* и *Anabaena cylindrica* рационально использование 96%-го этанола в качестве экстрагента при модуле экстракции (образец: спирт) 1:2 и температуре экстракции 5 °C.

Стоит отметить, что не существует универсального метода разрушения клеточной стенки, и часто следует отдавать предпочтение комбинации методов. Выбор зависит не только от конкретного вида микроводорослей, но и от конечной цели или целевых продуктов. Исследователь должен принимать во внимание такие важные аспекты, как загрязнение материалов, стоимость оборудования, эксплуатационные расходы и другие факторы. Кроме того, важно подчеркнуть, что, помимо эффективности экстракции и качества полисахаридов, выбранный метод разрушения клеток может непрямую влиять на последующие этапы очистки полисахаридов микроводорослей и цианобактерий.

Результаты определения антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariaopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* представлены в Таблице 4.

Таблица 4. Антиоксидантная активность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariaopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*

Table 4. Antioxidant activity of psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariaopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica*

Название психрофильных микроводорослей и цианобактерий	Антиоксидантная активность, мкмоль эквивалентов тролокса/г		
	ABTS	DPPH	FRAP
<i>Skeletonema pseudocostatum</i>	17,62 ± 0,91	58,16 ± 3,90	3,91 ± 0,12
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	12,08 ± 0,62	12,42 ± 0,43*	3,13 ± 0,26
<i>Fragilariaopsis kerguelensis</i>	13,53 ± 0,73*	11,84 ± 0,36	1,09 ± 0,13
<i>Aphanizomenon gracile</i>	15,73 ± 0,82	19,89 ± 0,97	2,47 ± 0,23
<i>Anabaena cylindrica</i>	12,62 ± 0,64	13,16 ± 0,53	2,16 ± 0,24*

Примечание: значения строк, за которыми следует знак \*, существенно не отличаются ( $p > 0,05$ ), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

Согласно данным Таблицы 4, наибольшей антиоксидантной активностью по всем трем способам обладает психрофильная микроводоросль *Skeletonema pseudocostatum*. Антиоксидантная активность по методу ABTS для данной микроводоросли составляет  $17,62 \pm 0,91$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH —  $58,16 \pm 3,90$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP —  $3,91 \pm 0,12$  мкмоль эквивалентов тролокса/г. Психрофильная микроводоросль *Thalassiosira pseudonana* проявляет следующие значения антиоксидантной активности: по методу ABTS —  $12,08 \pm 0,62$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH —  $12,42 \pm 0,43$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP —  $3,13 \pm 0,26$  мкмоль эквивалентов тролокса/г. Антиоксидантная активность психрофильной микроводоросли *Fragilariaopsis kerguelensis* составляет: по методу ABTS —  $13,53 \pm 0,73$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH —  $11,84 \pm 0,36$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP —  $1,09 \pm 0,13$  мкмоль эквивалентов тролокса/г. Антиоксидантная активность психрофильной цианобактерии *Aphanizomenon gracile* составляет: по методу ABTS —  $15,73 \pm 0,82$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH —  $19,89 \pm 0,97$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP —  $2,47 \pm 0,23$  мкмоль эквивалентов тролокса/г. Величина антиоксидантной активности психрофильной цианобактерии *Anabaena cylindrica* оказалась равной: по методу ABTS —  $12,62 \pm 0,64$  мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH —  $13,16 \pm 0,53$  мкмоль экви-

валентов тролокса/г, по методу FRAP —  $2,16 \pm 0,24$  мкмоль эквивалентов тролокса/г.

Однако для исключения влияния на антиоксидантную активность психрофильных микроводорослей и цианобактерий различных загрязнителей, балластных и мешающих веществ (белков, липидов, пигментов, витаминов, органических и неорганических примесей и т. д.) необходимо выделять и очищать АК данных микроорганизмов. Предполагается, что повышенная антиоксидантная активность выделенных и очищенных АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariaopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* связана со взаимным экранированием восстанавливающих центров АК (экзо- и эндополисахаридов), а также с-увеличением их доступности за счет конформационных изменений макромолекул, вызванных образованием внутри- и межмолекулярных водородных связей [14, 15].

Структурная сложность полисахаридов ограничивает возможность для их исследования, несмотря на интерес научного сообщества к их биологической активности и потенциал использования в качестве гидроколлоидов в различных отраслях. Кроме того, полисахариды редко рассматриваются авторами как ценные молекулы — скорее, как побочные продукты при получении пигментов или липидов. Например, хорошо изученный штамм микроводорослей *Porphyridium* используется в основном для получения β-фикоэритрина, и только небольшая часть биомассы штамма предназначена для получения экзополисахаридов для косметической отрасли [16]. Часто процесс экстракции полисахаридов из биомассы микроводорослей не приспособлен к обработке этих плохо растворимых полимеров, которые часто образуются в среде с высоким содержанием солей.

Известно, что микроскопические водоросли могут выделять большое количество полисахаридов, представляющих собой значительное количество органического углерода [17]. Многие микроводоросли, особенно живущие в прибрежной среде, производят и выделяют полисахаридные слизи, покрывающие их клетки и предназначенные для защиты от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Полисахариды из микроводорослей и особенно из цианобактерий образуют органоминеральные слои на поверхности почвы, которые приводят к формированию биологических почвенных корок, являющихся высокоспециализированными микробными сообществами [18–19]. Они также важны в экологическом контексте, поскольку способны ингибировать инфекции микроводорослей [20]. Известно, что микроводоросли являются значительными производителями полисахаридов в диапазоне от около 0,5 г/л до 20 г/л [21], но очень немногие исследователи изучали их производство.

Полисахариды из микроводорослей могут оставаться связанными с клеточной поверхностью или высвобождаться в окружающую среду [22]. Статус связанных с клетками полисахаридов до сих пор не ясен, особенно это касается полисахаридов, синтезируемых цианобактериями, их иногда называют экзополисахаридами, экзополимерными субстанциями, экстраклеточными полисахаридами, экстраклеточными протеогликанами, выделенными полисахаридами, капсульными полисахаридами и сульфатированными полисахаридами [23–25].

У микроводорослей синтез полисахаридов осуществляется в аппарате Гольджи, в то время как у цианобактерий — в цитоплазме [26, 27]. Основные стадии синтеза экзополисахаридов в микроводорослях: образование активированных сахаров (прекурсоров); их сборка с помощью гликозилтрансфераз и экспорт полимеров во внеклеточное

пространство или встраивание в мембрану клетки [28]. Тем не менее точная информация о механизме участия ферментов в синтезе экзополисахаридов для микроводорослей не опубликована.

Обнаружение продуцентов полисахаридов — трудоемкий процесс, поскольку они часто синтезируются микроводорослями только при специфических условиях культивирования (например, азотное голодание) или в специфических фазах роста, некоторые из них имеют статус вторичных метаболитов. Содержание экзополисахаридов в супернатанте культуральной среды детектировалось фенол-сернокислотным методом [29] или другими колориметрическими методами [30–32]. Однако эти методы не способны детектировать связанные с клеткой экзополисахариды и дают не вполне удовлетворительные результаты для растворимых полисахаридов в среде с высоким содержанием солей. Качественная и количественная оценка вязкости культуральной среды при росте микроводорослей может служить хорошим индикатором высвобождения биополимеров клеткой и их концентраций.

Гетерополимеры, продуцируемые микроводорослями, в основном состоят из ксилозы, галактозы и глюкозы, даже если другие моносахариды (манноза, фукоза, рамноза, рибоза, арабиноза, фруктоза, галактуроновая кислота и др.) присутствуют в их структуре [30]. Только небольшое количество экзополисахаридов, продуцируемых микроводорослями, удалось детально описать (гликозидные связи), и ни одно из проведенных исследований не привело к получению описанной структуры на практике. Очевидное отсутствие повторяющихся звеньев, присутствие немногочисленных неуглеводных заместителей, таких как сульфатные, метильные, ацетильные и пируватные группы, являются причинами плохого знания полисахаридных структур. Тем не менее для опережающего развития биотехнологии необходимо иметь доступ к подробной структурной информации с целью установления взаимосвязи между структурой и биологическими и/или физико-химическими свойствами полисахаридов.

Основными биологическими активностями экзополисахаридов, продуцируемых микроводорослями, описанными в литературе, являются противовоспалительная, иммуномодулирующая, противоопухолевая, противовирусная, противопаразитарная, антиоксидантная, гипогликемическая и гипохолестеринемическая. За исключением применения в косметической индустрии, полисахариды не востребованы в областях терапии, питания человека, производства здоровой пищи и кормопроизводства ввиду их высокойсто-

имости и недостатка информации об их структурах. Одним из способов повышения экономической конкурентоспособности может стать повышение знаний о методологиях культивирования микроводорослей для производства экзополисахаридов, о способах их извлечения и аналитических процедурах для описания их характеристик.

#### 4. Выводы

Таким образом, был исследован процесс экстракции полисахаридов с помощью ультразвука, изучен количественный выход полисахаридов в зависимости от мощности и продолжительности экстракции. Определена антиоксидантная активность антиоксидантного комплекса психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*. В результате проведенных исследований были определены рациональные условия экстракции антиоксидантного комплекса из культуральной жидкости и связанных с клетками психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*. Максимальные выходы эндополисахаридов наблюдались в ходе эксперимента по химической экстракции ЭДТА с концентрацией 2% для цианобактерий *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*.

Установлено, что для экстракции экзополисахаридов психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* используется этанольная экстракция с модулем экстракции 1:2 и температурой экстракции 5 °C.

В результате проведенных исследований изучена способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать АК. Выявлено, что в состав данного комплекса входят полисахариды: эндо- и экзополисахариды. Способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilaropsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать АК доказана наличием значительной антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий, определенной методами ABTS, DPPH и FRAP. Наибольшей антиоксидантной активностью обладает психрофильная микроводорось *Skeletonema pseudocostatum*.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Antheaume, C., Jauffrais, T., Lebouvier, N. (2020). Impact of light intensity on antioxidant activity of tropical microalgae. *Marine Drugs*, 18(2), Article 122. <https://doi.org/10.3390/md18020122>
- Coulombier, N., Blanchier, P., Le Dean, L., Barthelemy, V., Lebouvier, N., Jauffrais, T. (2021). The effects of CO<sub>2</sub>-induced acidification on *Tetraselmis* biomass production, photophysiology and antioxidant activity: A comparison using batch and continuous culture. *Journal of Biotechnology*, 325, 312–324. <https://doi.org/10.1016/j.biote.2020.10.005>
- Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Barthelemy, V., Schreiber, N., Brun, P. et al. (2020). Effects of nitrogen availability on the antioxidant activity and carotenoid content of the microalgae *Nephroselmis* sp. *Marine Drugs*, 18(9), Article 453. <https://doi.org/10.3390/md18090453>
- Oleinik, G., Dario, P. P., de Moraes Gasperin, K., Benvegnú, D. M., Lima, F. O., Soares, L. C. et al. (2022). *In vitro* antioxidant extracts evaluation from the residue of the *Hevea brasiliensis* seed. *Scientific Reports*, 12, Article 480. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04017-w>
- Gao, J., Lin, L., Sun, B., Zhao, M. (2017). A comparison study on polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* using different methods: structural characterization and bile acid-binding capacity. *Food and Function*, 8(9), 3043–3052. <https://doi.org/10.1039/C7FO00218A>
- Wang, M., Chen, S., Zhou, W., Yuan, W., Wang, D. (2020). Algal cell lysis by bacteria: a review and comparison to conventional methods. *Algal Research*, 46, Article 101794. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101794>
- Gomes, T. A., Zanette, C. M., Spier, M. R. (2020). An overview of cell disruption methods for intracellular biomolecules recovery. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 50(7), 635–654. <https://doi.org/10.1080/1026068.2020.1728696>
- Wei, S., Li, Y., Zhan, J., Wang, S., Zhu, J. (2012). Tolerant mechanisms of *Rorippa globosa* (Turcz.) Thell. hyperaccumulating Cd explored from root morphology. *Bioresource Technology*, 118, 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.049>
- Muylaert, K., Bastiaens, L., Vandamme, D., Gouveia, L. Harvesting of microalgae: Overview of process options and their strengths and drawbacks. Chapter in a book: Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End Products. Woodhead Publishing Series in Energy: Duxford, UK, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00005-4>

10. Лукьянов, В. А., Стифеев, А. И., Горбунова, С. Ю. (2013). Научно обоснованное культивирование микроводорослей. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*, 9, 55–57.
11. Zhou, Q., Feng, F., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z. et al. (2018). Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. *Journal of Biological Macromolecules*, 107(B), 2234–2241. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.098>
12. Mu, P., Plummer, D.T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Tata McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2001.
13. Guo, Q., Ai, L., Cui, S.W. (2018). Polysaccharide Extraction and Fractionation. Chapter in a book: Methodology for Structural Analysis of Polysaccharides. Springer: Cham, Switzerland, 2018. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9_2)
14. Zheng, Y., Yang, G., Zhao, Z., Guo, T., Shi, H., Zhou, Y. et al. (2016). Structural analysis of ginseng polysaccharides extracted by EDTA solution. *RSC Advances*, 6(4), 2724–2730. <https://doi.org/10.1039/C5RA22751H>
15. Liang, Z., Li, W., Yang, S., Du, P. (2010). Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in auto-trophic nitrifying biofilm and activated sludge. *Chemosphere*, 81(5), 626–632. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.043>
16. Hegedus, A., Barbu-Tudoran, L., Druga, B., Coman, C., Nicoara, A., Nagy, T.S. et al. (2012). *Desmodesmus communis* (Chlorophyta) from Romanian freshwaters: coenobial morphology and molecular taxonomy based on the ITS2 of new isolates. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 17(1), 16–28.
17. Bobrov, Z., Tracton, I., Taunton, K., Mathews, M. (2008). Effectiveness of whole dried *Dunaliella salina* marine microalgae in the chelating and detoxification of toxic minerals and heavy metals. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 14, 8–9.
18. Boussiba, S. (2000). Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantarum*, 108(2), 111–117. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x>
19. Cao, M., Kang, J., Gao, Y., Wang, X., Pan, X., Liu, P. (2020). Optimization of cultivation conditions for enhancing biomass, polysaccharide and protein yields of *Chlorella sorokiniana* by response surface methodology. *Aquaculture Research*, 51(6), 2456–2471. <https://doi.org/10.1111/are.14589>
20. Cardemil, L., Wolk, C. P. (1981). Polysaccharides from the envelopes of heterocysts and spores of the blue-green algae *Anabaena variabilis* and *Cylindrospermum licheniforme*. *Journal of Phycology*, 17(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1981.tb00845.x>
21. Chakraborty, M., Miao, C., McDonald, A., Chen, S. (2012). Concomitant extraction of bio-oil and value added polysaccharides from *Chlorella sorokiniana* using a unique sequential hydrothermal extraction technology. *Fuel*, 95, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.10.05>
22. Chen, X., Song, L., Wang, H., Liu, S., Yu, H., Wang, X. et al. (2019). Partial characterization, the immune modulation and anticancer activities of sulfated polysaccharides from filamentous microalgae *Tribonema* sp. *Molecules*, 24(2), Article 522. <https://doi.org/10.3390/molecules24020322>
23. Chen, Y., Liu, X., Wu, L., Tong, A., Zhao, L., Liu, B. et al. (2018). Physico-chemical characterization of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* and its anti-ageing effects in *Drosophila melanogaster*. *Carbohydrate Polymers*, 185, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.077>
24. Chen, Y., Lin, H., Li, Z., Mou, Q. (2015). The anti-allergic activity of polyphenol extracted from five marine algae. *Journal of Ocean University of China*, 14(4), 681–684. <https://doi.org/10.1007/s11802-015-2601-5>
25. Chen, Y.-X., Liu, X.-Y., Xiao, Z., Huang, Y.-F., Liu, B. (2016). Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 505–509. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.086>
26. Conte, M. V., Pore, R. S. (1973). Taxonomic implications of *Prototheca* and *Chlorella* cell wall polysaccharide characterization. *Archiv für Mikrobiologie*, 92(3), 227–233. <https://doi.org/10.1007/BF00411203>
27. Costa, J. A. V., Lucas, B. F., Alvarenga, A. G. P., Moreira, J. B., de Morais, M. G. (2021). Microalgae polysaccharides: An overview of production, characterization, and potential applications. *Polysaccharides*, 2(4), 759–772. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2040046>
28. de Macedo Dantas, D. M., de Oliveira, C. Y. B., Costa, R. M. P. B., Carneiroda-Cunha, M. D. G., Gálvez, A. O. et al. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial capacity of green microalgae *Scenedesmus subspicatus*. *Food Science and Technology International*, 25(4), 318–326. <https://doi.org/10.1177/1082013218825024>
29. de Jesus, C. S., de Jesus Assis, D., Rodriguez, M. B., Filho, J. A. M., Costa, J. A. V., de Souza Ferreira, E. et al. (2019). Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of *Spirulina* sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 1106–1114. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.016>
30. de Morais, M. G., da Silva Vaz, B., Greque de Morais, E. G., Costa, J. A. V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed Research International*, 2015, Article 835761. <https://doi.org/10.1155/2015/835761>
31. Deamici, K. M., de Morais, M. G., Santos, L. O., Muylaert, K., Gardarin, C., Costa, J. A. V. et al. (2021). Static magnetic fields effects on polysaccharides production by different microalgae strains. *Applied Sciences*, 11(11), Article 5299. <https://doi.org/10.3390/app11115299>
32. Decamp, A., Michelo, O., Rabat, C., Laroche, C., Grizeau, D., Pruvost, J. et al. (2021). A new, quick, and simple protocol to evaluate microalgae polysaccharide composition. *Marine Drugs*, 19(2), Article 101. <https://doi.org/10.3390/md19020101>

## REFERENCES

1. Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Antheaume, C., Jauffrais, T., Lebouvier, N. (2020). Impact of light intensity on antioxidant activity of tropical microalgae. *Marine Drugs*, 18(2), Article 122. <https://doi.org/10.3390/MD18020122>
2. Coulombier, N., Blanchier, P., Le Dean, L., Barthelemy, V., Lebouvier, N., Jauffrais, T. (2021). The effects of CO<sub>2</sub>-induced acidification on *Tetraselmis* biomass production, photophysiology and antioxidant activity: A comparison using batch and continuous culture. *Journal of Biotechnology*, 325, 312–324. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.10.005>
3. Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Barthelemy, V., Schreiber, N., Brun, P. et al. (2020). Effects of nitrogen availability on the antioxidant activity and carotenoid content of the microalgae *Nephroselmis* sp. *Marine Drugs*, 18(9), Article 453. <https://doi.org/10.3390/MD18090453>
4. Oleinik, G., Dario, P. P., de Morais Gasperin, K., Benvegnú, D. M., Lima, F. O., Soares, L. C. et al. (2022). *In vitro* antioxidant extracts evaluation from the residue of the *Hevea brasiliensis* seed. *Scientific Reports*, 12, Article 480. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04017-w>
5. Gao, J., Lin, L., Sun, B., Zhao, M. (2017). A comparison study on polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* using different methods: structural characterization and bile acid-binding capacity. *Food and Function*, 8(9), 3043–3052. <https://doi.org/10.1039/C7FO00218A>
6. Wang, M., Chen, S., Zhou, W., Yuan, W., Wang, D. (2020). Algal cell lysis by bacteria: a review and comparison to conventional methods. *Algal Research*, 46, Article 101794. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101794>
7. Gomes, T. A., Zanette, C. M., Spier, M. R. (2020). An overview of cell disruption methods for intracellular biomolecules recovery. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 50(7), 635–654. <https://doi.org/10.1080/102608.2020.1728696>
8. Wei, S., Li, Y., Zhan, J., Wang, S., Zhu, J. (2012). Tolerant mechanisms of *Rorippa globosa* (Turcz.) Thell. hyperaccumulating Cd explored from root morphology. *Bioresource Technology*, 118, 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.049>
9. Muylaert, K., Bastiaens, L., Vandamme, D., Gouveia, L. Harvesting of microalgae: Overview of process options and their strengths and drawbacks. Chapter in a book: Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End Products. Woodhead Publishing Series in Energy: Duxford, UK, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00005-4>
10. Lukyanov, V. A., Stifeev, A. I., Gorbunova, S. Yu. (2013). Science-based cultivation of microalgae. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*, 9, 55–57. (In Russian)
11. Zhou, Q., Feng, F., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z. et al. (2018). Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. *Journal of Biological Macromolecules*, 107(B), 2234–2241. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.098>
12. Mu, P., Plummer, D. T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Tata McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2001.
13. Guo, Q., Ai, L., Cui, S. W. (2018). Polysaccharide Extraction and Fractionation. Chapter in a book: Methodology for Structural Analysis of Polysaccharides. Springer: Cham, Switzerland, 2018. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9_2)
14. Zheng, Y., Yang, G., Zhao, Z., Guo, T., Shi, H., Zhou, Y. et al. (2016). Structural analysis of ginseng polysaccharides extracted by EDTA solution. *RSC Advances*, 6(4), 2724–2730. <https://doi.org/10.1039/C5RA22751H>
15. Liang, Z., Li, W., Yang, S., Du, P. (2010). Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in auto-trophic nitrifying biofilm and activated sludge. *Chemosphere*, 81(5), 626–632. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.043>
16. Hegedus, A., Barbu-Tudoran, L., Druga, B., Coman, C., Nicoara, A., Nagy, T.S. et al. (2012). *Desmodesmus communis* (Chlorophyta) from Romanian freshwaters: coenobial morphology and molecular taxonomy based on the ITS2 of new isolates. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 17(1), 16–28.
17. Bobrov, Z., Tracton, I., Taunton, K., Mathews, M. (2008). Effectiveness of whole dried *Dunaliella salina* marine microalgae in the chelating and detoxification of toxic minerals and heavy metals. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 14, 8–9.
18. Boussiba, S. (2000). Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantarum*, 108(2), 111–117. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x>
19. Cao, M., Kang, J., Gao, Y., Wang, X., Pan, X., Liu, P. (2020). Optimization of cultivation conditions for enhancing biomass, polysaccharide and protein yields of *Chlorella sorokiniana* by response surface methodology. *Aquaculture Research*, 51(6), 2456–2471. <https://doi.org/10.1111/are.14589>
20. Cardemil, L., Wolk, C. P. (1981). Polysaccharides from the envelopes of heterocysts and spores of the blue-green algae *Anabaena variabilis* and *Cylindrospermum licheniforme*. *Journal of Phycology*, 17(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1981.tb00845.x>
21. Chakraborty, M., Miao, C., McDonald, A., Chen, S. (2012). Concomitant extraction of bio-oil and value added polysaccharides from *Chlorella sorokiniana* using a unique sequential hydrothermal extraction technology. *Fuel*, 95, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.10.05>
22. Lukyanov, V. A., Stifeev, A. I., Gorbunova, S. Yu. (2013). Science-based cultivation of microalgae. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*, 9, 55–57. (In Russian)
23. Zhou, Q., Feng, F., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z. et al. (2018). Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. *Journal of Biological Macromolecules*, 107(B), 2234–2241. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.098>
24. Mu, P., Plummer, D. T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Tata McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2001.
25. Guo, Q., Ai, L., Cui, S. W. (2018). Polysaccharide Extraction and Fractionation. Chapter in a book: Methodology for Structural Analysis of Polysaccharides. Springer: Cham, Switzerland, 2018. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9_2)
26. Zheng, Y., Yang, G., Zhao, Z., Guo, T., Shi, H., Zhou, Y. et al. (2016). Structural analysis of ginseng polysaccharides extracted by EDTA solution. *RSC Advances*, 6(4), 2724–2730. <https://doi.org/10.1039/C5RA22751H>
27. Liang, Z., Li, W., Yang, S., Du, P. (2010). Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in auto-trophic nitrifying biofilm and activated sludge. *Chemosphere*, 81(5), 626–632. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.043>
28. Hegedus, A., Barbu-Tudoran, L., Druga, B., Coman, C., Nicoara, A., Nagy, T.S. et al. (2012). *Desmodesmus communis* (Chlorophyta) from Romanian freshwaters: coenobial morphology and molecular taxonomy based on the ITS2 of new isolates. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 17(1), 16–28.
29. Bobrov, Z., Tracton, I., Taunton, K., Mathews, M. (2008). Effectiveness of whole dried *Dunaliella salina* marine microalgae in the chelating and detoxification of toxic minerals and heavy metals. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 14, 8–9.
30. Boussiba, S. (2000). Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantarum*, 108(2), 111–117. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x>
31. Cao, M., Kang, J., Gao, Y., Wang, X., Pan, X., Liu, P. (2020). Optimization of cultivation conditions for enhancing biomass, polysaccharide and protein yields of *Chlorella sorokiniana* by response surface methodology. *Aquaculture Research*, 51(6), 2456–2471. <https://doi.org/10.1111/are.14589>
32. Cardemil, L., Wolk, C. P. (1981). Polysaccharides from the envelopes of heterocysts and spores of the blue-green algae *Anabaena variabilis* and *Cylindrospermum licheniforme*. *Journal of Phycology*, 17(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1981.tb00845.x>

- Cylindrospermum licheniforme*. *Journal of Phycology*, 17(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1981.tb00845.x>
21. Chakraborty, M., Miao, C., McDonald, A., Chen, S. (2012). Concomitant extraction of bio-oil and value added polysaccharides from *Chlorella sorokiniana* using a unique sequential hydrothermal extraction technology. *Fuel*, 95, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.10.05>
22. Chen, X., Song, L., Wang, H., Liu, S., Yu, H., Wang, X. et al. (2019). Partial characterization, the immune modulation and anticancer activities of sulfated polysaccharides from filamentous microalgae *Tribonema* sp. *Molecules*, 24(2), Article 322. <https://doi.org/10.3390/molecules24020322>
23. Chen, Y., Liu, X., Wu, L., Tong, A., Zhao, L., Liu, B. et al. (2018). Physico-chemical characterization of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* and its anti-ageing effects in *Drosophila melanogaster*. *Carbohydrate Polymers*, 185, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.077>
24. Chen, Y., Lin, H., Li, Z., Mou, Q. (2015). The anti-allergic activity of polyphenol extracted from five marine algae. *Journal of Ocean University of China*, 14(4), 681–684. <https://doi.org/10.1007/s11802-015-2601-5>
25. Chen, Y.-X., Liu, X.-Y., Xiao, Z., Huang, Y.-F., Liu, B. (2016). Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 505–509. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.086>
26. Conte, M. V., Pore, R. S. (1973). Taxonomic implications of *Prototheca* and *Chlorella* cell wall polysaccharide characterization. *Archiv für Mikrobiologie*, 92(3), 227–233. <https://doi.org/10.1007/BF00411203>

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

### Принадлежность к организации

**Сухих Станислав Алексеевич** — доктор технических наук, доцент, заведующий лабораторией, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14  
Тел.: +7-960-903-62-81  
E-mail: stas-asp@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7910-8388>

**Долганюк Вячеслав Федорович** — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14  
Тел.: +7-961-707-24-53  
E-mail: dolganuk\_vf@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0603-7456>

**Кремлева Ольга Евгеньевна** — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры экологии, Гродненский государственный университет имени Янки Купалы 230023, Республика Беларусь, Гродно, ул. Ожешко, 22  
Тел.: +7-904-960-92-73  
E-mail: omor@grsu.by  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2012-2438>

**Ульрих Елена Викторовна** — доктор технических наук, заместитель директора Института агронженерии и пищевых систем по научной и международной деятельности, Калининградский государственный технический университет 236022, Калининград, проспект Советский, 1  
Тел.: +7-904-960-94-96  
E-mail: elen.ulrich@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4107-7277>  
\* автор для контактов

**Каширских Егор Владимирович** — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14  
Тел.: +7-923-504-23-23  
E-mail: egorkah@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0442-5471>

**Бабич Ольга Олеговна** — доктор технических наук, доцент, директор Начально-образовательного центра, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14  
Тел.: +7-906-922-09-92  
E-mail: olich.43@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4921-8997>

### Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### AUTHOR INFORMATION

#### Affiliation

**Stanislav A. Sukhikh**, Doctor of Technical Sciences., Docent, Head of Laboratory, Immanuel Kant Baltic Federal University  
14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia  
Тел.: +7-960-903-62-81  
E-mail: stas-asp@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7910-8388>

**Vyacheslav F. Dolganyuk**, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University  
14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia  
Tel.: +7-961-707-24-53  
E-mail: dolganuk\_vf@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0603-7456>

**Olga E. Kremleva**, Candidate of Agricultural Sciences, Docent, Docent, Department of Ecology, Yanka Kupala State University of Grodno  
22, Ozheshko str., 230023, Grodno, Belarus  
Tel.: +7-904-960-92-73  
E-mail: omor@grsu.by  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2012-2438>

**Elena V. Ulrich**, Doctor of Technical Sciences, Deputy Director of the Institute of Agroengineering and Food Systems for Scientific and International Activities,  
Kalininograd State Technical University  
1, Prospekt Sovetskiy, 236022, Kaliningrad, Russia  
Tel.: +7-904-960-94-96  
E-mail: elen.ulrich@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4107-7277>  
\* corresponding author

**Egor V. Kashirskikh**, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University  
14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia  
Tel.: +7-923-504-23-23  
E-mail: egorkah@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0442-5471>

**Olga O. Babich**, Doctor of Technical Sciences, Docent, Director of the Scientific and Educational Center, Immanuel Kant Baltic Federal University  
14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia  
Тел.: +7-906-922-09-92  
E-mail: olich.43@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4921-8997>

### Contribution

Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-211-223>

Поступила: 05.04.2023

Поступила после рецензирования: 06.06.2023

Принята в печать: 14.06.2023

© Панасюк А. Л., Кузьмина Е. И., Свиридов Д. А., Ганин М. Ю., 2023

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

Обзорная статья

Open access

# ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Панасюк А. Л., Кузьмина Е. И., Свиридов Д. А.\*<sup>,</sup>, Ганин М. Ю.Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной  
и винодельческой промышленности, Москва, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

*мед, изотопная масс-спектрометрия, современные методы исследования, место происхождения, ботаническое происхождение, фальсификация*

**АННОТАЦИЯ**

Пчелиный мед — ценный натуральный продукт, который обладает питательными веществами, полезными свойствами и широко применяется среди населения. Ввиду своей высокой стоимости натуральный мед часто становится объектом фальсификации. Подлинность меда является гарантией его качества и безопасности, а также обеспечивает здоровую рыночную конкуренцию. В связи с этим проблема идентификации меда стоит достаточно остро во всех странах с развитым пчеловодством. В статье приведен обзор отечественных и зарубежных литературных источников, включая нормативные документы, регулирующие статус меда как продукта с контролируемым местом происхождения. На основе анализа научной литературы выделены наиболее значимые работы, направленные на подтверждение подлинности меда. Они были проведены учеными из разных стран: Европейского Союза, Китая, Бразилии, США, Мексики, Индии и других. Исследования показали, что наиболее эффективными методами для обнаружения фальсификации меда путем внесения экзогенных сахаров и использования сиропов для подкормки пчел являются хроматографические методы и методы изотопной масс-спектрометрии. Определение подлинности меда по ботаническому и географическому происхождению, как правило, проводится по принципу метода «отпечатков пальцев». Процесс осуществляется путем сбора значений ряда показателей и их обработки с использованием инструментальных методов анализа. Для формирования базы данных, помимо указанных выше методов, широкое распространение получили методы ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии, ПСР, ИСП-МС и некоторые другие. При определении подлинности меда по ботаническому и географическому происхождению также необходимо учитывать специфические особенности местных медоносов, вида пчел, почвы и климатических условий. Таким образом, индивидуальный комплексный подход к идентификации меда с использованием инструментальных методов анализа и статистической обработки результатов, позволяющей выявить взаимосвязь между полученными значениями и оценить вклад каждого из них в математическую модель, станет мощным инструментом для определения его подлинности, а также для выявления его ботанического и географического происхождения.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2022-0004 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 05.04.2023

Accepted in revised 06.06.2023

Accepted for publication 14.06.2023

© Panasyuk A. L., Kuzmina E. I., Sviridov D. A., Ganin M. Yu., 2023

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

Review article

Open access

# INDIVIDUAL INTEGRATED APPROACH TO HONEY IDENTIFICATION BY MEANS OF THE INSTRUMENTAL METHODS OF ANALYSIS

Alexander L. Panasyuk, Elena I. Kuzmina, Dmitriy A. Sviridov,\* Mikhail Yu. Ganin,

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

**KEY WORDS:**

*honey, isotope mass spectrometry, modern research methods, designation of origin, botanical origin, falsification*

**ABSTRACT**

Bee honey is a valuable highly nutritive natural product; it is widely consumed among the population. Due to its high cost the natural honey often becomes the object of adulteration. The authenticity of honey is the most important criterion of quality, as on the one hand it ensures the biosecurity of honey, and provides the healthy market competition on the other hand. In this regard, the issue of honey identification is quite acute in all countries with developed beekeeping culture. The authors provide an overview of domestic and foreign regulatory documents regarding the authenticity of honey, as well as its status as a product with a controlled designation of origin. Based on the analysis of scientific literature, the most significant studies aimed to a method of honey authenticity confirmation were selected and brought out. These studies were carried out in the countries of the European Union, China, Brazil, the USA, Mexico and other countries. These studies showed that chromatographic methods and the method of isotope mass spectrometry are the most effective for detection of added sugars in honey, as well as for revealing the fact of feeding bees with various syrups. The authenticity of the botanical and geographical point of honey origin is usually determined by the principle of “fingerprints”. The principle involves

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Панасюк А. Л., Кузьмина Е. И., Свиридов Д. А., Ганин М. Ю., (2023). Индивидуальный комплексный подход к идентификации меда с использованием инструментальных методов анализа и статистической обработки результатов. *Пищевые системы*, 6(2), 211-223. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-211-223>

**FOR CITATION:** Panasyuk, A. L., Sviridov, D. A., Ganin, M. Yu., (2023). Individual integrated approach to honey identification using instrumental methods of analysis and statistical processing of results. *Food Systems*, 6(2), 211-223. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-211-223>

collecting the values of an array of indicators and processing them by means of statistical analysis methods. To form a database, in addition to the above methods, methods of NMR spectroscopy, IR spectroscopy, PCR, ICP-MS and some others have become widely used. When determining the authenticity of the botanical and geographical origin of honey, it is also necessary to consider the specific features of local melliferous plants, bee species, soil composition and climatic conditions. Thus, an individual yet integrated approach to the identification of honey by means of the instrumental methods of analysis and statistical processing of results will become a powerful and reliable tool in determining its authenticity, including its botanical and geographical origin.

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

## 1. Введение

Россия является страной традиционного пчеловодства и входит в пятерку стран, в которых развита эта отрасль, несмотря на наличие неблагоприятных условий для ведения сельского хозяйства на территориях РФ. Пчелы — неотъемлемая часть агробиоценозов, а пчеловодство — важная отрасль агропромышленного комплекса. Мед, маточное молочко, пыльца, перга, прополис, пчелиный яд и воск — ценные продукты, получаемые в результате переработки пчелами нектара растений, а также выделений насекомых, живущих на растениях и питающихся их соком. В России, кроме меда и воска, за сезон можно получать от одной пчелиной семьи 3–5 кг перги, 50 г прополиса, 300–500 г маточного молочка, 4–6 г пчелиного яда. Пчелиный мед — ценный натуральный продукт, обладающий питательными и лечебными свойствами. Он занимает большую часть ассортимента продуктов пчеловодства на продовольственном рынке и пользуется широким спросом среди населения [1–4]. Ежегодно в мире производится 1,2 млн тонн меда, однако даже этого количества недостаточно, чтобы удовлетворить спрос на рынке [5].

Необходимо отметить, что мед предназначен не только для потребления в свежем виде: он также является сырьем для получения различных видов безалкогольных и алкогольных напитков, включая сбитни, медовухи, медовые напитки. Соответственно, в случае использования изготавителем поддельного меда в их производстве потребитель получает фальсифицированный конечный продукт. Таким образом, проведение исследований, направленных на выявление критериальных параметров, позволяющих подтвердить подлинность меда и продуктов на его основе, является особо важным в рамках обеспечения населения продуктами питания надлежащего качества, а также защиты интересов добросовестных производителей продукции пчеловодства.

Цель данного обзора заключалась в обобщении и систематизации результатов опубликованных научных исследований, направленных на изучение физико-химического состава меда, и способов его идентификации, включая установление подлинности ботанического и географического происхождения.

## 2. Материалы и методы

Материалами для исследования послужили научные и аналитические данные, нормативная документация, опубликованные в отечественных и зарубежных источниках. Основным источником информации, являлись следующие научометрические системы: Web of Science, Scopus, PubMed, Google Scholar, РИНЦ. Поиск был проведен по ключевым словам на русском и английском языках. При формировании списка публикаций для обзора были исключены учебники, учебные пособия, тезисы докладов и материалов конференций. Решение о включении материалов в обзор принималось с учетом следующих критерии: научная значимость результатов исследований, год публикации, категория и показатель цитируемости журнала.

## 3. Основная часть

### 3.1. Физико-химический состав меда

Химический состав меда непостоянен и зависит от вида медоносных растений, от региона их произрастания, времени сбора, зрелости меда, породы пчел, погодных и климатических условий и от других факторов. Однако некоторые особенности состава меда являются характерными и типичными. Состав меда весьма сложный, в нем содержится порядка трехсот различных компонентов, около ста из которых являются постоянными и имеются в каждом натуральном образце.

Основные компоненты меда — углеводы, составляющие 95–99% сухого вещества. Наибольшее количество углеводов представлено моносахаридами — глюкозой и фруктозой, процентное соотношение которых, по разным оценкам, составляет соответственно 18–32% и 37–42% [1]. В некоторых случаях содержание глюкозы и фруктозы может составлять в созревшем меде до 90% от суммы всех сахаров. Доля каждого вида сахара зависит от активности ферментов, от состава и происхождения сырья, из которого производится мед, а также от зрелости меда. Мальтоза синтезируется в процессе созревания меда, и ее количество может достигать 6–9%. Сахароза гидролизуется под действием ферментов, и после созревания меда ее содержание колеблется от 0 до 1–1,5%, в падевом — до 3%. В несозревших медах уровень сахарозы может достигать 13–15%. Также высокое содержание сахарозы установлено для меда при обильных сборах нектара с некоторых видов медоносов, в частности с липы мелколистной, в нектаре которой преобладает данный сахар. Хранившийся мед обычно содержит меньше сахарозы, чем свежеоткаченный [6].

В меде установлено наличие ряда различных ферментов: инвертазы, диастазы, каталазы, фосфатазы (кислой и щелочной), глюкооксидазы, полифенолоксидазы, пероксидазы, эстеразы, группы протеолитических энзимов и некоторых других. Ферменты содержатся в составе меда в малых количествах, однако они активно действуют на белки, жиры и промежуточные вещества, образуемые при их разложении в клетках живого организма. Комплекс ферментов создает условия, при которых все вещества меда могут быть расщеплены и использованы для питания пчел. Все составные части меда полностью усваиваются зимующей пчелой без какого-либо участия ее собственных пищеварительных ферментов. По этой причине мед является диетическим и лечебным продуктом.

В натуральном меде содержится около 1% азотистых веществ. Они попадают в мед из растений вместе с нектаром, пыльцой, а также из организма пчел. Белковые соединения находятся в меде в коллоидном состоянии, они представлены в виде ферментов и гормонов. Также в меде присутствуют такие свободные аминокислоты, как треонин, пролин, фенилаланин, метионин, глутаминовая кислота, лизин и другие. Эти соединения содержатся в составе меда в малых количествах, в связи с чем не могут обеспечить высокую пищевую ценность продукта. Однако они выступают в качестве важных биологических катализаторов биохимических процессов.

Состав микроэлементов меда зависит от его ботанического происхождения и почвенных условий произрастания медоносов [7]. Большинство авторов придерживаются мнения о том, что темный мед содержит большее количество минеральных веществ, чем светлый. В полифлорном меде состав элементов разнообразнее, чем в монофлорном. Зольные элементы входят в состав многих ферментов и поэтому играют важную роль в биохимических процессах, происходящих в растениях, нектаре, меде [8].

В составе меда обнаружены витамины В1, В2, В3, В5, В6, В9, С, К, биотин, каротин и некоторые другие. Мед содержит около 0,3% органических кислот (яблочная, муравьиная, уксусная, молочная, янтарная, лимонная, глюконовая и др.) и около 0,03% неорганических кислот (фосфорная и соляная), находящихся в свободном и связанном состоянии [9].

Летучие соединения меда относятся к 7 основным группам: альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, спирты, сложные эфиры, углеводороды и циклические соединения. Ряд летучих соединений в меде, которые обуславливают его характерные сенсорные свойства, синтезируются в процессе его приготовления (например, норизопреноиды). Некоторые альдегиды и спирты могут быть следствием микробиологической активности, воздействия тепла и старения меда. Для меда из определенных видов медоноса можно выделить типичные летучие компоненты, такие соединения могут выступать в качестве маркеров соответствующего вида меда. Некоторые летучие соединения могут быть использованы в качестве маркеров при классификации образцов меда в зависимости от его географического происхождения [10].

Фенольный комплекс меда представлен в основном флавоноидами и фенольными кислотами и включает в себя ванильную кислоту, кофейную кислоту, сирингиновую кислоту, п-кумаровую кислоту, феруловую кислоту, кверцетин, кемпферол, мирицетин, пинобанксин, пиноцембрин, хризин, эллаговую кислоту, галангин, галловую кислоту, гесперетин, бензойную кислоту и другие соединения [1]. Фенольные вещества, содержащиеся в меде, обеспечивают продукту антиоксидантное, antimикробное, противовоспалительное, антиатерогенное, антитромботическое, иммуномодулирующее и обезболивающее действие.

Также среди биологически активных веществ, содержащихся в меде, присутствуют фитонциды — соединения, вырабатываемые растениями и обладающие свойством подавлять рост и развитие микроорганизмов. Исследования выявили наличие противомикробной активности меда против 60 штаммов бактерий, включая аэробные и анаэробные. В мед фитонциды попадают с нектаром и пыльцой медоносов. Химический состав фитонцидов, их свойства и бактерицидное действие зависят от ботанического состава медоносов. Наибольшей бактерицидностью из цветочных медов обладает каштановый мед, наименьшей — липовый и вересковый. Почти не оказывает бактерицидного действия мед из одуванчика и белого клевера [11].

Авторы выделяют следующие полезные свойства натурального меда:

- оказывает общеукрепляющее действие, снижая чувство усталости, повышая устойчивость к болезням;
- укрепляет мышечную и нервную систему;
- способствует повышению уровня гемоглобина;
- улучшает ферментативную деятельность, секреторную и моторную функции желудочно-кишечного тракта;
- обладает регенеративными свойствами;
- оказывает болеутоляющее действие (уменьшает возбудимость рецепторного аппарата периферической нервной системы и кожи) [12].

Отмечено применение меда в таких областях медицины, как хирургия (использование для лечения стойко незаживающих ран) и диетология; также мед может быть показан при реабилитации пациента в послеоперационный период в качестве продукта питания. Мед не рекомендуется употреблять людям с аллергическими дерматитами и пищевыми режимами с ограничением потребления углеводов, а также при индивидуальной непереносимости и в некоторых других случаях [13].

### 3.2. Классификация меда

В процессе производства меда могут участвовать самые разнообразные виды растений. Натуральный пчелиный мед по ботаническому происхождению подразделяют на цветочный, падевый и смешанный (естественная смесь цветочного и падевого меда).

Падевый мед получают из выделений вегетативных частей растений или экскрементов насекомых, сосущих растения.

Цветочный мед образуется в результате сбора и переработки пчелами нектара цветов. Он может быть монофлорным, то есть состоящим из нектара одного (или преимущественно одного) растения, и полифлорным (сборным) — полученным из нектара нескольких растений.

Из-за того, что медоносные пчелы собирают нектар или медянную росу из нескольких ботанических источников в зоне кормления улья, абсолютно чистый одноцветный мед встречается очень редко. Обычно мед классифицируется как монофлорный, когда по крайней мере 45% пыльцевых зерен принадлежат одному виду растений. Однако есть некоторые исключения, а именно: меды, в которых недостаточно пыльцевых зерен (например, лавандовый — для признания его монофлорным медом требуется только 15% пыльцевых зерен); меды, в которых чрезмерно представлены пыльцевые зерна (такие, как эвкалиптовые и каштановые, которые могут демонстрировать содержание пыльцы от 70% до 90%) [14]. Полифлорный мед состоит из пыльцевых зерен нескольких видов растений, ни один из которых не считается преобладающим. Из-за особого вкуса и аромата монофлорный мед является более востребованным в рыночных условиях. Потребители проявляют повышенный интерес к таким медам, как липовый, гречишный, белоакациевый, донниковый, подсолнечниковый и др. По этой причине цена на натуральный мед в значительной степени зависит от его ботанического источника. В среднем потребитель оценивает монофлорный мед в 1,5–2 раза дороже, чем полифлорный.

### 3.3. Идентификационные показатели подлинности меда

Натуральный мед часто подвергается фальсификации ввиду его высокой стоимости и высокого спроса на этот продукт среди всех слоев населения. В связи с этим достаточно остро стоит вопрос о способах его идентификации. Подлинность меда, с одной стороны, является показателем его безопасности и качества, а с другой — выступает критерием обеспечения здоровой рыночной конкуренции.

На сегодняшний день выделяют следующие основные виды фальсификации натурального меда:

- внесение различных сахаросодержащих веществ, в том числе сахарного сиропа, патоки, крахмала непосредственно в продукт;
- откачка незрелого меда из сот до их запечатывания пчелой. У незрелого меда не закончены процессы ферmentationи, медовый вкус и аромат еще не успели «вызреть». Такой продукт плохо хранится, часто бродит, расслаивается или пенится;

- подкормка пчел сахаросодержащими веществами. «Сахарный мед» не обладает должными органолептическими и функциональными свойствами, присущими натуральному меду;
- нагревание меда. Спрос покупателя на жидкий мед выше, чем на кристаллизованный. При нагревании кристаллизованный мед становится жидким, теряя при этом многие полезные свойства;
- неверное указание ботанического или географического происхождения меда.

Сравнительный состав натурального цветочного и падевого меда, а также меда, полученного в результате подкормки пчел сахарным сиропом, представлен в Таблице 1.

**Таблица 1. Сравнительный состав натурального и фальсифицированного меда [15]**

Table 1. Comparative composition of the natural and adulterated honey [15]

Показатели	Цветочный мед	Падевый мед	Сахарный мед
Вода, %	14,8–23,6	14,0–22,0	14,0–21,0
Фруктоза, %	38,0–42,9	33,2–78,0	55,4–74,6
Глюкоза, %	28,7–39,0	29,5–34,9	—
Сахароза, %	0,0–4,7	0,0–15,0	1,3–20,1
Редуцирующие дисахариды, %	2,2–6,8	1,0–16,0	—
Высшие сахара, %	0,1–7,9	0,3–19,0	—
Белки, %	0,04–0,9	0,08–0,2	—
Азотистые небелковые вещества, %	0,2–0,4	0,4–0,6	—
Минеральные вещества, %	0,03–0,2	0,2–1,5	0,04–0,22
Общая кислотность, мг-экв./кг	7,8–49,6	8,0–80,0	7,2–21,2
Диастазное число, ед. Готе	1,0–50,0	6,7–48,0	2,0–14,3

Во многих работах авторы отмечают несоответствие значений ряда физико-химических показателей для натурального меда и для фальсификата. На сегодняшний день, согласно межгосударственному стандарту ГОСТ 19792–2017<sup>1</sup>, в меде контролируются следующие показатели:

- органолептические характеристики;
- массовая доля воды;
- диастазное число;
- электропроводность;
- массовая доля редуцирующих сахаров;
- общая массовая доля глюкозы и фруктозы;
- массовая доля ГМФ (гидроксиметилфурфураля);
- массовая доля пролина.

Самый простой способ оценки качества меда — *органолептический*, но, к сожалению, он недостаточно надежен, так как базируется на оценке качества меда с помощью органов чувств. Именно органолептическим методом определяют внешний вид, признаки брожения, аромат, вкус меда, чистоту и характер кристаллизации. Цвет меда зависит в первую очередь от растений, с которых он собран, и от времени сбояра. На аромат меда влияют особенности медоноса, а также срок и условия хранения продукта. Мед может иметь различный вкус в зависимости от того, какие сахара, ферменты, кислоты, эфиры и другие компоненты входят в его состав. Такие процедуры, как подкормливание пчел сахарным сиропом, добавление в мед сахаросодержащих веществ негативно сказываются на его органолептических характеристиках.

Содержание воды в меде характеризует его зрелость и определяет пригодность для длительного хранения. Зрелый мед со временем кристаллизируется в однородную

массу, может длительное время храниться без потери природных достоинств. Незрелый мед быстро подвергается сбраживанию. Влажность меда зависит от климатических условий в сезон медосбора, от соотношения сахаров (чем больше фруктозы, тем выше влажность) и от условий хранения. Благодаря значительной разнице в плотности меда и воды, мед обладает способностью расслаиваться. Это свойство используют для отделения меда с повышенной влажностью в медоотстойниках, а также учитывают при отборе проб для определения содержания воды. Предельно допустимая действующими стандартами влажность меда — 20%. Повышенное содержание влаги может свидетельствовать о неправильном хранении, добавлении в продукт воды или сахарного сиропа.

Диастаза (фермент) присутствует в натуральном меде и отсутствует в сахарном сиропе. Она поступает в мед из нектара цветов и частично с секретами слюнных желез пчел. Диастазное число характеризует активность амилолитических ферментов меда [16].

Мед содержит минеральные вещества и кислоты, которые выступают в качестве электролитов, проводящих электрический ток. Чем больше их содержание, тем выше электропроводность. Этот показатель (электропроводность) для меда был включен в новые международные стандарты, в том числе Европейского союза, а также в Кодекс Алиментариус, и заменил определение массовой концентрации золы.

Композиция сахаров в меде является важным показателем, особенно при классификацииmonoфлорных медов. Так, суммарная доля фруктозы и глюкозы для цветочного меда должна составлять не менее 60%, а массовая доля редуцирующих сахаров — не менее 65%.

Гидроксиметилфурфураль — гетероциклический альдегид, который образуется из углеводов меда при длительном хранении и нагревании. Повышенное содержание этого соединения указывает на низкое качество меда.

Пролин является наиболее распространенной аминокислотой, присутствующей в меде. Он синтезируется во время переработки нектара в мед и выступает в качестве индикатора зрелости продукта [17].

### 3.4. Инструментальные методы анализа

Инструментальные методы анализа получили широкое распространение при идентификации меда.

ВЭЖХ является одним из наиболее часто используемых аналитических методов для определения фенольных компонентов и аминокислот в меде, которые могут применяться для оценки подлинности и качества продукта. Аминокислотный профиль может выступать в качестве одного из критериев оценки подлинности меда и как показатель для определения его ботанического и географического происхождения.

ГХ/ГХ-МС — это метод, используемый для анализа летучих органических компонентов, остатков пестицидов в меде. Многочисленные соединения, принадлежащие к разным химическим группам, были идентифицированы как летучие вещества меда с помощью ГХ-МС. Летучие соединения могут образовываться из растений или источников нектара в связи с трансформацией нативных веществ в процессе метаболизма пчел, а также в результате нагревания, неправильного хранения, микробиальной порчи [18,19].

Капиллярная ГХ может быть использована для анализа углеводного состава меда. Качественное и количественное содержание некоторых углеводов (например, присутствие мальтозы и изомальтозы) может свидетельствовать о наличии экзогенных сахаров в меде.

<sup>1</sup> ГОСТ 19792–2017 «Мед натуральный. Технические условия» Москва: Стандартинформ, 2017. — 16 с.

ВЭТСХ, ТСХ — методы, предназначенные для разделения и идентификации соединений в смесях, которые стали применяться для идентификации меда сравнительно недавно. Основные преимущества ВЭТСХ перед ГХ и ВЭЖХ заключаются в высокой скорости проведения анализа и его финансовой доступности. Благодаря возможности одновременного исследования нескольких образцов на одной платине для ТСХ и полной автоматизации процесса, стоимость анализа снижается.

Анализ меда с помощью *масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой* (ИСП-МС) позволяет выявить его элементный профиль, включающий в себя содержание макро-, микроэлементов и редкоземельных металлов. Полученные данные позволяют сделать вывод о ботаническом и географическом происхождении продукта.

*Спектроскопические методы* являются быстрыми и не требуют сложной пробоподготовки. Спектроскопия с преобразованием Фурье в среднем ИК-диапазоне с ослабленным полным коэффициентом отражения — хорошо зарекомендовавшие себя методы определения различных параметров пищевых продуктов. Для меда наиболее информативный диапазон исследования составляет 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ . На основе таких данных возможна идентификация его ботанического и географического происхождения [20].

*Флуоресцентная спектрофотометрия* основана на вторичном спектральном свечении объектов, предварительно облученных электромагнитным излучением. Мед, как и многие другие пищевые матрицы, содержит несколько флуорфоров: аминокислоты, в том числе триптофан, тирозин и фенилаланин (спектры излучения возникают в диапазоне от 280 до 480 нм после возбуждения на 250 нм); полифенолы (250–280 нм); витамины (например, рибофлавин со спектрами излучения от 400 до 640 нм после возбуждения при 380 нм). В связи с этим характеристики спектров флуоресценции различных образцов меда могут быть использованы в качестве критериальных параметров его подлинности.

Среди аналитических методов, используемых для идентификации пищевых продуктов, в том числе меда, метод ЯМР получил широкое распространение ввиду его высокой чувствительности и воспроизводимости результатов. Основное преимущество перед другими методами заключается в обеспечении надежного связывания сигналов с конкретными молекулярными маркерами. Широко применяется для аутентификации меда и выявления параметров, формирующихся в процессе нагревания меда (например, для определения соотношения  $\alpha$ -и  $\beta$ -форм глюкозы). Метод ЯМР также может быть использован для выявления внесенных в состав продукта сахаросодержащих веществ, произведенных из C3 типа растений. При этом стоит отметить, что определение внесенных сахаров указанным методом возможно при их концентрации 20% и более. Недостатком данного способа

является высокая стоимость аналитического оборудования, а также техническая сложность проведения пробоподготовки при выполнении анализа.

*Электрохимические методы* так же просты, быстро-выполнимы и экономически доступны, как и некоторые из вышеперечисленных способов. Они используются для идентификации меда и позволяют получить важную информацию об окислительно-восстановительных свойствах его компонентов.

*Капиллярный электрофорез* является распространенным электроаналитическим методом для разделения и идентификации фенольных соединений, углеводов, аминокислот, органических кислот и катионов в меде. Высокая скорость, разрешение, простота, низкие эксплуатационные расходы и короткое время анализа делают капиллярный электрофорез альтернативой ВЭЖХ для анализа различных целевых соединений в меде. Также применение методов масс-спектрометрии в сочетании с капиллярным электрофорезом обеспечивает высокий уровень чувствительности и селективности.

Среди инструментальных методов анализа, используемых для идентификации меда, отдельно стоит рассмотреть *метод изотопной масс-спектрометрии*. Изотопная масс-спектрометрия (IRMS) является мощным инструментом при установлении подлинности пищевых продуктов [21,22]. Этот метод часто бывает незаменимым в случаях, когда физико-химические свойства фальсификата оказываются идентичными оригинальному продукту. Значения отношений изотопов биофильных элементов соединений, входящих в состав меда, отражают особенности изотопных характеристик медоносных растений, которые относятся к растениям с C3 типом фотосинтеза. C3-путь фиксации диоксида углерода характерен для растений, в которых ассимиляция CO<sub>2</sub> протекает по циклу Кальвина. C3-путь фиксации атмосферного диоксида углерода является основным для высших растений (например, для цитрусовых деревьев, ягод, яблочных и грушевых деревьев и др.). 85% всех растений относятся к C3-типу. При этом некоторые виды растений ассимилируют CO<sub>2</sub> по C4-пути. В данных растениях фотосинтез осуществляется по так называемому циклу Хетча и Слэка. Как отмечалось ранее, присутствие внесенных сахаров в меде может быть связано с непосредственным добавлением сиропов в продукт на стадии производства. Также причиной содержания экзогенных сахаров может стать подкормка пчел в период сбора нектара с целью извлечения большего количества меда из ульев. Для этой цели обычно используются сиропы, полученные, как правило, из растений с C4 типом фотосинтеза, таких как кукуруза и сахарный тростник. Значительная разница изотопной сигнатуры C3- и C4-растений (и в получаемом при их переработке или преобразовании углероде во всех формах) открывает широкие возможности для исследований (Рисунок 1).

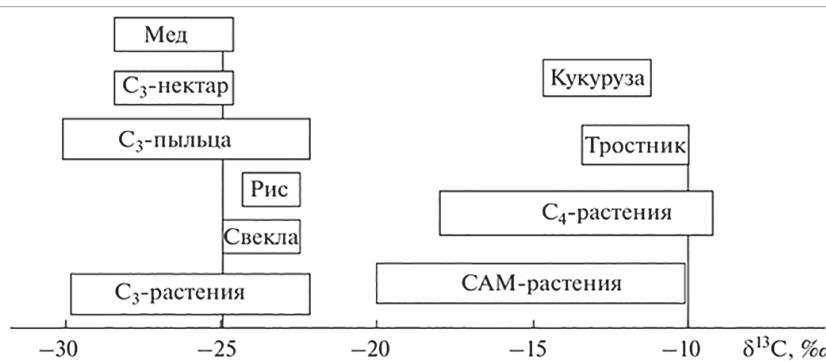


Рисунок 1. Диапазон значений показателя  $\delta^{13}\text{C}$  углеводов меда и различных типов растений [21]  
Figure 1. The range of values of the indicator  $\delta^{13}\text{C}$  of honey carbohydrates and various types of plants [21]

Помимо недорогих сахарозаменителей из кукурузы и сахарного тростника, на рынке появились сиропы из риса, свеклы, пшеницы и цикория, которые относятся к C3-растениям. Внесение таких добавок обнаружить значительно сложнее [23].

Особый интерес для исследования представляет белковая составляющая меда. В натуральном меде белковая и углеводная составляющие образуются одновременно и из одного источника. Поэтому значения показателя  $\delta^{13}\text{C}$  в них должны быть одинаковыми. Использование этой особенности позволило существенно снизить предел обнаружения экзогенных сахаров из C4-растений в меде. Так, различие значений показателя  $\delta^{13}\text{C}$  белков более чем на 1% свидетельствует о фальсификации меда [21,24].

Описанные методы инструментального анализа легли в основу многих научных работ, направленных на установление подлинности меда. Так, рабочая группа из Китая провела исследование 800 коммерческих образцов с использованием метода изотопной масс-спектрометрии. Были изучены показатели  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^2\text{H}$  и  $\delta^{18}\text{O}$  в меде brutto и в выделенной из меда белковой фракции. Дополнительно авторы использовали метод жидкостной хроматографии и полученные данные элементного профиля. Этот подход позволил достоверно выявить присутствие экзогенных сахаров в разных типах меда [25]. Ученые из Италии при помощи совместного использования методов ВЭЖХ и изотопной масс-спектрометрии изучили возможность выявлять экзогенные сахара в меде на основе анализа значений  $\delta^{13}\text{C}$  фруктозы, глюкозы и сахарозы в образце. Такой подход позволил определить внесенные сахара C3 и C4 типа растений, включая свекловичный сахар [26]. Однако, согласно ряду современных научных работ, в случае с некоторыми видами китайского меда указанный метод может давать ошибочные результаты [27].

В другом исследовании для выявления внесенных сахаров в меде был использован ряд хроматографических методов, а именно жидкостная хроматография в сочетании с рефрактометрическим детектором, анионообменная хроматография в сочетании с импульсным амперометрическим детектором (HPLC-PAD) и газовая хроматография в сочетании с пламенно-ионизационным детектором (GC-FID). Основные сахара меда считаются неинформативными в качестве маркеров для его идентификации. В проведенном исследовании выявлено наличие дисахаридов и небольших количеств трисахаридов и тетрасахаридов в меде, а также продемонстрировано отсутствие олигосахаридов с высокой степенью полимеризации. Учитывая, что некоторые сахарные сиропы получают путем ферментативного гидролиза крахмала, они могут содержать большое количество олигосахаридов с высокой степенью полимеризации. В связи с этим такие олигосахариды были предложены в качестве индикаторов для выявления фальсификации меда сиропами на основе крахмала [28].

Испанские исследователи оценили профиль высокомолекулярных олигосахаридов в натуральном меде и в 9 различных сахарных сиропах, включая кукурузный сироп и высоко-фруктозный кукурузный сироп с разной степенью изомеризации. Ученым удалось выявить образцы меда с внесенным кукурузным сиропом в количестве 5% и более [29].

В рамках другой работы [30] ученые проделали анализ 107 видов меда (вересковый, розмариновый, эвкалиптовый, цитрусовый) и предложили использовать инулотриозу в качестве маркера при выявлении присутствия в меде высоко-фруктозного инулинового сиропа. Это соединение не было обнаружено ни в одном из проанализированных образцов меда, в то время как высокие концентрации были найдены

во всех образцах, содержащих данный сироп. В дополнение к повышенной точности обнаружения фальсификации меда предложенный метод ВЭЖХ был недорогим и простым в использовании для контроля качества медовых продуктов.

На сегодняшний день добавление рисового сиропа является распространенным методом фальсификации меда на рынке, так как его обнаружение представляет особую сложность. Рисовый сироп получают путем гидролиза полисахаридов и олигосахаридов, таким образом, он содержит низкие уровни их концентраций [31]. Китайские исследователи разработали эффективный метод выявления внесенных рисовых сиропов с использованием жидкостной хроматографии с детекцией на диодной матрице (HPLC-DAD). На основе изучения 160 образцов различных медов (акации, рапса, липы, лichi, клевера и полифлорного меда от китайских пчеловодов), а также 32 типичных рисовых сиропов, приобретенных в Китае, был выявлен маркер 2-ацетилфуран-3-глюкопиранозид. Этот маркер присутствовал только в рисовом сиропе и оказался эффективным для его обнаружения в меде.

Также был разработан способ выявления сахарных сиропов в меде на основе ВЭЖХ под высоким давлением и квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрии (UHPLC/Q-TOF-MS). Метод позволил одновременно обнаружить полисахариды, ангидриды дифруктозы и 2-ацетилфуран-3-глюкопиранозид. С учетом показателей концентрации указанных соединений исследователи смогли выявить присутствие сахарного сиропа в меде с концентрацией 10% и выше [32]. По мнению ряда авторов, использование спектроскопических методов, основанных на инфракрасном излучении (ИК), рамановской спектроскопии и ЯМР, считается полезной альтернативой для обнаружения фальсификации путем добавления сахаров в мед. По сравнению с другими аналитическими подходами, в целом спектроскопические методы обладают рядом преимуществ. Они заключаются в обеспечении быстрого, простого и недорогого скринингового анализа. Однако эти методы, как правило, необходимо сочетать с многомерным анализом данных, так как они требуют большого набора выборок, позволяющих создать подходящую базу данных, и наличия специального оборудования, часто дорогостоящего. Кроме того, точность данных, полученных классификационными моделями при различии настоящего меда и фальсифицированного меда, не всегда является высокой. Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье с ослабленным полным коэффициентом отражения (FTIR-ATR) и многомерный анализ были успешно использованы для обнаружения и количественного определения различных сахарных примесей (кукурузный сироп, кукурузный сироп с высоким содержанием фруктозы и инвертный сахар) в меде [33]. Аналогичным образом для качественного и количественного анализа присутствия свекловичного сиропа был применен метод спектроскопии ближнего инфракрасного диапазона (NIR) совместно с хемометрическими методами [34].

Ученые из Италии изучали возможность выявления факта фальсификации меда с использованием одномерного и двумерного ядерного магнитного резонанса высокого разрешения в дополнении с многомерным статистическим анализом. Был проведен анализ данным методом 63 образцов натурального меда и 63 образцов меда с внесенными сахарными сиропами в количестве от 10% до 40%. Наилучшая дискриминантная модель смогла верно классифицировать 95% образцов [35].

В другой работе с использованием метода ЯМР-спектрометрии исследователи изучили 424 образца меда, отобранные в различных регионах Канады в рамках двух исследований в 2018 и 2019 годах. В результате были выявлены

33 соединения, характерные для химического состава меда. Благодаря широкой выборке, многомерные статистические методы, включая PCA, PLS-DA и SIMCA, позволили отличить канадские образцы от образцов из других стран [36].

### 3.5. Ботаническое происхождение меда

Гарантия подлинности ботанического происхождения меда, представленного на рынке, является одним из наиболее важных элементов как для обеспечения здоровой конкуренции среди производителей, так и для защиты интересов потребителей. В связи с этим вопрос ботанического происхождения меда стал особо важным и актуальным для исследовательских групп из разных стран. Так, в совместном статистическом исследовании греческие и чешские ученые изучили перечень англоязычных статей, посвященных вопросу определения подлинности меда, размещенных в научнотехнической базе SCOPUS с 1992 года. Авторы показали, что наибольшее количество исследовательских работ было направлено именно на определение подлинности ботанического происхождения меда (Рисунок 2).



На сегодняшний день при идентификации ботанического происхождения меда наибольшее распространение получили органолептический (сенсорный) и палинологический (пыльцевой) методы анализа. Целью первого метода является оценка внешних, обонятельных и вкусовых качеств меда. Среди актуального круга вопросов, с которыми сомелье меда сталкивается чаще всего, можно обозначить проблему анализа медов, содержащих примеси с яркими органолептическими характеристиками. В подобных случаях не совсем «чистые» пробы нередко интерпретируются как монофлорные. Палинологический метод анализа основан на диагностике состава пыльцы в меде, которая не только обогащает мед аминокислотами, витаминами и минеральными веществами, но и свидетельствует о его натуральности. Пыльцевое зерно — это мужской гаметофит семенных растений. Оно состоит из двух клеток (вегетативной и генеративной), которые окружены двумя защитными оболочками — экзиной и интиной. Полученные с помощью этого метода результаты дают информацию о ботаническом источнике: по преобладающей и единичной пыльце составляется список основных и сопутствующих медоносных растений, с которых осуществляется медосбор. К ключевым проблемам данного метода можно отнести неточность идентификации обнаруженной пыльцы и интерпретации результатов (ранжирование обнаруженных в составе меда таксонов на медоносах и перганосах, диагностика монофлорных медов с недорогими и перепредставленной пыльцой).

Проведение органолептического и палинологического исследований осуществляется на основе ряда национальных и международных стандартов. В России на сегодняшний

день, согласно стандарту ГОСТ 31766–2022<sup>2</sup>, регламентированы характеристики лишь пяти видов меда (гречишного, липового, подсолнечникового, акациевого и каштанового). Согласно обобщенной европейской методике, органолептический анализ меда включает следующие критерии: визуальный, обонятельный, дегустационный, а также процесс оценки физических свойств. В Европейских странах из указанных выше видов лучше всего изучены характеристики липового и подсолнечникового медов. Гречишный мед в больших количествах производится лишь в странах Восточной Европы и не относится к основным европейским товарным видам меда.

Учитывая трудности, связанные с традиционной палинологией, в качестве альтернативы появляются новые аналитические методологии для определения ботанического происхождения меда, в том числе основанные на инструментальных методах анализа и молекулярной биологии. Особое распространение при идентификации меда получили спектроскопические методы анализа [37,38,39]. Было предложено несколько передовых подходов, направленных на точную оценку ботанического и географического происхождения меда путем определения второстепенных соединений. Проведение исследований предполагает использование методов ГХ-МС, жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ЖК-МС), капиллярного электрофореза, времяпролетной масс-спектрометрии (CE-TOF-MS), лазерной десорбции/ионизации с матрицей MS (MALDI-TOF MS) и ЯМР-спектроскопии [23,38]. Однако на оценку химических маркеров, таких как летучие вещества, фенольные кислоты, сахара и другие компоненты меда, могут влиять особенности технологических процессов в пчеловодстве, условия окружающей среды и изменения климата, что часто приводит к ненадежному определению его ботанического происхождения [39]. Кроме того, мед представляет собой очень сложную матрицу с точки зрения происхождения пыльцы, так как пчелы никогда не собирают пыльцу исключительно с одного вида растений для получения меда, что приводит к изменчивости его состава. Для решения этих проблем можно использовать ДНК-маркеры в качестве инструментов для идентификации пыльцы. Они представляют альтернативы, не зависящие от внешних условий производства меда [40,41]. В качестве дополнений к аналитическим методам при идентификации меда широко применяются статистические методы анализа [36].

Так, бразильскими исследователями были применены статистические методы PCA и НСА, а также методы машинного обучения KNN, SIMCA и PLS-DA, чтобы смоделировать различия между тремя основными ботаническими типами меда (эвкалиптовый, цитрусовые и полевые цветы) на основе данных, полученных методом ЯМР. Методы НСА и РСА показали хорошее разделение коммерческих образцов меда на основе их ботанического происхождения в пространстве признаков. Модели SIMCA, KNN и PLS-DA смогли классифицировать 22,2%, 66,7% и 72,2% образцов соответственно, в зависимости от их ботанического происхождения [42]. В других работах данные ЯМР-спектров разных ботанических типов меда (робиниевый, каштановый, цитрусовый, эвкалиптовый, полифлорный и др.) анализировали с использованием регрессионных моделей. Точность перекрестной проверки составила 92% и 97% [43]. Индийские исследователи использовали корреляционную спектроскопию (COSY), спектроскопию множественной гетероядерной квантовой когерентности (HSQC) и спектроскопию НМР для выявления спектров, соответствующих двум новым алкалоидам,

<sup>2</sup> ГОСТ 31766–2022 «Меды монофлорные. Технические условия». Москва: Российский институт стандартизации. — 12 с

выделенным из каштанового меда. Эти алкалоиды структурно связаны с кинуреновой кислотой, биосинтетическим предшественником хинолиновых алкалоидов [44]. Кинуреновая кислота также исследовалась в качестве маркера каштанового меда методом ЯМР-спектроскопии на основе анализа 374 аутентичных европейских медов, собранных за 2 года [45]. В качестве маркеров меда земляничного дерева, помимо кинуреновой кислоты, авторы изучали  $\alpha$ -изофорон и 2,5-дигидроксифенилуксусную кислоту. В другом исследовании кинуреновая кислота и 4-хинолон-2-карбоновая кислота были идентифицированы как маркеры каштанового меда [46].

### 3.6. Географическое происхождение меда

Продукты питания с контролируемым географическим местом происхождения пользуются особым спросом у потребителей в силу их специфических свойств, обусловленных климатическими, почвенными особенностями, традиционными технологиями или иными факторами. К производству продуктов питания с контролируемым местом происхождения предъявляются более строгие требования, что обеспечивает их высокое качество и уникальность.

В странах Евросоюза система защиты географического места происхождения продуктов питания регулируется нормативно-правовой базой, предусмотренной Положением ЕС № 1151/2012 Европейского парламента<sup>3</sup>, и содержит три основные категории:

- защищенное наименование места происхождения (PDO, protected designation of origin);
- защищенное географическое указание (PGI, protected geographical indication);
- гарантия традиционности (TSG, traditional specialities guaranteed).

В настоящее время в ЕС зарегистрировано 23 PDO и 8 PGI медов, при этом Португалия является страной с наибольшим количеством медов с соответствующей категорией (9 PDO медов), за которой следует Испания (5 PDO и 1 PGI мед) и Франция (2 PDO и 3 PGI меда).

На территории Российской Федерации правовые отношения в этой сфере регулируются гражданским кодексом, ведется реестр наименования мест происхождения товаров Российской Федерации. Гражданский кодекс дает следующее определение этому понятию: «Наименованием места происхождения товара, которому предоставляется правовая охрана, является обозначение, представляющее собой либо содержащее современное или историческое, официальное или неофициальное, полное или сокращенное наименование страны, городского или сельского поселения, местности или другого географического объекта, а также обозначение, производное от такого наименования и ставшее известным в результате его использования в отношении товара, особые свойства которого исключительно или главным образом определяются характерными для данного географического объекта природными условиями и (или) людскими факторами. На использование этого наименования может быть признано исключительное право производителей такого товара» [47].

В отличие от товарного знака, наименование места происхождения товара выполняет, помимо различительной, функцию гарантирования определенных свойств товара, вследствие чего обеспечивается его дополнительная привлекательность для потребителей. Учитывая, что такие

товары может производить неопределенное количество субъектов предпринимательства, Кодекс предусматривает исключительные права за всеми производителями товара. Из-за более высокой стоимости меда с защищенным географическим местом происхождения такой продукт особенно подвержен фальсификации путем неправильной маркировки или внесения в продукт меда из других географических регионов. В связи с этим исследования, направленные на подтверждение географического места происхождения меда, получили широкое распространение с целью обеспечения защиты потребителей от продукции ненадлежащего качества и производителей от недобросовестной конкуренции.

Место происхождения меда играет важную роль при формировании его физико-химического состава и специфических свойств. Так, состав меда одного и того же ботанического происхождения может значительно различаться ввиду различных климатических условий, минерального состава почвы, региональных особенностей медоносов, вида пчел и других факторов. В связи с этим многие исследователи отмечают целесообразность установления подлинности географического места происхождения меда по принципу выявления «отпечатков пальцев» и предполагают сбор базы данных и ее аналитическую обработку. Использование методов статистического анализа позволяет выявить взаимосвязь между полученными значениями и оценить вклад каждого из них в математическую модель.

Одно из наиболее масштабных исследований с целью географической аутентификации меда было проведено в рамках проекта «TRACE», финансируемого ЕС [48]. Из 20 европейских регионов с различными климатическими и геологическими характеристиками были отобраны 516 образцов меда. В исследуемых образцах были определены значения отношений изотопов  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ . Обработку результатов проводили с использованием различных хемометрических методов. Для 7 из 20 регионов точность идентификации превышала 70% [49]. Учеными из США был разработан метод определения географического происхождения меда на основе исследования белковых соединений с применением метода MALDI-TOF масс-спектрометрии. Исследователи определили масс-спектры белка для 16 образцов гавайского меда. По полученным данным удалось точно различить образцы гавайского меда от меда из других регионов [50]. Географическое происхождение трех словенских типов меда было определено при помощи использования методов рентгенофлуоресцентного анализа с полным внешним отражением (TXRF) и применения изотопной масс-спектрометрии (IRMS). За три года со всех регионов Словении было собрано 122 образца меда. Выбранные параметры позволили различить образцы из четырех словенских природно-географических регионов с точностью 94,6–100% в зависимости от типа меда [51].

В другом исследовании китайских ученых акцент был поставлен на быстрое определение географического происхождения акациевого и полифлорного меда. В этой работе использовался метод спектроскопии лазерно-индукционного пробоя (LIBS). Спектры элементов Mg, Ca, Na и K имели значительные различия в зависимости от географического происхождения. Применение линейного дискриминантного анализа (LDA) позволило классифицировать образцы по месту их географического происхождения с точностью 99,7%. По мнению авторов, указанные методы обеспечивают быстрое и точное определение географического происхождения меда и могут быть полезны для отслеживания места происхождения других пищевых продуктов [52].

<sup>3</sup> Regulation (EU) No 1151/2012 of the European Parliament and of the Council of 21 November 2012 on quality schemes for agricultural products and foodstuffs. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32012R1151> Accessed March 25, 2023

В совместной работе греческих и польских исследователей был изучен элементный профиль 93-х образцов меда различного географического происхождения с помощью метода ICP-MS. Используемая нейросеть PNN на основе полученных данных смогла верно классифицировать 85,3% образцов соответствуя с их географическим происхождением. Редкоземельные элементы Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu и микроэлементы Li, Mg, Mn, Ni, Co, Cu, Sr, Ba, Pb были выявлены как наиболее информативные [53].

В аналогичном исследовании с использованием метода ICP-MS был изучен элементный профиль 50 образцов аргентинского меда из различных провинций. Применение линейного дискриминантного анализа (LDA) позволило правильно классифицировать 76% образцов. При внесении в модель данных физико-химических показателей исследуемых образцов количество правильно классифицированных образцов увеличилось до 94% [54].

В разные годы исследователи изучали элементный состав от 30 до 140 образцов меда из 16 районов Польши. С помощью метода масс-спектрометрии с индуктивно связанный плазмой (ICP-MS) и абсорбционной спектрофотометрией с пламенной атомизацией (FAAS) в образцах меда определяли 15 элементов (Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr и Zn). Исследования показали значительные различия в минеральном составе образцов меда из разных районов, что может быть использовано при установлении географического места происхождения [55]. Также европейские исследователи изучили возможность подтверждения места географического происхождения меда по некоторым компонентам-маркерам. Авторы предположили, что образцы английского меда можно идентифицировать по наличию 1-пентен-3-ола, мед из Дании — по отсутствию 3-метилбутаналя. 2,2,6-триметилциклогексанон и этил-2-гидроксипропаноат были предложены в качестве возможных маркеров для идентификации меда из Португалии, 1-октен-3-ол или 2,6,6-триметил-2,4-циклогептадиен-1-он — для меда из Испании [56].

Словакские ученые продемонстрировали, что спектроскопия с преобразованием Фурье в ближнем инфракрасном диапазоне (FT-MIR) является полезным инструментом для отслеживания географического происхождения. Образцы были классифицированы по географическому происхождению с высокой точностью (Франция, Швейцария или Германия). Также была проведена оценка точности классификации образцов по ботаническому происхождению медоносов: роза альпийская — 95%, вереск — 77%, каштан — 98%, одуванчик — 76%. Исследование показало, что ИК-спектроскопические характеристики меда гораздо больше зависят от ботанического происхождения, чем от географического [57].

Исследователи из Эфиопии изучили 47 образцов меда из 7 административных зон трех провинций. Работа была направлена на оценку качества меда и на разработку статистической модели для классификации образцов по месту их географического происхождения на основе данных

физико-химических параметров. В разработанной модели PCA первые три основных компоненты объясняли около 69,14% от общего числа вариаций. Модель LDA на основе тех же данных верно классифицировала 100% образцов [58].

В совместной работе иранских и немецких исследователей была изучена возможность идентификации географического происхождения меда методом метабаркодирования ДНК, включая случаи, когда неблагоприятные климатические условия вынуждают пчеловодов в течение года перемещаться на большие расстояния. Молекулярные маркеры (ITS2 и RbCl) позволили идентифицировать 926 видов растений в исследованных образцах. При этом было выявлено 34 ключевых вида растений, которые можно было бы использовать для успешного определения географического происхождения в 91,4% образцов меда. В ряде случаев эти ключевые виды присутствовали в меде в следовых количествах, и поэтому обычная палинология не смогла бы их обнаружить [59].

В другой работе с целью выявления конкретных видов медоносов разных районов штата Мизoram в Индии ученые использовали метод штрихкодирования ДНК и мелиссопалинологический анализ. По результатам как мелиссопалинологического анализа, так и анализа штрихкодирования ДНК были выявлены почти одни и те же 22 вида медоносов, что позволяет предположить, что оба метода подходят для исследования. При этом авторы отмечают преимущества метода штрихкодирования ДНК в части простоты анализа [60].

#### 4. Заключение

Проблема фальсификации меда остается актуальной во всем мире. Несмотря на большой интерес исследователей к этому вопросу, на сегодняшний день нет единой методологии определения подлинности меда и продуктов его переработки. Из-за сложной природы меда и многообразия видов фальсификации его идентификация является непростой, многоуровневой задачей. В опубликованных работах представлен широкий спектр различных инструментальных методов анализа, которые могут быть полезны при выявлении различных видов фальсификаторов меда. При этом большинство авторов придерживаются мнения, что идентификация меда должна быть комплексной и включать в себя несколько различных методов анализа, а также статистическую обработку результатов. Кроме того, при определении подлинности ботанического и географического происхождения меда нередко требуется уникальный подход к каждому хозяйству ввиду специфических особенностей местных медоносов, вида пчел, почвы, климатических условий и других факторов. Таким образом, индивидуальный комплексный подход к идентификации меда с использованием описанных методов исследования и статистической обработки результатов станет мощным инструментом для определения его подлинности, а также его ботанического и географического происхождения.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A. C. O., Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T.Y., Afrin, S., Gasparini, M., Reboreda-Rodríguez, P., Manna, P. et al. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), Article 2322. <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>
- Miguel, M.G., Antunes, M.D., Faleiro, M.L. (2017). Honey as a complementary medicine. *Integrative Medicine Insights*, 12, Article 117863371770286. <https://doi.org/10.1177/1178633717702869>
- Roshan, A.-R. A., Gad, H. A., El-Ahmady, S. H., Abou-Shoer, M. I., Khanbakhsh, M. S., Al-Azizi, M. M. (2017). Characterization and discrimination of the floral origin of sidr honey by physicochemical data combined with multivariate analysis. *Food Analytical Methods*, 10(1), 137–146. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0563-x>
- Evershed, R., Temple, N. (2017). How food manufacturers deceive us. Alpina Publisher, 2017.
- Дубцова, Е. А. (2009). Состав, биологические свойства меда, пыльцы и маточного молочка и возможность их применения в лечебном питании. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 3, 36–42.

7. Pascual-Maté, A., Osés, S. M., Fernández-Muiño, M. A., Sancho, M. T. (2018). Methods of analysis of honey. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 38–74. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411178>
8. Ligor, M., Kowalkowski, T., Buszewski, B. (2022). Comparative study of the potentially toxic elements and essential microelements in honey. *Molecules*, 27(17), Article 5474. <https://doi.org/10.3390/molecules27175474>
9. Meo, S.A., Al-Asiri, S.A., Mahesar, A.L., Ansari, M.J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(5), 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
10. Trifković, J., Andrić, F., Ristivojević, P., Guzelmeric, E., Yesilada, E. (2017). Analytical methods in tracing honey authenticity. *Journal of AOAC International*, 100(4), 827–839. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0142>
11. Siddiqui, A.J., Musharraf, S.G., Choudhary, M.I., Atta-ur-Rahman. (2017). Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food Chemistry*, 217, 687–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.001>
12. Albaridi, N.A. (2019). Antibacterial potency of honey. *International Journal of Microbiology*, 2019, Article 2464507. <https://doi.org/10.1155/2019/2464507>
13. Ahmed, S., Sulaiman, S.A., Baig, A.A., Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S. et al. (2018). Honey as a potential natural antioxidant medicine: An insight into its molecular mechanisms of action. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, Article 8367846. <https://doi.org/10.1155/2018/8367846>
14. Pires, J., Esteivinho, M.L., Feas, X., Cantalapiedra, J., Iglesias, A. (2009). Polen spectrum and physico-chemical attributes of heather (*Erica sp.*) honeys of north Portugal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(11), 1862–1870. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3663>
15. Закишина, В. И. (2012). Экспертиза меда и способы обнаружения его фальсификации. М.: Издательско торговая корпорация «Дашков и К°», 2012.
16. Flanjak, I., Strelc, I., Kenjerić, D.C., Primorac, L. (2016). Croatian produced unifloral honeys characterised according to the protein and proline content and enzyme activities. *Journal of Apicultural Science*, 60(1), 39–48. <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>
17. Santos-Buelga, C., González-Paramás, A. M. (2017). Chemical Composition of Honey. Chapter in a book: Bee Products – Chemical and Biological Properties. Springer International Publishing AG, 2017. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1_3)
18. Petretto, G.L., Urgeghe, P.P., Mascia, I., Fadda, C., Rourke, J.P., Pintore, G. (2016). Stir bar sorptive extraction coupled with GC/MS applied to honey: optimization of method and comparative study with headspace extraction techniques. *European Food Research and Technology*, 243, 735–741. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2787-9>
19. Seisonen, S., Kivima, E., Vene, K. (2015). Characterisation of the aroma profiles of different honeys and corresponding flowers using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry. *Food Chemistry*, 169, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.125>
20. Wu, L., Du, B., Heyden, Y.V., Chen, L., Zhao, L., Wang, M. et al. (2017). Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 86, 25–38. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.10.013>
21. Vetrova, O.V., Melkov, V.N., Simonova, G.V., Kalashnikova, D.A. (2017). Detection of honey adulterations with sugar syrups by stable isotope mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 72(7), 756–760. <https://doi.org/10.1134/S1061934817070152>
22. Kalashnikova, D.A., Simonova, G.V. (2021). Ratios of stable isotopes  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in samples of dead honey bees and beekeeping products. *Journal of Analytical Chemistry*, 76(4), 526–534. <https://doi.org/10.1134/S1061934821040067>
23. Bodor, Z., Kovacs, Z., Rashed, M.S., Kókai, Z., Dalmadi, I., Benedek, C. (2020). Sensory and physicochemical evaluation of acacia and linden honey adulterated with sugar syrup. *Sensors (Basel)*, 20(17), Article 4845. <https://doi.org/10.3390/s20174845>
24. Талибова, А.Г., Файнберг, В.С., Ганин, М.Ю., Федосеенко, О.В., Мозговая, С.С., Овчинников, С.В. (2021). Применение изотопной массспектрометрии для выявления фактов фальсификации и определения места происхождения продуктов пчеловодства. *Аналитика*, 11(3), 202–207. <https://doi.org/10.22184/2227-572X.2021.11.3.202.207>
25. Luo, D., Luo, H., Dong, H., Xian, Y., Guo, X., Wu, Y. (2016). Hydrogen (2H/1H) combined with carbon (13C/12C) isotope ratios analysis to determine the adulteration of commercial honey. *Food Analytical Methods*, 9, 255–262. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0202-y>
26. Perini, M., Bontempo, L. (2021). Liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry (LC-IRMS): A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 147, Article 116515. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116515>
27. Xu, J.Z., Liu, X., Wu, B., Cao, Y.Z. (2020). A comprehensive analysis of  $^{13}\text{C}$  isotope ratios data of authentic honey types produced in China using the EA-IRMS and LC-IRMS. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1216–1232. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04153-2>
28. Megherbi, M., Herbreteau, B., Faure, R., Salvador, A. (2009). Polysaccharides as a marker for detection of corn sugar syrup addition in honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2105–2111. <https://doi.org/10.1021/jf803384q>
29. Aggrawal, M., Rohrer, J. (2017). HPAE-PAD determination of carbohydrates in honey to evaluate samples for quality and adulteration. *ThermoFisher Scientific*, 1158. Retrieved from <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-1158-IC-HPAE-PAD-Carbohydrates-Honey-ANT2158-EN.pdf> Accessed March 25, 2023
30. Wang, S., Guo, Q., Wang, L., Lin, L., Shi, H., Cao, H. et al. (2015). Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 172, 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.044>
31. Xue, X., Wang, Q., Li, Y., Wu, L., Chen, L., Zhao, J. et al. (2013). 2-Acetyl-furan-3-glucopyranoside as a novel marker for the detection of honey adulterated with rice syrup. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(31), 7488–7493. <https://doi.org/10.1021/jf401912u>
32. Du, B., Wu, L., Xue, X., Chen, L., Li, Y., Zhao, J. et al. (2015). Rapid screening of multiclass syrup adulterants in honey by Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography/Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(29), 6614–6623. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01410>
33. Ríos-Corripio, M. A., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R. (2012). Analysis of adulteration in honey with standard sugar solutions and syrups using attenuated total reflectance-fourier transform infrared spectroscopy and multivariate methods. *CyTA – Journal of Food*, 10(2), 119–122. <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.596576>
34. Valinger, D., Longin, L., Grbeš, F., Benković, M., Jurina, T., Kljusurić, J.G. et al. (2021). Detection of honey adulteration — The potential of UV-VIS and NIR spectroscopy coupled with multivariate analysis. *LWT*, 145, Article 111316. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111316>
35. Bertelli, D., Lolli, M., Papotti, G., Bortolotti, L., Serra, G., Plessi, M. (2010). Detection of honey adulteration by sugar syrups using One-Dimensional and Two-Dimensional High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(15), 8495–8501. <https://doi.org/10.1021/jf101460t>
36. Burton, I.W., Kompany-Zareh, M., Haverstock, S., Haché, J., Martinez-Farina, C.F., Wentzell, P.D. et al. (2023). Analysis and discrimination of Canadian honey using quantitative NMR and multivariate statistical methods. *Molecules*, 28(4), Article 1656. <https://doi.org/10.3390/mol-ecules28041656>
37. Wang, X., Chen, Y., Hu, Y., Zhou, J., Chen, L., Lu, X. (2022). Systematic review of the characteristic markers in honey of various botanical, geographic, and entomological origins. *ACS Food Science and Technology*, 2(2), 206–220. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00422>
38. Consonni, R., Cagliani, L.R. (2015). Recent developments in honey characterization. *RSC Advances*, 5(73), 59696–59714.
39. Schievano, E., Morelato, E., Facchini, C., Mammi, S. (2013). Characterization of markers of botanical origin and other compounds extracted from unifloral honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1747–1755. <https://doi.org/10.1021/jf302798d>
40. Madesis, P., Ganopoulos, I., Sakaridis, I., Argirou, A., Tsafaris, A. (2014). Advances of DNA-based methods for tracing the botanical origin of food products. *Food Research International*, 60, 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.042>
41. Bovo, S., Utzeri V. J., Ribani, A., Cabri, R., Fontanesi, L. (2020). Shotgun sequencing of honey DNA can describe honey bee derived environmental signatures and the honey bee hologenome complexity. *Scientific Reports*, 10, Article 9279. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66127-1>
42. Boffo, E.F., Tavares, L.A., Tobias, A.C.T., Ferreira, M.M.C., Ferreira, A.G. (2012). Identification of components of Brazilian honey by 1H NMR and classification of its botanical origin by chemometric methods. *LWT – Food Science and Technology*, 49(1), 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.024>
43. Ribeiro, R.de O.R., Mársico, E.T., Carneiro, C. da S., Monteiro, M.L.G., Júnior, C.A.C., Mano, S. et al. (2014). Classification of Brazilian honeys by physical and chemical analytical methods and low field nuclear magnetic resonance (LF 1H NMR). *LWT – Food Science and Technology*, 55(1), 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.004>
44. Beretta, G., Vistoli, G., Caneva, E., Anselmi, C., Maffei, F.R. (2009). Structure elucidation and NMR assignments of two new pyrrolidinyl quinoline alkaloids from chestnut honey. *MRC*, 47(5), 456–459. <https://doi.org/10.1002/mrc.2407>
45. Donarski, J.A., Jones, S.A., Harrison, M., Driffield, M., Charlton, A.J. (2010). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, 118(4), 987–994. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.033>
46. Truchado, P., Martos, I., Bortolotti, L., Sabatini, A.G., Ferreres, F.F., Tomas-Barberan, F.A. (2009). Use of quinoline alkaloids as markers of the floral origin of Chestnut honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(13), 5680–5686. <https://doi.org/10.1021/jf900766v>
47. Оганесянц, Л.А., Панасюк, А. Л., Кузьмина, Е.И., Свиридов, Д.А. (2019). Использование современных инструментальных методов анализа с целью установления географического места происхождения винодельческой продукции. *Пиво и напитки*, 4, 59–64. <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2019-10002>
48. European commission (2009). Tracing Food Commodities in Europe. Электронный ресурс. <https://cordis.europa.eu/project/id/6942>. Дата доступа 05.06.2023
49. Schellenberg, A., Chmielus, S., Schlicht, C., Camin, F., Perini, M., Bontempo, L. et al. (2010). Multielement stable isotope ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions. *Food Chemistry*, 121(3), 770–777. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.082>

50. Wang, J., Kliks, M.M., Qu, W., Jun, S., Shi, G., Li, Q.X. (2009). Rapid determination of the geographical origin of honey based on protein fingerprinting and barcoding using MALDI TOF MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10081–10088. <https://doi.org/10.1021/jf902286p>
51. Kropf, U., Korošec, M., Bertoncelj, J., Ogrinc, N., Nečemer, M., Kump, P. et al. (2010). Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chemistry*, 121(3), 839–846. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.094>
52. Zhao, Z., Chen, L., Liu, F., Zhou, F., Peng, J., Sun, M. (2020). Fast classification of geographical origins of honey based on laser-induced breakdown spectroscopy and multivariate analysis. *Sensors*, 20(7), Article 1878. <https://doi.org/10.3390/s20071878>
53. Drivelos, S. A., Danezis, G. P., Halagarda, M., Popek, S., Georgiou, C. A. (2021). Geographical origin and botanical type honey authentication through elemental metabolomics via chemometrics. *Food Chemistry*, 338, Article 127936. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127936>
54. Fechner, D.C., Hidalgo, M.J., Díaz, J.D.R., Gil, R.A., Pellerano, R.G. (2019). Geographical origin authentication of honey produced in Argentina. *Food Bioscience*, 33, Article 100483. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100483>
55. Chudzinska, M., Baralkiewicz, D. (2011). Application of ICP-MS method of determination of 15 elements in honey with chemometric approach for the verification of their authenticity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2741–2749. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.08.014>
56. Radovic, B.S., Careri, M., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M., Anklam, E. (2001). Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry*, 72(4), 511–520. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00263-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00263-6)
57. Ruoff, K., Luginbühl, W., Bogdanov, S., Bosset, J.-O., Estermann, B., Ziolkó, T. et al. (2007). Quantitative determination of physical and chemical measurands in honey by near-infrared spectrometry. *European Food Research and Technology*, 225(3–4), 415–423. <http://doi.org/10.1007/s00217-007-0634-8>
58. Yayinie, M., Atlabachew, M., Tesfaye, A., Hilluf, W., Reta, C. (2021). Quality authentication and geographical origin classification of honey of Amhara region, Ethiopia based on physicochemical parameters. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), Article 102987. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.102987>
59. Khansaritreh, E., Salmaki, Y., Ramezani, E., Azirani, T.A., Keller, A., Neumann, K. et al. (2020). Employing DNA metabarcoding to determine the geographical origin of honey. *Helijon*, 6(11), Article e05596. <https://doi.org/10.1016/j.helijon.2020.e05596>
60. Saravanan, M., Mohanapriya, G., Laha, R., Sathishkumar, R. (2019). DNA barcoding detects floral origin of Indian honey samples. *Genome*, 62(5), 341–348. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0058>

## REFERENCES

- da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A. C. O., Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T.Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboreda-Rodríguez, P., Manna, P. et al. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), Article 2322. <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>
- Miguel, M.G., Antunes, M.D., Faleiro, M.L. (2017). Honey as a complementary medicine. *Integrative Medicine Insights*, 12, Article 117863371770286. <https://doi.org/10.1177/1178633717702869>
- Roshan, A.-R. A., Gad, H. A., El-Ahmady, S. H., Abou-Shoer, M. I., Khanbakhsh, M. S., Al-Azizi, M. M. (2017). Characterization and discrimination of the floral origin of sirid honey by physicochemical data combined with multivariate analysis. *Food Analytical Methods*, 10(1), 137–146. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0563-x>
- Evershed, R., Temple, N. (2017). How food manufacturers deceive us. Alpina Publisher, 2017.
- Dubtsova, E. A. (2009). The composition, biological properties of honey, pollen and royal jelly and the possibility of their use in therapeutic nutrition. *Experimental and Clinical Gastroenterology*, 3, 36–42. (In Russian)
- Pascual-Maté, A., Osés, S. M., Fernández-Muiño, M. A., Sancho, M. T. (2018). Methods of analysis of honey. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 38–74. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411178>
- Ligor, M., Kowalski, T., Buszewski, B. (2022). Comparative study of the potentially toxic elements and essential microelements in honey. *Molecules*, 27(17), Article 5474. <https://doi.org/10.3390/molecules27175474>
- Meo, S.A., Al-Asiri, S.A., Mahesar, A.L., Ansari, M.J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(5), 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
- Trifković, J., Andrić, F., Ristivojević, P., Guzelmeric, E., Yesilada, E. (2017). Analytical methods in tracing honey authenticity. *Journal of AOAC International*, 100(4), 827–839. <http://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0142>
- Siddiqui, A.J., Musharraf, S.G., Choudhary, M.I., Atta-ur-Rahman. (2017). Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food Chemistry*, 217, 687–698. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.001>
- Albaridi, N.A. (2019). Antibacterial potency of honey. *International Journal of Microbiology*, 2019, Article 2464507. <https://doi.org/10.1155/2019/2464507>
- Ahmed, S., Sulaiman, S.A., Baig, A.A., Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S. et al. (2018). Honey as a potential natural antioxidant medicine: An insight into its molecular mechanisms of action. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, Article 8367846. <https://doi.org/10.1155/2018/8367846>
- Pires, J., Estevinho, M.L., Feas, X., Cantalapiedra, J., Iglesias, A. (2009). Pollen spectrum and physico-chemical attributes of heather (*Erica sp.*) honeys of north Portugal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(11), 1862–1870. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3663>
- Zaikina, V. I. (2012). Examination of honey and methods of detecting its falsification. Moscow: Publishing and Trading Corporation "Dashkov and Co.", 2012. (In Russian)
- Flanjak, I., Strelc, I., Kenjerić, D.C., Primorac, L. (2016). Croatian produced unifloral honeys characterised according to the protein and proline content and enzyme activities. *Journal of Apicultural Science*, 60(1), 39–48. <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>
- Santos-Buelga, C., González-Paramás, A. M. (2017). Chemical Composition of Honey. Chapter in a book: Bee Products – Chemical and Biological Properties. Springer International Publishing AG, 2017. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1_3)
- Petretto, G.L., Urgeghe, P.P., Mascia, I., Fadda, C., Rourke, J.P., Pintore, G. (2016). Stir bar sorptive extraction coupled with GC/MS applied to honey: optimization of method and comparative study with headspace extrac-
- tion techniques. *European Food Research and Technology*, 243, 735–741. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2787-9>
- Seisonen, S., Kivima, E., Vene, K. (2015). Characterisation of the aroma profiles of different honeys and corresponding flowers using solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry/olfactometry. *Food Chemistry*, 169, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.125>
- Wu, L., Du, B., Heyden, Y.V., Chen, L., Zhao, L., Wang, M. et al. (2017). Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 86, 25–38. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.10.013>
- Vetrova, O.V., Melkov, V.N., Simonova, G.V., Kalashnikova, D.A. (2017). Detection of honey adulterations with sugar syrups by stable isotope mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 72(7), 756–760. <https://doi.org/10.1134/S1061934817070152>
- Kalashnikova, D.A., Simonova, G.V. (2021). Ratios of stable isotopes  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  in samples of dead honey bees and beekeeping products. *Journal of Analytical Chemistry*, 76(4), 526–534. <https://doi.org/10.1134/S1061934821040067>
- Bodor, Z., Kovacs, Z., Rashed, M.S., Kókai, Z., Dalmadi, I., Benedek, C. (2020). Sensory and physicochemical evaluation of acacia and linden honey adulterated with sugar syrup. *Sensors (Basel)*, 20(17), Article 4845. <https://doi.org/10.3390/s20174845>
- Talibova, A.G., Feinberg, V.S., Ganin, M. Yu., Fedoseenko, O.V., Mozgovaya, S.S., Ovchinnikov, S.V. (2021). The application of isotope mass spectrometry to identify facts of falsification and determine the place of origin of bee products. *Analytics*, 11(3), 202–207. <http://doi.org/10.22184/2227-572X.2021.11.3.202.207> (In Russian)
- Luo, D., Luo, H., Dong, H., Xian, Y., Guo, X., Wu, Y. (2016). Hydrogen ( $2\text{H}/1\text{H}$ ) combined with carbon ( $13\text{C}/12\text{C}$ ) isotope ratios analysis to determine the adulteration of commercial honey. *Food Analytical Methods*, 9, 255–262. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0202-y>
- Perini, M., Bontempo, L. (2021). Liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry (LC-IRMS): A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 147, Article 116515. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116515>
- Xu, J.Z., Liu, X., Wu, B., Cao, Y.Z. (2020). A comprehensive analysis of  $^{13}\text{C}$  isotope ratios data of authentic honey types produced in China using the EA-IRMS and LC-IRMS. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4), 1216–1232. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04153-2>
- Megherbi, M., Herbreteau, B., Faure, R., Salvador, A. (2009). Polysaccharides as a marker for detection of corn sugar syrup addition in honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2105–2111. <https://doi.org/10.1021/jf803384q>
- Aggrawal, M., Rohrer, J. (2017). HPAE-PAD determination of carbohydrates in honey to evaluate samples for quality and adulteration. *Thermo Fisher Scientific*, 1158. Retrieved from <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-1158-IC-HPAE-PAD-Carbohydrates-Honey-AN72158-EN.pdf> Accessed March 25, 2023
- Wang, S., Guo, Q., Wang, L., Lin, L., Shi, H., Cao, H. et al. (2015). Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 172, 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.044>
- Xue, X., Wang, Q., Li, Y., Wu, L., Chen, L., Zhao, J. et al. (2013). 2-Acetyl-furan-3-glucopyranoside as a novel marker for the detection of honey adulterated with rice syrup. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(31), 7488–7493. <https://doi.org/10.1021/jf401912u>
- Du, B., Wu, L., Xue, X., Chen, L., Li, Y., Zhao, J. et al. (2015). Rapid screening of multiclass syrup adulterants in honey by Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography/Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(29), 6614–6623. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01410>
33. Rios-Corripio, M. A., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R. (2012). Analysis of adulteration in honey with standard sugar solutions and syrups using attenuated total reflectance-fourier transform infrared spectroscopy and multivariate methods. *CyTA – Journal of Food*, 10(2), 119–122. <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.596576>
34. Valinger, D., Longin, L., Grbeš, F., Benković, M., Jurina, T., Kljusurić, J.G. et al. (2021). Detection of honey adulteration – The potential of UV-VIS and NIR spectroscopy coupled with multivariate analysis. *LWT*, 145, Article 111316. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111316>
35. Bertelli, D., Lolli, M., Papotti, G., Bortolotti, L., Serra, G., Plessi, M. (2010). Detection of honey adulteration by sugar syrups using One-Dimensional and Two-Dimensional High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(15), 8495–8501. <https://doi.org/10.1021/jf101460t>
36. Burton, I.W., Kompany-Zareh, M., Haverstock, S., Haché, J., Martinez-Farina, C.F., Wentzell, P.D. et al. (2023). Analysis and discrimination of Canadian honey using quantitative NMR and multivariate statistical methods. *Molecules*, 28(4), Article 1656. <https://doi.org/10.3390/molecules28041656>
37. Wang, X., Chen, Y., Hu, Y., Zhou, J., Chen, L., Lu, X. (2022). Systematic review of the characteristic markers in honey of various botanical, geographic, and entomological origins. *ACS Food Science and Technology*, 2(2), 206–220. <https://doi.org/10.1021/acs.foodscitech.1c00422>
38. Consonni, R., Cagliani, L.R. (2015). Recent developments in honey characterization. *RSC Advances*, 5(73), 59696–59714.
39. Schievano, E., Morelato, E., Facchini, C., Mammi, S. (2013). Characterization of markers of botanical origin and other compounds extracted from unifloral honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1747–1755. <https://doi.org/10.1021/jf302798d>
40. Madesis, P., Ganopoulos, I., Sakaridis, I., Argiriou, A., Tsafaris, A. (2014). Advances of DNA-based methods for tracing the botanical origin of food products. *Food Research International*, 60, 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.042>
41. Bovo, S., Utzeli V. J., Ribani, A., Cabri, R., Fontanesi, L. (2020). Shotgun sequencing of honey DNA can describe honey bee derived environmental signatures and the honey bee hologenome complexity. *Scientific Reports*, 10, Article 9279. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66127-1>
42. Bozzo, E.F., Tavares, L.A., Tobias, A.C.T., Ferreira, M.M.C., Ferreira, A.G. (2012). Identification of components of Brazilian honey by 1H NMR and classification of its botanical origin by chemometric methods. *LWT – Food Science and Technology*, 49(1), 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.024>
43. Ribeiro, R.de O.R., Mársico, E.T., Carneiro, C. da S., Monteiro, M.L.G., Júnior, C.A.C., Mano, S. et al. (2014). Classification of Brazilian honeys by physical and chemical analytical methods and low field nuclear magnetic resonance (LF 1H NMR). *LWT – Food Science and Technology*, 55(1), 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.004>
44. Beretta, G., Vistoli, G., Caneva, E., Anselmi, C., Maffei, F.R. (2009). Structure elucidation and NMR assignments of two new pyrrolidinyl quinoline alkaloids from chestnut honey. *MRC*, 47(5), 456–459. <https://doi.org/10.1002/mrc.2407>
45. Donarski, J.A., Jones, S.A., Harrison, M., Driffeld, M., Charlton, A.J. (2010). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. *Food Chemistry*, 118(4), 987–994. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.053>
46. Truchado, P., Martos, I., Bortolotti, L., Sabatini, A.G., Ferreres, F.F., Tomas-Barberan, F.A. (2009). Use of quinoline alkaloids as markers of the floral origin of Chestnut honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(13), 5680–5686. <https://doi.org/10.1021/jf000766v>
47. Oganesyants, L.A., Panasyuk, A. L., Kuzmina, E.I., Sviridov, D.A. (2019). Use of modern instrumental analysis methods for establishing geographical place of wine products origin. *Beer and Drinks*, 4, 59–64. <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2019-10002> (In Russian)
48. European commission (2009). Tracing Food Commodities in Europe. Retrieved from: <https://cordis.europa.eu/project/id/6942>. Accessed March 25, 2023
49. Schellenberg, A., Chmielus, S., Schlicht, C., Camin, F., Perini, M., Bon-tempo, L. et al. (2010). Multielement stable isotope ratios (H, C, N, S) of honey from different European regions. *Food Chemistry*, 121(3), 770–777. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.082>
50. Wang, J., Kliks, M.M., Qu, W., Jun, S., Shi, G., Li, Q.X. (2009). Rapid determination of the geographical origin of honey based on protein fingerprinting and barcoding using MALDI TOF MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10081–10088. <https://doi.org/10.1021/jf902286p>
51. Kropf, U., Korošec, M., Bertoncelj, J., Ogrinc, N., Nečemer, M., Kump, P. et al. (2010). Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chemistry*, 121(3), 839–846. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.094>
52. Zhao, Z., Chen, L., Liu, F., Zhou, F., Peng, J., Sun, M. (2020). Fast classification of geographical origins of honey based on laser-induced breakdown spectroscopy and multivariate analysis. *Sensors*, 20(7), Article 1878. <https://doi.org/10.3390/s20071878>
53. Driveilos, S. A., Danezis, G. P., Halagarda, M., Popek S., Georgiou, C. A. (2021). Geographical origin and botanical type honey authentication through elemental metabolomics via chemometrics. *Food Chemistry*, 338, Article 127936. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127936>
54. Fechner, D.C., Hidalgo, M.J., Díaz, J.D.R., Gil R. A., Pellerano, R.G. (2019). Geographical origin authentication of honey produced in Argentina. *Food Bioscience*, 33, Article 100483. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100483>
55. Chudzinska, M., Baralkiewicz, D. (2011). Application of ICP-MS method of determination of 15 elements in honey with chemometric approach for the verification of their authenticity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2741–2749. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.08.014>
56. Radovic, B.S., Careri, M., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M., Anklam, E. (2001). Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry*, 72(4), 511–520. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00263-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00263-6)
57. Ruoff, K., Luginbühl, W., Bogdanov, S., Bosset, J.-O., Estermann, B., Ziolk, T. et al. (2007). Quantitative determination of physical and chemical measurands in honey by near-infrared spectrometry. *European Food Research and Technology*, 225(3–4), 415–423. <http://doi.org/10.1007/s00217-007-0634-8>
58. Yayinie, M., Atlabachew, M., Tesfaye, A., Hilluf, W., Reta C. (2021). Quality authentication and geographical origin classification of honey of Amhara region, Ethiopia based on physicochemical parameters. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), Article 102987. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.102987>
59. Khansaritreh, E., Salmaki, Y., Ramezani, E., Azirani, T.A., Keller, A., Neumann, K. et al. (2020). Employing DNA metabarcoding to determine the geographical origin of honey. *Heliyon*, 6(11), Article e05596. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05596>
60. Saravanan, M., Mohanapriya, G., Laha, R., Sathishkumar, R. (2019). DNA barcoding detects floral origin of Indian honey samples. *Genome*, 62(5), 341–348. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0058>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p><b>Панасюк Александр Львович</b> — доктор технических наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7 Tel.: +7-499-246-76-38 E-mail: alpanasyuk@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-5502-7951">https://orcid.org/0000-0002-5502-7951</a></p>	<p><b>Alexander L. Panasyuk</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Deputy Director, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo Str., Moscow, Russia, 119021 Tel.: +7-499-246-76-38 E-mail: alpanasyuk@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-5502-7951">https://orcid.org/0000-0002-5502-7951</a></p>
<p><b>Кузьмина Елена Ивановна</b> — кандидат технических наук, заведующая отделом технологии виноградных и плодовых вин, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7 Tel.: +7-499-246-76-38 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-7623-440X">https://orcid.org/0000-0001-7623-440X</a></p>	<p><b>Elena I. Kuzmina</b>, Candidate of Technical Sciences, Head of the Department of Grape and Fruit Wine Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo Str., Moscow, Russia, 119021 Tel.: +7-499-246-76-38 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-7623-440X">https://orcid.org/0000-0001-7623-440X</a></p>
<p><b>Свиридов Дмитрий Александрович</b> — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория технологии виноградных и плодовых вин, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7 Tel.: +7-499-246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8367-3523">https://orcid.org/0000-0001-8367-3523</a></p>	<p><b>Dmitriy A. Sviridov</b>, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Technology of Grape and Fruit Wines, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo Str., Moscow, Russia, 119021 Tel.: +7-499-246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8367-3523">https://orcid.org/0000-0001-8367-3523</a></p>
<p><b>Ганин Михаил Юрьевич</b> — младший научный сотрудник, лаборатория технологии виноградных и плодовых вин, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7 Tel.: +7-499-246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0518-1181">https://orcid.org/0000-0003-0518-1181</a></p>	<p><b>Mikhail Yu. Ganin</b>, Junior Researcher, Laboratory of Technology of Grape and fruit Wines, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo Str., Moscow, Russia, 119021 Tel.: +7-499-246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0518-1181">https://orcid.org/0000-0003-0518-1181</a></p>
<p><b>Критерии авторства</b></p> <p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat.</p>	<p><b>Contribution</b></p> <p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
<p><b>Конфликт интересов</b></p> <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p><b>Conflict of interest</b></p> <p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232>

Поступила 22.03.2023

Поступила после рецензирования 14.06.2023

Принята в печать 19.06.2023

© Семенова Е. С., Симоненко Е. С., Симоненко С. В., Зорин С. Н., Петров Н. А., Мазо В. К., 2023

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

Научная статья

Open access

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ МОЛОКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Семенова Е. С.<sup>1</sup>, Симоненко Е. С.<sup>1\*</sup>, Симоненко С. В.<sup>1</sup>, Зорин С. Н.<sup>2</sup>, Петров Н. А.<sup>2</sup>, Мазо В. К.<sup>2</sup><sup>1</sup> Научно-исследовательский институт детского питания – филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, Истра, Московская область, Россия<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

сывороточные белки, гидролизат, ферментный препарат, молекулярно-массовое распределение

**АННОТАЦИЯ**

В связи с высокой распространностью аллергических заболеваний у детей, особенно при переводе на искусственное вскармливание в раннем возрасте, актуальным направлением является разработка молочных и других продуктов питания с пониженной аллергенностью. При этом в России отсутствуют достаточные объемы производства сырья и ингредиентов для создания отечественной специализированной пищевой продукции, включая продукцию, предназначенную для детей. Использование сывороточных белков молока в производстве продуктов детского питания имеет преимущество, поскольку белки молочной сыворотки обладают достаточно высокой переваримостью и биодоступностью: после приема пищевых продуктов на основе сывороточных белков концентрация аминокислот и пептидов в крови резко возрастает уже в течение первого часа. Однако, следует учитывать, что аллергия к белкам коровьего молока является наиболее распространенным проявлением пищевой аллергии, особенно часто выявляемым в раннем постнатальном возрасте. Технологические подходы к снижению потенциальной аллергенности белкового компонента должны занять ведущее место в системе контроля и обеспечения безопасности детской молочной пищевой продукции. Наиболее эффективным и широко применяемым технологическим подходом к снижению потенциальной аллергенности пищевого белка для использования его в составе специализированных пищевых продуктов для питания лиц, страдающих пищевой аллергией или входящих в группу риска, является элиминация его антигенных структур. Она проводится путем ферментативного гидролиза, в сочетании с мембранный обработкой получаемого гидролизата. Для получения пептидного модуля с заданными физико-химическими параметрами требуется соответствующий выбор исходного белка, использование различных ферментов и варыивание такими технологическими параметрами, как уровень pH, температура, продолжительность экспозиции, фермент-субстратное соотношение и другие.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Работа выполнена на базе НИИ детского питания – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в рамках обеспечения условий выполнения работ гранта в форме субсидии на обеспечение проведения российскими научными организациями и (или) образовательными организациями высшего образования совместно с иностранными организациями научных исследований в рамках обеспечения реализации программы двух- и многостороннего научно-технологического взаимодействия, по соглашению между ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» и Минобрнауки России от 02 октября 2022 года № 075-15-2022-1211 по теме: «Разработка технологии получения специализированных молочных продуктов с пониженной аллергенностью для детского питания на основе гидролизатов молочных белков».

Received 22.03.2023

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

Accepted in revised 14.06.2023

Original scientific article

Accepted for publication 19.06.2023

Open access

© Semenova E. S., Simonenko E. S., Simonenko S. V., Zorin S. N., Petrov N. A., Mazo V. K., 2023

# STUDY OF PARAMETERS OF MILK PROTEINS HYDROLYSIS WITH THE HELP OF RUSSIAN-PRODUCED ENZYME PREPARATIONS

Elena S. Semenova<sup>1</sup>, Elena S. Simonenko<sup>1</sup>, Sergei V. Simonenko<sup>1</sup>,  
Sergei N. Zorin<sup>2</sup>, Nikita A. Petrov<sup>2</sup>, Vladimir K. Mazo<sup>2</sup>.<sup>1</sup> Scientific Research Institute of Baby Food – a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Istra, Moscow region, Russia<sup>2</sup> Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia**KEY WORDS:**

whey proteins, hydrolyzate, enzyme preparation, molecular weight distribution

**ABSTRACT**

Due to the high prevalence of allergic diseases among the children, especially when transitioning a child to bottle feeding at an early age, the development of dairy and other food products with reduced allergenicity is of high relevance and true importance nowadays. Meanwhile, Russia still lacks sufficient production of raw materials and ingredients to create home-produced specialized food, including designated babies' and children's food. The use

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Семенова, Е. С., Симоненко, Е. С., Симоненко, С. В., Зорин, С. Н., Петров, Н. А., Мазо, В. К. (2023). Исследование процесса гидролиза белков молока с использованием ферментных препаратов отечественного производства. Пищевые системы, 6(2), 224–232. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232>

FOR CITATION: Semenova, E. S., Simonenko, E. S., Simonenko, S. V., Zorin, S. N., Petrov, N. A., Mazo, V. K. (2023). Study of the process of hydrolysis of milk proteins using enzyme preparations of domestic production. Food Systems, 6(2), 224–232. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-224-232>

of whey milk proteins for the production of baby food has its advantage, as whey proteins feature pretty high digestibility and bioavailability: after eating the food based on whey proteins, the concentration of amino acids and peptides in the blood increases dramatically already within the first hour. However, it should be kept in mind that allergy to cow's milk proteins is the most common symptom of food allergy, which is particularly often diagnosed in early postnatal age. Technological approaches to reduction of the potential allergenicity of the protein component shall take a leading place in the system of food control and food safety of children's dairy products. The most efficient and widely used technological approach to reduce the potential allergenicity of food protein is the elimination of its antigenic structures, which approach makes it possible to include this protein into the composition of specialized food, which is intended for the people who suffer from food allergies or for the people exposed to the allergy risk. The allergenicity is reduced by means of enzymatic hydrolysis in combination with membrane processing of the obtained hydrolysate. To obtain a peptide module with pre-determined physical and chemical parameters, an appropriate selection of initial protein, application of various enzymes, and ranging of technological parameters like pH, temperature, exposure time, enzyme-substrate ratio and other parameters is required.

**FUNDING:** The research was conducted at the Research Institute of Baby Nutrition – a branch of the “Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology” within the framework of ensuring the conditions for performing the work of a grant in the form of a subsidy for: ensuring that Russian scientific organizations and (or) educational organizations conduct higher education together with foreign organizations of scientific research as part of providing implementation of the program of bilateral and multilateral scientific and technological cooperation, according to the contract between the Federal State Budgetary Institution “Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology” and the Ministry of Education and Science of Russia dated October 02, 2022 No. 075–15–2022–1211 on the topic: “Development of a technology for obtaining specialized dairy products with reduced allergenicity for baby food based on milk protein hydrolysates”.

## 1. Введение

Разработка молочных и других пищевых продуктов с пониженной аллергенностью является актуальным направлением пищевой технологии, и его развитие способствует совершенствованию качества и безопасности продуктов питания. К сожалению, в настоящее время отечественной пищевой промышленностью практически не производятся молочные продукты, предназначенные для питания детей, страдающих аллергией к белкам коровьего молока [1]. В России отсутствуют достаточные объемы производства сырья и ингредиентов для создания отечественной специализированной пищевой продукции, разработанной в том числе для детского питания. Импортозависимость приводит к удорожанию детских специализированных пищевых продуктов, производимых на территории РФ из привозного сырья, в среднем на 30%. Это связано с импортными пошлинами, которые составляют от 10 до 15%. Такое положение в связи с санкционными действиями в отношении России может составлять угрозу продовольственной безопасности населения нашей страны [2].

Вышеизложенное предопределяет необходимость безотлагательного расширения базы отечественного сырья и ингредиентов для производства молочной продукции, широко используемой в питании детского населения.

Общее содержание белков в молоке составляет от 2,9 до 4,0%, где основная часть белков молока представлена казеинами (78–85%), содержание сывороточных белков составляет от 15 до 22%. Использование сывороточных белков молока для производства продуктов детского питания имеет определенное преимущество, поскольку по своему аминокислотному составу (содержанию и соотношению незаменимых аминокислот) они превосходят казеины и многие другие пищевые белки. Белки молочной сыворотки обладают высокой переваримостью и биодоступностью: после приема пищевых продуктов на основе сывороточных белков концентрация аминокислот и пептидов в крови резко возрастает уже в течение первого часа [3]. Следует, однако, учитывать, что аллергия к белкам коровьего молока является наиболее распространенным проявлением пищевой аллергии, особенно часто выявляемым в раннем постнатальном возрасте [4]. В сывороточной фракции белков коровьего молока идентифицировано свыше 30 белковых антигенов, которые являются источником антигенной стимуляции и потенциальной аллергизации детского организма. Очевидна медико-социальная значимость проблемы, связанной с возможностями снижения проявлений этого заболевания

путем включения в составы специализированных пищевых продуктов для питания детей белковых компонентов с пониженной сенсибилизирующей активностью. Технологические подходы к снижению потенциальной аллергенности белкового компонента должны занять ведущее место в системе контроля и обеспечения безопасности детской молочной пищевой продукции.

Способность пищевого белка вызывать сенсибилизацию генетически предрасположенного к аллергическим проявлениям индивида зависит, во-первых, от наличия в его составе структур (эпитопов, аллергенных детерминант), способных вызвать специфическую активацию Th2-хелперов и выработку IgE антител. Во-вторых, пищевой белок может проявить свойства аллергена при нарушенном защитном барьере желудочно-кишечного тракта и при возможности контакта с иммунокомpetентными клетками организма. Риск проявления пищевым белком аллергенных свойств потенциально возрастает при его повышенной устойчивости к протеолизу в желудочно-кишечном тракте [5].

Антигенные структуры белка, распознаваемые иммунокомpetентными клетками и антителами, могут быть нескольких типов: «последовательные» эпитопы — короткие фрагменты пептидной цепи; «петлевые» эпитопы — также короткие фрагменты, но жестко стабилизованные дисульфидными мостиками; и «конформационные» эпитопы, образованные стерически сближенными в нативном белке аминокислотными остатками, принадлежащими к удаленным друг от друга участкам аминокислотной последовательности. Короткие фрагменты пищевых белков не иммуногенны и, соответственно, не аллергены. В результате ферментативного гидролиза первичная структура белка разрушается, тем не менее протеолиз (даже при использовании сложных полиферментных систем) практически не идет до конца (образования смеси свободных аминокислот). В результате этого в ферментативных гидролизатах, не подвергнутых дальнейшему фракционированию, остаются некоторые нерасщепленные антигенные структуры. Наиболее распространенным и эффективным подходом к снижению потенциальной аллергенности пищевого белка является элиминация его антигенных структур путем ферментативного гидролиза с последующей мембранный обработкой полученного гидролизата. Данный способ позволяет использовать гидролизат составе специализированных пищевых продуктов для людей, страдающих пищевой аллергией или находящихся в группе

риска. В результате удается получать пептидные смеси, в которых содержание антигенных структур снижено на несколько порядков величины по сравнению с исходным белком и с его ферментативным гидролизом [6–8]. Для получения пептидного модуля с заданными физико-химическими параметрами требуется выбор исходного белка, применение ферментов и изменение технологических параметров: уровня pH, температуры, времени экспозиции, фермент-субстратного соотношения и так далее. [9,10]. В качестве исходных субстратов для проведения протеолиза могут использоваться как инстантные индивидуальные белки, так и их смеси в виде концентратов или изолятов [11,12]. Целевое назначение использования ферментолизата белка для пищевых целей определяет диапазон ферментов, которые могут применяться для производства гидролизатов пищевого белка.

На рынке присутствуют пищевые ферментные препараты из животных, растительных, микробных (бактериальных и грибковых) источников [13,14]. Ферменты животного происхождения, такие как трипсин, химотрипсин, пепсин и эластаза поджелудочной железы могут быть эффективно использованы для получения пищевых белковых ферментолизатов. Специфичность этих ферментов тщательно изучена: выявлена определенная корреляция между высвобождением пептидов из белков молока при их переваривании в организме человека и имитацией *in vitro* переваривания в желудочно-кишечном тракте [15]. Достижение приемлемого органолептического вкуса гидролизата является немаловажной технологической задачей, поскольку известно, что по мере деструкции пептидных связей в продуктах гидролиза появляется горький вкус. Это может быть обусловлено наличием гидрофобных пептидов, молекулярные массы которых находятся в диапазоне 0,36–2,10 кДа и содержат концевые аминогруппы изолейцина, тирозина, фенилаланина и триптофана [16,17,18]. Для уменьшения горького вкуса предложен ряд методических подходов, к числу которых относят хроматографическую очистку на гидрофобных сорбентах (например, на активированном угле). Кроме этого, удалить горечь из пептидных смесей можно более глубоким гидролизом горьких пептидов [19–20], что, однако, может привести к снижению биологической ценности таких гидролизатов ввиду потери незаменимых аминокислот.

Для устранения горького вкуса гидролизатов белков перспективно использование нанофильтрации, позволяющей удалить из продукта соли, свободные аминокислоты и значительное количество коротких пептидов, придающих гидролизатам горечь [21].

Цель работы: получение ферментативных гидролизатов сывороточных белков коровьего молока и их ультрафильтратов с высоким содержанием низкомолекулярных пептидных фракций.

## 2. Объекты и методы

Объектом исследования в качестве белкового субстрата служил концентрат сывороточных белков коровьего молока (содержание белка 80,2%). В работе были использованы 2 образца ферментов: трипсин (ферментный препарат, получаемый из поджелудочной железы свиней, с активностью 2,31 пе/г (определен по Кунитцу М.)) [22] и протозим (ферментный препарат, получаемый путем направленной ферментации селекционного штамма *Bacillus licheniformis* с последующей очисткой и концентрированием, с активностью 50000 ед/г, по методу ФОЛП). За единицу протеолитической активности ФОЛП принято такое количество фермента, которое катализирует гидролиз 1 г казеина при температуре

40 °C, уровне pH 10,5 и времени гидролиза 1 ч в соответствии с ГОСТ 20264.2–88<sup>1</sup>.

### 2.1. Условия гидролиза

Ферментативный гидролиз проводился в водяной термостатируемой бане с постоянным перемешиванием и поддержанием pH 1,0 М раствором NaOH. По окончании гидролиза полученный продукт инактивировался (75 °C) в течение 15 минут, охлаждался до комнатной температуры и центрифугировался на центрифуге Beckman J-6B (Beckman Coulter, США) при 3500 об/мин в течение 30 минут со сбором супернатанта. Супернатант в дальнейшем подвергался ультрафильтрации в тангенциальном потоке (установка для микро- и ультрафильтрации на базе фильтродержателя АСФ-018, («Владисарт», Россия)) через мембранию с размером пор 10 кД (на основе полиэфирсульфона) со сбором низкомолекулярной фракции.

Подбор оптимальных условий гидролиза включал определение влияния на процесс ферментолиза времени реакции, значения pH, соотношения фермент/субстрат (по сухим веществам), температуры.

### 2.2. Подготовка проб гидролизата КСБ для хроматографии

Образец гидролизата белка объемом 5,0 мл помещают в полиэтиленовую пробирку объемом 2,0 мл, после чего проводится центрифugирование на центрифуге IKA G-L (IKA, Германия) в течение 15 минут при 15 000 об/мин. Аликвоту прозрачной части фильтруют через фильтрующую шприцевую насадку с размером пор 0,22 мкм в стеклянnyй флакон.

### 2.3. Методика анализа молекулярно-массового распределения

Молекулярно-массовое распределение получаемых гидролизатов оценивали методом эксклюзионной жидкостной хроматографии высокого давления на колонке «Суперроза 12» (1,0\*30 см) (Amersham, Швеция), предварительно откалиброванной по стандартным глобуллярным водорасторимым белкам известной молекулярной массы.

При проведении исследований был использован хроматограф жидкостной изократический высокого давления со спектрофотометрическим проточным детектором УФ 132 (НПО «ХИМАВТОМАТИКА», Россия) с длиной волны 280 нм. Скорость элюирования составляла 0,40 мл/мин, объем образца, инжектируемого в колонку, — 100 мкл. В качестве элюента использовался 0,2 М раствор NaCl с добавлением азота натрия. Хроматограммы делались в трех репликах и интегрировались весовым методом в диапазонах молекулярных масс, рассчитанных по калибровочной кривой колонки.

Определялся хроматографический профиль анализируемого ферментолизата и выявлялось процентное содержание белково-пептидного материала в заданных диапазонах молекулярных масс относительно всей белковой пептидной смеси.

### 2.4. Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics 20. Вычисляли среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего (m). Данные представлены как M±m. Статистические различия между группами оценивали с использованием критерииев Стьюдента и Манна-Уитни. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

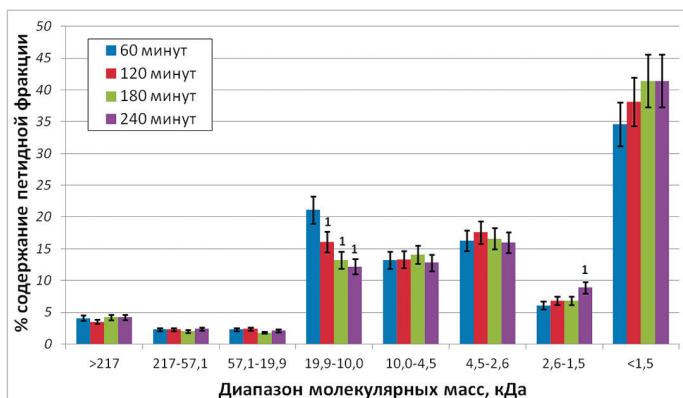
<sup>1</sup> ГОСТ 20264.2–88. Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности. Москва: Государственный комитет СССР по стандартам, 1988. — 16 с.

### 3. Результаты и обсуждение

#### 3.1. Получение и характеристика ферментативных гидролизатов КСБ

На Рисунках 1–8 приведены гистограммы, характеризующие профили молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе ферментативных гидролизатов КСБ, полученных при различных условиях протеолиза КСБ трипсином и протозимом. В Таблицах 1–4 приведены количественные значения процентного соотношения пептидных фракций в составах полученных гидролизатов.

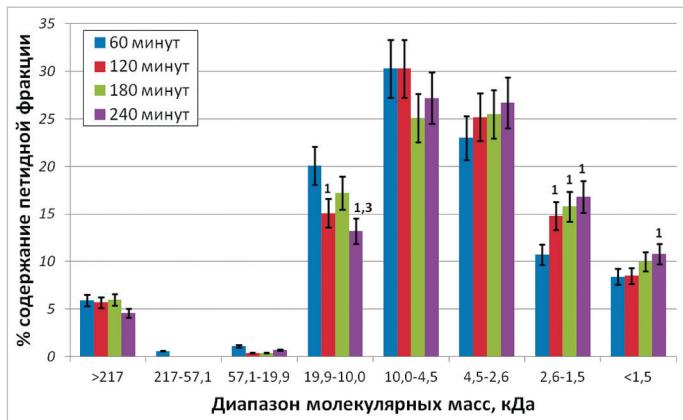
Продолжительность протеолиза белков сыворотки коровьего молока варьировалась от 60 минут до 240 минут (Рисунки 1 и 2). Результаты, представленные в Таблице 1, свидетельствуют, что максимальное суммарное содержание «низкомолекулярных» пептидных фракций (менее 10 кДа) в составе гидролизатов было достигнуто при продолжительности протеолиза КСБ трипсином и протозимом в течение 2–3 часов. Дальнейшее увеличение продолжительности протеолиза не приводило к повышению суммарного содержания «низкомолекулярных» пептидных фракций в составе гидролизатов КСБ.



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с T=60 мин, (p<0.05).

Рисунок 1. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от времени протеолиза

Figure 1. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on duration of proteolysis



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с T=60 мин, 3 — различия достоверны по сравнению с T= 180 мин, (p<0.05).

Рисунок 2. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от времени протеолиза

Figure 2. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on duration of proteolysis

Таблица 1. Влияние продолжительности протеолиза на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 1. Effect of duration of proteolysis on the total content of low molecular weight peptide fractions in hydrolysates

Продолжительность протеолиза, мин	Суммарное содержание фракций менее 10 кДа (%)	Протозимный гидролизат
60	70,2 ± 7,0	72,4 ± 7,2
120	75,8 ± 7,6	78,8 ± 7,9
180	78,9 ± 7,9	76,4 ± 7,6
240	79,1 ± 7,9	81,5 ± 8,2

Примечание: достоверных различий не выявлено.

Увеличение соотношения протеолитический фермент/белковый субстрат может обеспечивать более интенсивное протекание ферментативной реакции (особенно на начальной стадии протеолиза). Однако при масштабировании процесса для промышленного производства гидролизатов такое увеличение расхода фермента достаточно затратно. В нашем исследовании были использованы различные фермент-субстратные соотношения трипсин/КСБ (Рисунок 3) и протозим/КСБ (Рисунок 4). Суммарное содержание низкомолекулярных

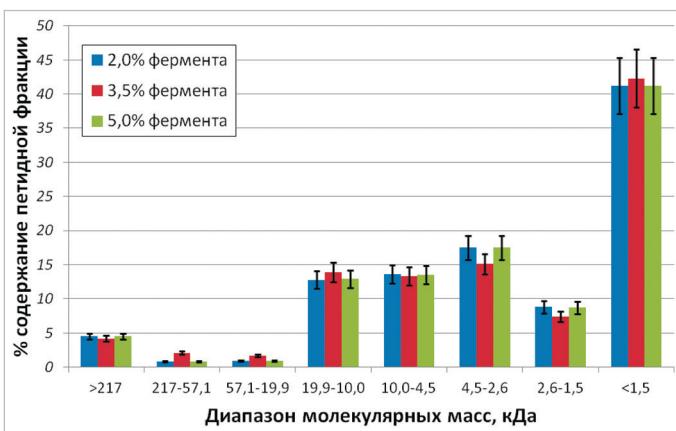
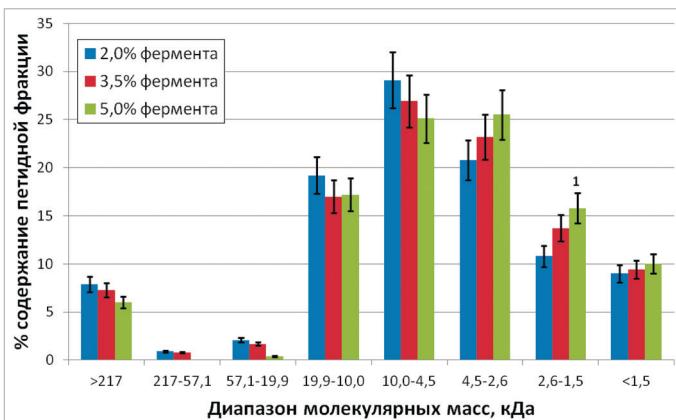


Рисунок 3. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от концентрации фермента

Figure 3. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on the enzyme concentration



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с 2,0% фермента, (p<0.05).

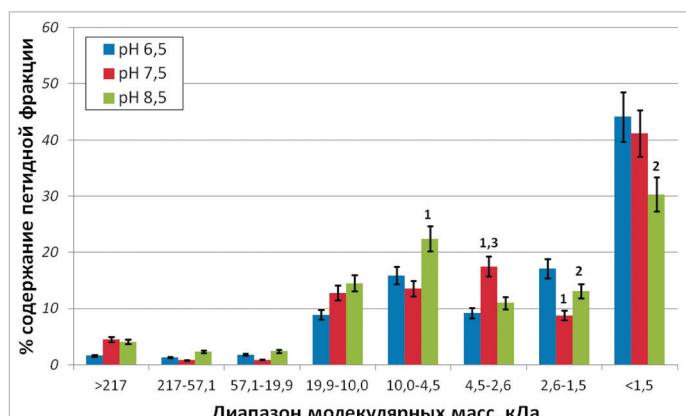
Рисунок 4. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от концентрации фермента

Figure 4. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on the enzyme concentration

пептидных фракций в растворимых образцах трипсиновых гидролизатов практически не зависело от использованных соотношений фермент/субстрат (Таблица 2). Однако при использовании 2% и 3,5% растворов протозима эффективность протеолиза была крайне низка, что приводило к образованию значительного количества нерастворимого осадка и к низкому выходу целевого продукта.

Интервалы значений pH реакционной среды варьировали при гидролизе трипсином от 6,5 до 8,5 (Рисунок 5) и при гидролизе протозимом от 7,2 до 8,6 (Рисунок 6). Полученные результаты (Таблица 3) свидетельствовали о том, что при протеолизе КСБ трипсином и протозимом оптимальные значения pH реакционной среды составляли соответственно 7,4–7,6 и 8,4–8,6.

В интервале использованных температурных режимов (от 37 °C до 58 °C при протеолизе трипсином (Рисунок 7) и от 50 °C до 70 °C при протеолизе протозимом (Рисунок 8)) оптимальные значения температур растворов составили соответственно 50 °C и 60 °C (Таблица 4).



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с pH 6,5, 2 — различия достоверны по сравнению с pH 7,5, 3 — различия достоверны по сравнению с pH 8,5, ( $p \leq 0,05$ )

Рисунок 5. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от pH реакционной среды

Figure 5. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on the pH of the reaction medium

Таблица 2. Влияние соотношения фермент/субстрат на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 2. Effect of the enzyme-to-substrate ratio on the total content of low molecular weight peptide fractions in the hydrolysates

Фермент/ КСБКМ (весовое соотношение)	Суммарное содержание фракций менее 10 кДа (%)	
	Трипсиновый гидролизат	Протозимный гидролизат
2,0	81,1 ± 8,1	69,7 ± 7,0
3,5	78,1 ± 7,8	73,2 ± 7,3
5,0	80,9 ± 8,1	76,4 ± 7,6

Примечание: достоверных различия не выявлено.

Таблица 3. Влияние pH реакционной смеси на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 3. Effect of the pH of the reaction mixture on the total content of low molecular weight peptide fractions in hydrolysates

рН	Суммарное содержание фракций менее 10 кДа		
	Трипсиновый гидролизат	рН	Протозимный гидролизат
6,5	86,3 ± 8,6	7,2	80,5 ± 8,1
7,5	81,1 ± 8,1	7,9	82,2 ± 8,2
8,5	76,8 ± 7,7	8,5	76,4 ± 7,6

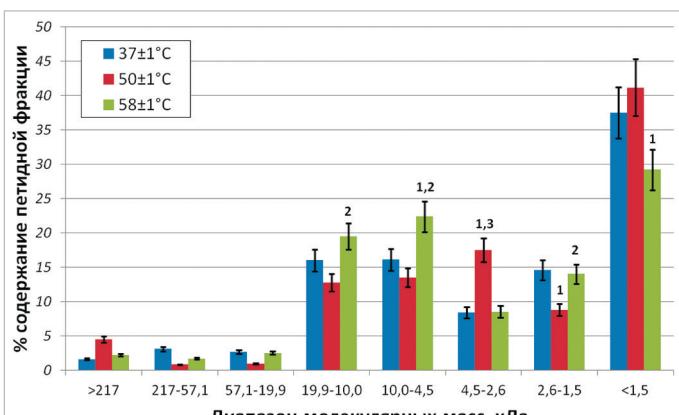
Примечание: достоверных различия не выявлено.

Таблица 4. Влияние температуры реакционной смеси на суммарное содержание низкомолекулярных пептидных фракций в гидролизатах

Table 4. Effect of temperature of the reaction mixture on the total content of low molecular weight peptide fractions in the hydrolysates

t°C	Суммарное содержание фракций менее 10 кДа		
	Трипсиновый гидролизат	t°C	Протозимный гидролизат
37	76,6 ± 7,7	50	64,2 ± 6,4
50	81,0 ± 8,1	60	76,4 ± 7,6
58	74,1 ± 7,4	70	64,6 ± 6,5

Примечание: достоверных различия не выявлено.



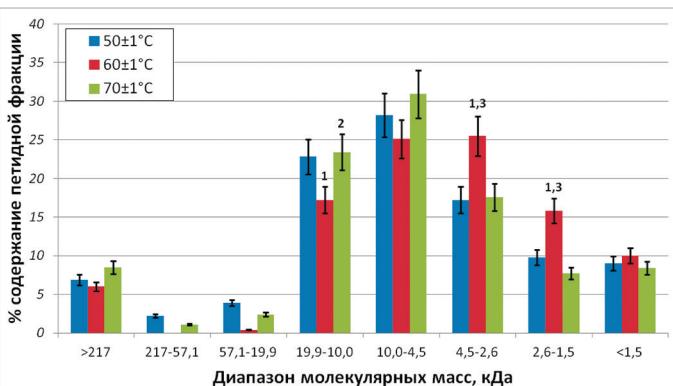
Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с t = 37 °C, (p ≤ 0,05).

Рисунок 6. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от pH реакционной среды

Figure 6. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on the pH of the reaction medium

Рисунок 7. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием трипсина, от температурного режима

Figure 7. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of trypsin, on the temperature mode



Примечание: 1 — различия достоверны по сравнению с  $t = 50^{\circ}\text{C}$ , 2 — различия достоверны по сравнению с  $t = 60^{\circ}\text{C}$ , 3 — различия достоверны по сравнению с  $t = 70^{\circ}\text{C}$ , ( $p \leq 0,05$ ).

**Рисунок 8. Зависимость молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизата КСБ, полученного с использованием протозима, от температурного режима**

Figure 8. Dependence of the molecular weight distribution of peptide fractions in the composition of the WPC hydrolyzate, obtained with the use of protozyme, on the temperature mode

### 3.2. Сравнительная характеристика молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составе гидролизатов КСБ и их ультрафильтратов

Показатель, количественно характеризующий суммарное содержание «низкомолекулярных» пептидных фракций в составе гидролизатов КСБ (менее 10 кДа), предложен и использован в нашем исследовании как условный «критерий для оценки потенциальной иммуногенности и аллергизирующей активности» пептидных модулей, получаемых при протеолизе КСБ и/или их последующей ультрафильтрации. Короткоцепочечные пептиды и свободные аминокислоты не способны взаимодействовать с антиген-презентирующими Т-клетками и индуцировать реакцию дегрануляции клеток мишени [23]. Чтобы привести к сближению в мембране клетки мишени не менее чем двух молекул IgE, аллерген должен быть поливалентным, то есть содержать несколько антигенных детерминант (эпигопов). Соответственно, короткоцепочечные фрагменты пищевых белков не иммуногенные и потенциально не способны сенсибилизировать организм [5]. Чем выше содержание низкомолекулярных пептидов (менее 10 кДа) и свободных аминокислот в полученных гидролизатах КСБ, тем значительнее снижена их иммуногенность и потенциальная аллергенность.

Как уже было отмечено в разделе «Введение», в ферментативных гидролизатах, не подвергнутых дальнейшему фракционированию, неизбежно остаются высокомолекулярные пептидные фрагменты. В соответствии с результатами первого этапа исследований были получены опытные партии двух ферментативных гидролизатов. Протеолиз КСБ трипсином вели в течение 3 часов при температуре  $50^{\circ}\text{C}$ , pH 7,4–7,6, при соотношении трипсин/КСБ, равном 1:50. Продолжительность протеолиза КСБ протозимом составила также 3 часа, температура —  $60^{\circ}\text{C}$ , pH — 8,4–8,6, соотношение протозим /КСБ равно 1:20.

Опытные партии двух гидролизатов КСБ были подвергнуты ультрафильтрации. Содержание высокомолекулярных пептидных фракций (выше 10 кДа) в составе трипсинового гидролизата КСБ (%) и его ультрафильтрата составило соответственно 10,1% и 2,0%. Аналогичные показатели для гидролизата, полученного при использовании протозима и его ультрафильтрата, составили соответственно 16,2%

и 4,6%. Таким образом, содержание высокомолекулярных пептидных фракций при ультрафильтрации снизилось в 3,5–5,0 раз.

### 3.3 Направления будущих исследований

Клиническим исследованиям эффективности специализированной пищевой продукции для профилактики и/или диетической коррекции пищевой аллергии должна предшествовать доклиническая экспериментальная оценка потенциальной аллергенности пептидных модулей, вводимых в состав этой продукции [24,25]. Результаты нашей работы представляют один из этапов такого доклинического исследования, а именно количественную оценку молекулярно-массового распределения пептидных фракций в составах модулей, полученных в результате ферментативного гидролиза КСБ и последующей ультрафильтрации. Полученные результаты могут быть использованы при масштабировании процесса получения пептидных модулей для включения в качестве ингредиентов в составы специализированных продуктов. Тем не менее авторы работы отмечают, что для корректной доклинической оценки безопасности и потенциальной эффективности разрабатываемого специализированного пищевого продукта (с учетом его целевого назначения) определения молекулярно-массового распределения пептидных фракций в его составе недостаточно [26]. Короткоцепочечные пептиды, связываясь с высокомолекулярными ингредиентами в составе пищевых продуктов, а также с другими пищевыми и эндогенными веществами в желудочно-кишечном тракте, или, образуя комплексы с сывороточными белками крови, могут проявлять иммуногенные свойства, потенциально способные вызывать аллергические реакции [27]. Необходимым дополнительным и высокоинформативным показателем снижения потенциальной аллергенности гидролизата является степень сохранности антигенных свойств исходного белка (остаточная антигенностt), определяемая иммунохимическими методами. Широко используемые в научных исследованиях и в практической работе методы непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в различных модификациях позволяют надежно определять остаточные количества антигенов белков в составе их ферментативных гидролизатов. Из анализа научных статей о проблемах пищевой аллергии следует рекомендация использования низкоантigenных пищевых продуктов в качестве дополнительного источника питания для детей, имеющих легкую форму аллергии, а также для тех, кто входит в группу риска и испытывает недостаток материнского молока [24,28,29]. Таким образом, ближайшим продолжением проведенных исследований должны стать иммунохимические определения антигенностt получаемых гидролизатов и пептидных модулей.

### 4. Выводы

Количественно охарактеризовано молекулярно-массовое распределение пептидных фракций гидролизатов КСБ, полученных при варьировании условий их протеолиза ферментными препаратами: трипсином и протозимом. Экспериментально обоснованы режимы протеолиза КСБ этими ферментными препаратами отечественного производства для получения гидролизатов с заданным молекулярно-массовым распределением пептидных фракций в их составах. В лабораторных условиях ультрафильтрацией ферментативных гидролизатов получены пептидные модули с повышенным содержанием низкомолекулярных пептидных фракций (менее 10 кДа).

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Харитонов, В. Д., Будрик, В. Г., Агаркова, Е. Ю., Ботина, С. Г., Березкина, К. А., Кручинин, А. Г., Пономарев, А. Н. и др. (2012). К вопросу о перспективных направлениях борьбы с аллергией. *Техника и технология пищевых производств*, 4(27), 3–6.
2. Симоненко, С. В., Новокшанова, А. Л., Георгиева, О. В., Зорин, С. Н., Симоненко, Е. С. (2022). Современные тенденции отечественной индустрии детского питания в производстве заменителей женского молока. *Молочнохозяйственный вестник*, 2(46), 191–204. [https://doi.org/10.52231/2225-4269\\_2021\\_3\\_191](https://doi.org/10.52231/2225-4269_2021_3_191)
3. Гаврилова, Н. Б., Петрова, Е. И. (2013). Технология продукта для спортивного питания. *Молочная промышленность*, 9, 82–83.
4. Caffarelli, C., Baldi, F., Bendandi, B., Calzone, L., Marani, M., Pasquinelli, P. (2010). Cow's milk protein allergy in children: a practical Guide. *Italian Journal of Pediatrics*, 36, Article 5. <https://doi.org/10.1186/1824-7288-36-5>
5. Ногаллер, А. М., Гущин, И. С., Мазо, В. К., Гмошинский, И. В. (2008). Пищевая аллергия и непереносимость пищевых продуктов. М.: Медицина, 2008.
6. Патент № 2428047. Способ получения гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза и гидролизат сывороточных белков с высокой степенью гидролиза. Круглик В. И., Зорин С. Н., Гмошинский И. В., Никитина Н. Е., Volkova И. Н., Ревякина Н. В. и др. Опубл. 10.09.2011. Бюлл. № 25.
7. Патент 2529707. Способ производства гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза и низкой остаточной антигенностью. Свириденко Ю. Я., Абрамов Д. В., Мятконосов Д. С., Тутельян В. А., Мазо В. К., Зорин С. Н. Опубл. 10.07.2014. Бюл. № 19.
8. Остроумов, Л. А., Бабич, О. О., Милентьева, И. С. (2013). Оценка состава и физико-химических свойств ферментативных гидролизатов казеина. *Вестник ВСГУТУ*, 1(40), 82–85.
9. van der Ven, C., Gruppen, H., de Bont, D. B. A., Voragen, A. G. J. (2002). Optimisation of the angiotensin converting enzyme inhibition by whey protein hydrolysates using response surface methodology. *International Dairy Journal*, 12(10), 813–820. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(02\)00077-8](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(02)00077-8)
10. del Mar Contreras, M., Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Martín-Álvarez, P. J., & Recio, I. (2011). Production of antioxidant hydrolysates from a whey protein concentrate with thermolysin: Optimization by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.017>
11. Agarwal, S., Beausire, R. L. W., Patel, S., Patel, H. (2015). Innovative uses of milk protein concentrates in product development. *Journal of Food Science*, 80(S1), A23–A29. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12807>
12. 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(7), 1193–1208. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.758625>
13. Tavano, O. L., Berenguer-Murcia, A., Secundo, F., Fernandez-Lafuente, R. (2018). Biotechnological applications of proteases in food technology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 412–436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12326>
14. Tavano, O. L. (2013). Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 90, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011>
15. Sanchón, J., Fernández-Tomé, S., Miralles, B., Hernández-Ledesma, B., Tomé, D., Gaudichon, C. et al. (2018). Protein degradation and peptide release from milk proteins in human jejunum. Comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chemistry*, 239, 486–494. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.134>
16. Maehashi, K., Huang, L. (2009). Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(10), 1661–1671. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8755-9>
17. Upadhyaya, J., Pydi, S. P., Singh, N., Aluko, R. E., Chelikani, P. (2010). Bitter taste receptor T<sub>2</sub>R<sub>1</sub> is activated by dipeptides and tripeptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 398(2), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.097>
18. Duffuler, P., Bhullar, K. S., de Campos Zani, S. C., Wu, J. (2022). Bioactive peptides: From basic research to clinical trials and commercialization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3585–3595. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06289>
19. dos Santos Aguilar, J. G., Sato, H. H. (2018). Microbial proteases: Production and application in obtaining protein hydrolysates. *Food Research International*, 103, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.044>
20. Meinschmidt, P., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2016). Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.026>
21. Зорин, С. Н. (2019). Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания. *Вопросы питания*, 88(3), 23–31. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026>
22. Kunitz, M. (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. *Journal of General Physiology*, 30(4), 291–310. <https://doi.org/10.1085/jgp.30.4.291>
23. Kiewiet, M. B. G., Gros, M., van Neerven, R. J. J., Faas, M. M., de Vos, P. (2015). Immunomodulating properties of protein hydrolysates for application in cow's milk allergy. *Pediatric Allergy and Immunology*, 26(3), 206–217. <https://doi.org/10.1111/pai.12354>
24. Vandenplas, Y., Bhatia, J., Shamir, R., Agostoni, C., Turck, D., Staiano, A. et al. (2014). Hydrolyzed formulas for allergy prevention. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 58(5), 549–552. <https://doi.org/10.1097/MPG.00000000000000318>
25. Громов, Д. А., Борисова, А. В., Бахарев, В. В. (2021). Пищевые аллергены и способы получения гипоаллергенных пищевых продуктов. *Техника и технология пищевых производств*, 51(2), 232–247. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247>
26. Зорин, С. Н., Петров, Н. А., Борисов, А. Ю. (2019). Ферментолизаты белка молочной сыворотки: получение, физико-химическая и иммunoхимическая характеристика. *Пищевая промышленность*, 4, 41–43. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10020>
27. Chipinda, I., Hettick, J. M., Siegel, P. D. (2011). Hapteneation: Chemical reactivity and protein binding. *Journal of Allergy*, 2011, Article 839682. <https://doi.org/10.1155/2011/839682>
28. Боровик, Т. Э., Макарова, С. Г., Дарчия, С. Н., Гамалеева, А. В. (2010). Роль смесей — гидролизатов белка в профилактике и диетотерапии пищевой аллергии у детей раннего возраста. *Вопросы современной педиатрии*, 9(1), 150–156.
29. Prikhodko, D. V., Krasnoshitanova, A. A. (2023). Using casein and gluten protein fractions to obtain functional ingredients. *Foods and Raw Materials*, 11(2), 223–231. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-569>

## REFERENCES

1. Kharitonov, V. D., Budrik, V. G., Agarkova, E. J., Botina, S. G., Berezhkina, K. A., Kruchinin, A. G., Ponomarev, A. N. et al. (2012). Perspective directions of struggle with allergy. *Food Processing: Techniques and Technology*, 4(27), 3–6. (In Russian)
2. Simonenko, S. V., Novokshanova, A. L., Georgieva, O. V., Zorin, S. N., Simonenko, E. S. (2022). Modern trends in domestic baby nutrition industry of female milk substitute manufacture. *Molochnokhozaystvenny Vestnik*, 2(46), 191–204. [https://doi.org/10.52231/2225-4269.2021\\_3\\_191](https://doi.org/10.52231/2225-4269.2021_3_191) (In Russian)
3. Gavrilova, N. B., Petrova, E. I. (2013). Technology of the product for sports nutrition. *Dairy Industry*, 9, 82–83. (In Russian)
4. Caffarelli, C., Baldi, F., Bendandi, B., Calzone, L., Marani, M., Pasquinelli, P. (2010). Cow's milk protein allergy in children: a practical Guide *Italian Journal of Pediatrics*, 36, Article 5. <https://doi.org/10.1186/1824-7288-36-5>
5. Nogaller, A. M., Guschin, I. S., Mazo, V. K., Gmoshinskiy, I. V. (2008). Food allergies and food intolerance. Moscow: Medicine, 2008. (In Russian)
6. Kruglik V. I., Zorin S. N., Gmoshinskiy, I. V., Nikitina, N. E., Volkova I. N., Revjakina N. V. et al. Method of producing whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis and whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis. Patent RF, no 2428047, 2011. (In Russian)
7. Sviridenko Yu. Ya., Abramov, D. V., Myagkonosov D. S., Tutelyan, V. A., Mazo, V. K., Zorin S. N. Method of producing whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis and low residual antigenicity. Patent RF, no 2529707, 2014. (In Russian)
8. Ostroumov, L. A., Babich, O. O., Milentyeva, I. S. (2013). Evaluation of composition and physicochemical properties of the enzyme casein hydrolysates. *The Bulletin of ESSTUM*, 1(40), 82–85. (In Russian)
9. van der Ven, C., Gruppen, H., de Bont, D. B. A., Voragen, A. G. J. (2002). Optimisation of the angiotensin converting enzyme inhibition by whey protein hydrolysates using response surface methodology. *International Dairy Journal*, 12(10), 813–820. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(02\)00077-8](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(02)00077-8).
10. del Mar Contreras, M., Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Martín-Álvarez, P. J., Recio, I. (2011). Production of antioxidant hydrolysates from a whey protein concentrate with thermolysin: Optimization by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.017>
11. Agarwal, S., Beausire, R. L. W., Patel, S., Patel, H. (2015). Innovative uses of milk protein concentrates in product development. *Journal of Food Science*, 80(S1), A23–A29. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12807>
12. 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(7), 1193–1208. <https://doi.org/10.1080/1048398.2012.758625>
13. Tavano, O. L., Berenguer-Murcia, A., Secundo, F., Fernandez-Lafuente, R. (2018). Biotechnological applications of proteases in food technology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 412–436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12326>
14. Tavano, O. L. (2013). Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 90, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011>
15. Sanchón, J., Fernández-Tomé, S., Miralles, B., Hernández-Ledesma, B., Tomé, D., Gaudichon, C. et al. (2018). Protein degradation and peptide release from milk proteins in human jejunum. Comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chemistry*, 239, 486–494. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.134>
16. Maehashi, K., Huang, L. (2009). Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(10), 1661–1671. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8755-9>
17. Upadhyaya, J., Pydi, S. P., Singh, N., Aluko, R. E., Chelikani, P. (2010). Bitter taste receptor  $T_{2R}$  is activated by dipeptides and tripeptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 398(2), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.097>
18. Duffuler, P., Bhullar, K. S., de Campos Zani, S. C., Wu, J. (2022). Bioactive peptides: From basic research to clinical trials and commercialization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3585–3595. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06289>
19. dos Santos Aguilar, J. G., Sato, H. H. (2018). Microbial proteases: Production and application in obtaining protein hydrolysates. *Food Research International*, 103, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.044>
20. Meinschmidt, P., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2016). Soy protein hydrolysates fermentation: Effect of debittering and degradation of major soy allergens. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.026>
21. Zorin, S. N. (2019). Enzymatic hydrolysates of food proteins for specialized foods for therapeutic and prophylactic nutrition. *Problems of Nutrition*, 88(3), 23–31. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026> (In Russian)
22. unitz, M. (1947). Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. *Journal of General Physiology*, 30(4), 291–310. <https://doi.org/10.1085/jgp.30.4.291>
23. Kiewiet, M. B. G., Gros, M., van Neerven, R. J. J., Faas, M. M., de Vos, P. (2015). Immunomodulating properties of protein hydrolysates for application in cow's milk allergy. *Pediatric Allergy and Immunology*, 26(3), 206–217. <https://doi.org/10.1111/pai.12354>
24. Vandenplas, Y., Bhatia, J., Shamir, R., Agostoni, C., Turck, D., Staiano, A. et al. (2014). Hydrolyzed formulas for allergy prevention. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 58(5), 549–552. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000318>
25. Gromov, D. A., Borisova, A. V., Bakharev, V. V. (2021). Food allergens and methods for producing hypoallergenic foods. *Food Processing: Techniques and Technology*, 51(2), 232–247. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247> (In Russian)
26. Zorin, S. N., Petrov, N. A., Borisov, A. Yu. (2019). Enzymatic hydrolysates of whey protein: preparation, physic-chemical and immune chemical characterization. *Food Industry*, 4, 41–43. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10020> (In Russian)
27. Chipinda, I., Hettick, J. M., Siegel, P. D. (2011). Hapteneation: Chemical reactivity and protein binding. *Journal of Allergy*, 2011, Article 839682. <https://doi.org/10.1155/2011/839682>
28. Borovik T., Makarova S., Darchiya S., Gamaleyeva A. (2010). The role of compounds based on hydrolyzed protein in prophylaxis and diet treatment of alimentary allergy in infants. *Current Pediatrics*, 9(1), 150–156. (In Russian)
29. Prikhodko, D. V., Krasnoshtanova, A. A. (2023). Using casein and gluten protein fractions to obtain functional ingredients. *Foods and Raw Materials*, 11(2), 223–231 <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-569>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<b>Принадлежность к организации</b>	<b>Affiliation</b>
<p><b>Семенова Елена Сергеевна</b> — младший научный сотрудник, лаборатория опытно-экспериментальных технологических исследований, Научно-исследовательский институт детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 143500, Московская область, Истра, ул. Московская, 48 Тел.: +7-498-313-03-96 E-mail: lab6@niidp.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-3848-7478">http://orcid.org/0000-0003-3848-7478</a></p> <p><b>Симоненко Елена Сергеевна</b> — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, лаборатория технологий продуктов питания детей и дошкольного и школьного возраста Научно-исследовательский институт детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 143500, Московская область, Истра, ул. Московская, 48 Тел.: +7-498-313-03-96 E-mail: nir@niidp.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-2878-8069">http://orcid.org/0000-0002-2878-8069</a></p> <p>* автор для контактов</p>	<p><b>Elena S. Semenova</b>, Junior Researcher, Laboratory of Experimental Technological Research, Scientific Research Institute of Baby Food — a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 48, Moskovskaya str., Moscow region, 143500, Istra, Russia Tel.: +7-498-313-03-96 E-mail: lab6@niidp.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0003-3848-7478">http://orcid.org/0000-0003-3848-7478</a></p> <p><b>Elena S. Simoneko</b>, Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Laboratory of Food Technologies for Children and Preschool and School Age, Scientific Research Institute of Baby Food — a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 48, Moskovskaya str., Moscow region, 143500, Istra, Russia Tel.: +7-498-313-03-96 E-mail: nir@niidp.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-2878-8069">http://orcid.org/0000-0002-2878-8069</a></p> <p>* corresponding author</p>
<p><b>Симоненко Сергей Владимирович</b> — доктор технических наук, директор, Научно-исследовательский институт детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 143500, Московская область, Истра, ул. Московская, 48 Тел.: +7-498-313-03-96 E-mail: dir@niidp.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-6999-5048">http://orcid.org/0000-0002-6999-5048</a></p> <p><b>Зорин Сергей Николаевич</b> — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Тел.: +7-495-698-53-71 E-mail: zorin@ion.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2689-6098">https://orcid.org/0000-0003-2689-6098</a></p> <p><b>Петров Никита Александрович</b> — инженер, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Тел.: +7-903-794-87-14 E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-9755-6002">https://orcid.org/0000-0001-9755-6002</a></p> <p><b>Мазо Владимир Кимович</b> — доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Тел.: +7-495-698-53-71 E-mail: mazo@ion.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-3237-7967">https://orcid.org/0000-0002-3237-7967</a></p>	<p><b>Sergey V. Simoneko</b>, Doctor of Technical Sciences, Director, Scientific Research Institute of Baby Food — a branch Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 48, Moskovskaya str., Moscow region, 143500, Istra, Russia Tel.: +7-498-313-03-96 E-mail: dir@niidp.ru ORCID: <a href="http://orcid.org/0000-0002-6999-5048">http://orcid.org/0000-0002-6999-5048</a></p> <p><b>Sergey N. Zorin</b>, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustyinsky proezd, 109240, Moscow, Russia Tel.: +7-495-698-53-71 E-mail: zorin@ion.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-2689-6098">https://orcid.org/0000-0003-2689-6098</a></p> <p><b>Nikita A. Petrov</b>, Engineer, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustyinsky proezd, 109240, Moscow, Russia Tel.: +7-903-794-87-14 E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-9755-6002">https://orcid.org/0000-0001-9755-6002</a></p> <p><b>Vladimir K. Mazo</b>, Doctor of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustyinsky proezd, 109240, Moscow, Russia Tel.: +7-495-698-53-71 E-mail: mazo@ion.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-3237-7967">https://orcid.org/0000-0002-3237-7967</a></p>
<b>Критерии авторства</b>	<b>Contribution</b>
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за plagiat.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
<b>Конфликт интересов</b>	<b>Conflict of interest</b>
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-233-244>

Поступила: 07.04.2023

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

Поступила после рецензирования: 15.06.2023

Обзорная статья

Принята в печать: 19.06.2023

Open access

© Пивненко Т. Н., 2023

# ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПИЩЕВЫХ ВОЛОКОН И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ТЕХНОЛОГИИ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ

Пивненко Т. Н.

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный Университет (Дальрыбвтуз),  
Владивосток, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**пищевые волокна, рыбные  
продукты, клетчатка, хитозан,  
коллаген, функционально-  
технологические свойства**АННОТАЦИЯ**

В представленном обзоре приведены современные научные представления о роли пищевых волокон растительного (клетчатка и гидроколлоиды) и животного (хитозан и коллаген) происхождения в пищевых системах. Основное внимание уделяется их значимости и способам применения в технологии рыбной продукции. Пищевые волокна рассматриваются как важные компоненты рациона питания, обеспечивающие профилактику и регуляцию физического и психического здоровья населения. Использование рыбных продуктов способствует не только обогащению сырья функциональными ингредиентами, но и повышению эффективности переработки исходного сырья, в том числе недоиспользуемых водно-биологических ресурсов. Показано влияние пищевых волокон на реструктуризацию рыбных мышечных систем, способность удерживать воду и жиры, стабилизировать эмульсии, изменять сенсорные характеристики, увеличивать выход готовой продукции, а также на сроки ее хранения. Рассмотрены механизмы участия отдельных групп пищевых волокон в физико-химических и биохимических процессах взаимодействия с компонентами рыбного сырья, изучено влияние различных условий обработки на гелеобразование и формирование эмульсий. Приведены факторы, обеспечивающие antimикробное и антиоксидантное действие различных пищевых волокон. Отдельно проанализированы свойства и примеры применения коммерческих препаратов клетчатки из различных источников, выявлено значение молекулярной структуры хитозана и коллагена для обеспечения задаваемых технологических параметров. Сделан вывод о том, что использование пищевых волокон в процессе изготовления рыбной продукции приводит к увеличению экономической эффективности производства и способствует развитию индустрии здорового питания.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию Федерального агентства по рыболовству РФ № 827/2023.

Received 07.04.2023

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

Accepted in revised 15.06.2023

Review article

Accepted for publication 19.06.2023

Open access

© Pivnenko T. N., 2023

# FUNCTIONAL PROPERTIES OF THE DIETARY FIBERS AND THEIR USING IN THE MANUFACTURING TECHNOLOGY OF FISH PRODUCTS

Tatiana N. Pivnenko

Far Eastern State Technical Fisheries University (Dalrybvtuz), Vladivostok, Russia

**KEY WORDS:**dietary fibers, fish products, fiber,  
chitosan, collagen, functional and  
technological properties**ABSTRACT**

This review presents the up-to-date scientific ideas about the role of dietary fibers of plant origin (fiber and hydrocolloids) and animal origin (chitosan and collagen) in the food systems. The main attention is focused on their significance and methods of their using in the manufacturing technology of fish products. Dietary fibers are considered as important components of a diet; the dietary fibers prevent certain disorders and regulate the physical and mental health of the population. Consuming of fish products contributes both to the enrichment of raw materials with functional ingredients, as well as to the increasing in the efficiency of processing of raw materials, including underestimated and underutilized aquatic biological resources. The review shows the influence of dietary fibers on the restructuring of fish muscles systems, their ability to hold water and fats, to stabilize emulsions, to change their sensory characteristics, to increase the yield of the finished food products, and also their ability to influence the shelf life of the finished food product. The mechanisms of involving the certain groups of dietary fibers into the physicochemical and biochemical processes of interaction with the components of fish raw materials are considered; the influence of various conditions of processing on gelation and emulsification is studied. The factors that provide antimicrobial and antioxidant effects of various dietary fibers are given. The properties and examples of using the commercial fiber preparations obtained from various sources are analyzed separately, and the significance of the molecular structure of chitosan and collagen for ensuring the specified technological parameters is considered. It is concluded that using the dietary fiber in the manufacturing process of fish products increases the economic efficiency of production and contributes to the development of the healthy food industry.

**FUNDING:** The article was published as part of the research topic № 827/2023 of the state assignment of the Federal Agency for Fisheries of the Russian Federation.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Пивненко, Т. Н. (2023). Функциональные свойства пищевых волокон и их применение в технологии рыбной продукции. Пищевые системы, 6(2), 233-244. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-233-244>

**FOR CITATION:** Pivnenko, T. N. (2023). Functional properties of the dietary fibers and their using in the manufacturing technology of fish products. Food Systems, 6(2), 233-244. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-233-244>

## 1. Введение

Изменения в структуре питания современного общества приводят к увеличению доли продуктов, готовых к употреблению, среди которых мясные и рыбные изделия пользуются высоким спросом. Многие категории населения при достаточном уровне потребления белков испытывают дефицит пищевых волокон (ПВ). Рекомендуемые суточные нормы потребления ПВ составляют от 10 до 30 г при соотношении нерастворимые/растворимые ПВ – 3 к 1. В современной концепции здорового питания акцент сместился со стремления удовлетворить саму потребность в пище на выявление потенциальных возможностей пищевых продуктов как регуляторов физического и психического здоровья для снижения рисков хронических заболеваний. С этой точки зрения ПВ занимают лидирующую позицию в списке функциональных ингредиентов [1–6].

Рыба и морепродукты, используемые в пище, обладают высокой питательной и биологической ценностью за счет наличия полноценных и легкоусвояемых белков и незаменимых липидных компонентов, включающих полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), характерные только для морских организмов. Благодаря этому рыбные продукты априори могут рассматриваться в качестве функциональных пищевых продуктов (ФПП), т. е. продуктов питания, обеспечивающих уровень потребления биологически активных ингредиентов, необходимый для поддержания и/или улучшения физиологических показателей организма. Увеличить полноценность рыбных продуктов особенно на фоне потребления больших количеств белка и жира способно введение ПВ в состав изделий, готовых к употреблению. Кроме того, при реструктуризации рыбного сырья с использованием ПВ могут быть задействованы недоиспользуемые рыбные ресурсы, не обладающие исходно стандартными технологическими свойствами [7–10].

Вместе с этим пищевые волокна обладают функционально-технологическими свойствами, влияющими на физико-химические свойства продуктов питания: водоудерживающей способностью (ВУС), вязкостью, криорезистентностью, способностью к структурообразованию и так далее. Благодаря использованию ПВ развивается отдельное направление в технологии рыбопродуктов — реструктуризация рыбных продуктов, то есть использование измельченной мышечной ткани для изготовления новых видов продукции, отличающихся внешним видом и текстурой. К этой же категории можно отнести аналоговые продукты с высокой добавленной стоимостью, имитирующие морепродукты. Процесс реструктуризации заключается в удалении отдельных компонентов или добавлении других. При этом происходит не только изменение состава конечного продукта, но и перестроение структуры его исходных составляющих. Такие компоненты могут способствовать хранению, иметь функционально технологические и функционально физиологические свойства. Существует ингредиенты, выполняющие более одной из этих функций, к ним относятся и ПВ [2,6,8].

Целью представленной работы явился анализ современных научных тенденций применения пищевых волокон различного состава для обеспечения развития технологии рыбной продукции с учетом принципов здорового питания.

## 2. Материалы и методы

В качестве объектов проведенного анализа были использованы опубликованные научные работы российских и зарубежных исследователей в таких областях исследования как нутрициология, и в частности, функционально биологические свойства ПВ; направленное воздействие ПВ

на физико-химические и органолептические свойства пищевых систем из рыбного сырья; обоснование общих принципов и создание частных технологий рыбной продукции; примеры использования отдельных видов ПВ. Поиск работ был проведен с использованием баз данных Google Scholar, PubMed, Scopus, Web of Science, Mendeley, eLibrary.ru, а также открытых интернет-источников. Были использованы статьи в полнотекстовых вариантах, на русском и английском языках. Справочные данные и официальные документы были взяты на сайтах Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ, Европейского агентства по безопасности продуктов питания, Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США.

## 3 Функциональные свойства пищевых волокон

### 3.1. Классификация и основные свойства ПВ

В настоящее время рассматривается несколько вариантов классификации ПВ, включая их разделение по происхождению или молекулярной структуре (линейной и разветвленной). Чаще всего ПВ подразделяют на растворимые и нерастворимые. При этом учитывается их способность к преобразованию в низкомолекулярные производные путем ферментативного гидролиза [1–3,11–12]. Общая характеристика и свойства ПВ представлены в таблице 1.

### 3.2. Физиологическая функциональность ПВ

Доказана важная роль пищевых волокон в профилактике различных заболеваний и в поддержании здоровья. Эффективность и механизм действия этих компонентов зависят от типа и строения волокон.

#### 3.2.1. Влияние на сердечнососудистую систему, гипохолестеринемическое действие

Механизмы, обеспечивающие наблюдаемые эффекты, заключаются не только в прямой абсорбции липидов в желудочно-кишечном тракте, но и во влиянии на метаболизм нейтральных стеролов и желчных кислот. ПВ, содержащие уроновые кислоты, глюкоманнаны и галактоманнаны, метаболизируются кишечной микрофлорой до короткоцепочечных жирных кислот, которые влияют на снижение уровня холестерина в крови. Еще один механизм — ингибирование синтеза липопротеинов и холестерина в печени. Этот процесс происходит благодаря образованию оболочки из ПВ на поверхности липидных частиц в ЖКТ, что предотвращает их переваривание липолитическими ферментами [1,20–22].

#### 3.2.2. Снижение гликемического индекса

ПВ обладают способностью уменьшать концентрацию глюкозы в плазме крови, снижая выраженность гипогликемической реакции, вызывающей слабость, тошноту, учащенное сердцебиение, которые возникают после приема пищи. ПВ повышают вязкость пищевых гранул, препятствуя контакту веществ с пищеварительными ферментами и кишечным эпителием. Кроме того, ПВ могут изменять перистальтику ЖКТ и тем самым уменьшать транспорт глюкозы к абсорбирующей их поверхности [23,24].

#### 3.2.3. Регуляция функций кишечника

ПВ способны связывать большое количество воды, увеличивая объем водной фазы пищевых гранул и замедляя всасывание питательных веществ [25]. Происхождение и количество ПВ по-разному влияют на функцию кишечника: устойчивые к ферментации пшеничные отруби больше все-

Таблица 1. Классификация и основные свойства ПВ

Table 1. Classification and main properties of the DF

Представители	Источники	Свойства	Ссылка
<i>Некрахмалистые поли- и олигосахариды</i>			
Целлюлоза	Различные части растений	Нерастворимые Неферментируемые Невязкие	[1,2,12,13-15]
Геми-целлюлоза	Арабиногалактаны, $\beta$ -глюканы, арабиноксиланы, глюкуроноксиланы, ксилоглюканы, галактоманнаны,	Нерастворимые Неферментируемые Невязкие	[1,2,12,13-14]
Фруктозаны	Инулин, олигофруктаны	Растворимые или частично растворимые Ферментируемые Невязкие	[1,2,6,13,16]
Камеди и слизи	Экстракты семян (галактоманнаны — гуаровая камедь и камедь рожкового дерева), экссудаты деревьев (камеди акации, караи, трагаканта), полисахариды водорослей (альгинаты, агар, каррагинан), псилиум	Растворимые или частично растворимые Ферментируемые Вязкие	[1,2,6,13,16]
<i>Другие полисахариды</i>			
Пектины	Фрукты, овощи, бобовые	Растворимые Ферментируемые Вязкие	[1,2,6,12-14]
Резистентные крахмалы и мальтодекстринги	Различные растения (кукуруза, картофель, бобовые)	Растворимые или частично растворимые Ферментируемые	[1,2,6,12-14]
<i>Производные химического синтеза</i>			
Поли- и олигосахариды	Полидекстроза, лактулоза, производные целлюлозы	Растворимые или частично растворимые Ферментируемые Невязкие	[1,2,13,14,16]
<i>Производные ферментного синтеза</i>			
Поли- и олигосахариды	Фруктоолигосахариды из гидролизата гуара, леван, ксантановая камедь, трансталактоолигосахариды, олиго-фруктоза, ксилоолигосахариды	Растворимые или частично растворимые Ферментируемые Вязкие	[1,2,12,13,16]
<i>Сложные полимерные соединения</i>			
Воска и полиэфиры	Лигнин, кутин, суберин	Нерастворимые Неферментируемые Невязкие	[1,2,12,13,14]
<i>Полимеры животного происхождения</i>			
Полиацетил-глюказамины	Хитин	Нерастворимые Слабо ферментируемые Невязкие	[1,2,17,18]
	Хитозан	Растворимые в кислой среде Ферментируемые Вязкие	[1,2,17,18]
Белки	Коллаген	Нерастворимые в нативном состоянии Ферментируемые Вязкие	[17,19]

го увеличивают содержимое кишечника; ферментируемые ПВ повышают вязкость пищевых гранул и способствуют росту полезной микрофлоры в кишечнике. В целом ПВ влияют на время транзита содержимого кишечника, разбавляя его и поставляя субстраты брожения для микрофлоры желудочно-кишечного тракта [26]. ПВ важны для профилактики рака, они снижают выработку канцерогенных веществ в толстой кишке и минимизируют взаимодействие между слизистой оболочкой кишечника и канцерогенами [27].

### 3.2.3. Нарушения обмена веществ

Одна из ведущих проблем современного здравоохранения — ожирение населения, обусловленное чаще всего потреблением высококалорийной пищи и малоподвижным образом жизни [28]. Употребление ПВ снижает доступность питательных веществ и влияет на количество потребляемых калорий. Некоторые волокна могут ингибировать активность ферментов поджелудочной железы, переваривающих углеводы, липиды и белки [11]. Повышение вязкости содержимого кишечника замедляет процесс переваривания и всасывания и обеспечивает более длительное чувство сытости [26,27-29]. Надо учитывать, что ПВ при избыточном потреблении могут в определенной степени препятствовать

усвоению ряда витаминов и минералов, например, кальция, железа, цинка и меди [1]. Поэтому важно учитывать индивидуальные особенности организма и соблюдать нормы потребления.

Таким образом, многочисленные клинические исследования доказывают высокую степень корреляции между диетой с высоким содержанием ПВ и снижением риска ряда хронических заболеваний, что делает ПВ важными функциональными ингредиентами питания.

### 3.3. Технологическая функциональность ПВ

Использование ПВ в пищевых производствах получает все большее распространение. Преимущества включения ПВ в состав продуктов связаны с их влиянием на удержание воды, повышение вязкости, предотвращение потерь в процессе приготовления, а также на изменение текстуры с незначительным изменением вкуса и запаха. В последние годы значительно расширился ассортимент коммерческих препаратов ПВ из различного сырья, особенно, различных видов клетчатки (из пшеницы, моркови, свеклы, овса, цитрусовых, яблок, сои, водорослей) [2,5,7,13,30]. Также в настоящее время в технологии используют ПВ животного происхождения — хитозан и коллаген [13,15,17, 31].

### 3.3.1. Водоудерживающая способность (ВУС)

Для рыбных продуктов наиболее важным технологическим свойством является способность связывать и удерживать воду. Растворимые волокна, например, пектин и камеди, обладают более высокой ВУС, чем клетчатка. В измельченном виде такие компоненты, как отруби, связывают воду в количестве в несколько раз превосходящую их собственную массу, что определяется размером частиц. Компоненты водорослей в зависимости от типа, могут связывать по сухому веществу количество воды в 20 и более раз по отношению к собственному объему. Гели на основе гидроколлоидов, относящихся к ПВ, обеспечивают создание аналоговых продуктов с хорошей ВУС, что особенно важно в тех случаях, когда используемое сырье имеет исходно низкие функционально-технологические показатели качества [2,7,30].

### 3.3.2. Жироудерживающая способность (ЖУС)

Способность ПВ связывать жир может зависеть как от пористости волокна (клетчатка и ее производные), так и от молекулярного сродства (хитозан) [10,14,32–34]. По этой причине, если поглощение жира нежелательно, то сначала требуется поместить препараты клетчатки в воду, чтобы она заполнила поры и препятствовала сорбции жира. Это полезно для того, чтобы избежать чрезмерного поглощения жира при жарке, когда волокна используются в тесте или в фарше. ВУС и ЖУС рассматриваемых компонентов зависят от их химической структуры, рН, ионной силы и размера частиц [14,15,32]. В частности, ПВ имеющие высокое сродство к жирам, обеспечивают стабилизацию жировых эмульсий, тогда как ПВ, удерживающие воду, способны регулировать вязкость и снижать возможность синерезиса. Так, например, каппа-каррагинан предотвращает синерезис в рыбных гелях в процессе замораживания/оттаивания [33]. ЖУС клетчатки различного происхождения может быть связана со степенью измельчения и ячеистой структурой, что обеспечивает сорбцию и удерживание жира благодаря хорошей доступности гидрофобных частей [15]. В табл. 2 приведены величины ВУС и ЖУС для различных ПВ.

Таблица 2. Водо- и жироудерживающие способности ПВ различного происхождения

Table 2. Water holding and fat holding capacities of the DF of various origin

Наименование ПВ	ВУС, г воды/г массы	ЖУС, г жира/г массы	Ссылка
Пшеничные отруби	2–3	1–5	[2]
Рисовые отруби	4–5	4	[2]
Жмых моркови	18	5	[2]
Цитрусовая клетчатка	2–10	1–2	[2,32]
Яблочная клетчатка	4	—	[2]
Свекольная клетчатка	4–6	1–4	[2]
Пшеничная клетчатка	5–8	5–7	[2,15]
Овсяная клетчатка	1–6	—	[2]
Тростниковая клетчатка	1–10	—	[2]
Гороховая клетчатка	5	—	[2]
Соевая клетчатка	5–10	1	[2]
Клетчатка водорослей	0,5–4	2–3	[8,30]
Каррагинаны	20–100	2	[32]
Гуаровая камедь	55	1	[32]
Ксантановая камедь	100	1	[32]
Хитозан	2–5	5–20	[17,31,32]
Коллаген	10–20	2–12	[17,18]

### 3.3.3. Вязкость

Способность волокон загущать пищевые системы на водной основе широко используется при производстве продуктов питания. Их применение эффективно при необходимости замены жира водой. Повышение вязкости обеспечивает возможность регулирования текстуры и органолептических свойств продуктов. Например, пектин, камеди, б-глюканы и полисахариды водорослей, образуют высоковязкие растворы. Камеди, наиболее часто используются в качестве загустителей. Вязкость нерастворимых волокон минимальна [1,2, 35–36].

### 3.3.4. Эмульгирующая способность

ПВ способствуют образованию эмульсий типа жир в воде и стабилизируют их. Стабилизация эмульсий позволяет снизить потери при приготовлении или изменении кислотности среды. Стабильность эмульсий на основе фаршей мышечных тканей поддерживается при наличии высокой ЖУС у добавленных волокон. При этом усиливается адгезивность фаршей [2].

### 3.3.5. Гелеобразующая способность

Ряд растворимых ПВ — например, каррагинаны, пектины, конжаковая камедь — образуют гели. Способность формировать гель и его характеристики зависят от концентрации компонентов, температуры, наличия определенных ионов и от значения рН. Отдельные ПВ обладают синергической гелеобразующей способностью в сочетании с крахмалом, ксантановой камедью или каррагинанами [8]. При добавлении в фарш альгината натрия с образованием смешанного геля наблюдается снижение прочности и образуется коллоидная система, сформированная за счет взаимосвязи набухших мицелл альгината и гидрофильной оболочки мицрочастиц фарша. Полученная пространственная структурная сетка обладает эластичностью, способностью изгибаться и сворачиваться, оказывая меньшее сопротивление внешнему воздействию [37,38]. Исследованы механизмы ассоциации гидроколлоидов с мышечными белками рыб и моллюсков. Так, с помощью электронной микроскопии наблюдали образование сети ПВ, которая располагалась параллельно белковой сети миофибриллярных белков, повышая, таким образом, общую прочность геля [7,39]. Механизм действия ПВ различен. Загустители — гаррофин, гуаровая и ксантановая камеди, КМЦ — образуют нитчатую структуру, гелеобразующие агенты — каррагенаны, альгинаты — покрывают или выстилают полости сплошной сетью. Другая возможность действия ПВ — связывание с водорастворимыми белками — приводит к усилению желирования. Совместное добавление йота-каррагинана и казеина в фарш кальмара обеспечило повышению прочности геля за счет синергического эффекта при ассоциации белков с гидроколлоидами [7].

### 3.3.6. Хелатирующая способность

У многих типов пищевых волокон есть способность к катионному обмену, они связывают ионы металлов и таким образом предотвращают их участие в активации реакций окисления липидов. Наиболее высокая способность к сорбции ионов металлов установлена для хитозана [1,40].

### 3.3.7. Текстурирование

Применение ПВ в рыбных продуктах способно обеспечить желательную текстуру измельченной мышечной ткани [7,8,37]. Примером такого использования является концентрат соевого белка, содержащий около 25% клетчатки, способной имитировать мышечные миотомы [41]. Свойства ПВ изменять текстуру пищевых сред находит применение

в производстве продуктов питания с получением волокнистой, слоистой, однородной, твердой, мягкой, пластичной, крупкой структур [42].

ПВ также обладают рядом других способностей: контроль кристаллизации сахаров, стабилизация замороженных продуктов, предотвращение деформации и усадки реструктурированных продуктов, повышение сроков хранения, увеличение выхода готовой продукции, предотвращение прогорания. Благодаря такому широкому спектру возможностей рыбные продукты, обогащенные ПВ, могут быть представлены на рынке разнообразным ассортиментом изделий, подходящих для всех категорий потребителей, в соответствии с их вкусовыми предпочтениями и представлениями о правильном питании [16].

### 3.4. Свойства отдельных ПВ

#### 3.4.1. Хитозан

Хитозан — представитель ПВ животного происхождения. Его предшественником является хитин, встречающийся в природе в экзоскелетах ракообразных, моллюсков, насекомых, а также в некоторых грибах в качестве основного фибриллярного полимера клеточной стенки. Хитин — катионный полисахарид, образованный мономерами N-ацетилглюкозамина и глюкозамина. При деацетилировании хитина получают хитозан в виде ряда производных, отличающихся степенью деацетилирования (СД), молекулярной массой (Мм) и вязкостью. Они используются в широком спектре пищевых продуктов [16,18,31,32]. Хитозан не гидролизуется пищеварительными ферментами, частичное его переваривание может осуществляться бактериальной микрофлорой и некоторыми пищеварительными ферментами с неспецифической активностью, такими как амилазы и липазы. Основным ограничением в использовании хитозана в пищевых производствах является чрезвычайно слабая растворимость при pH 5,5–7,5. Варьируя такую характеристику как СД можно влиять на это свойство [43]. Производные хитозана в виде ацетата, аскорбата, лактата, малата растворимы в воде. Растворимый хитозан также может быть получен в форме олигосахаридов путем ферментативного гидролиза [44].

Хитозан обладает многочисленными биологически активными свойствами [18,43,44]. С физиологической точки зрения основное действие хитозана — снижение всасывания в кишечнике липидов, поэтому он признан эффективным абсорбентом холестерина и агентом, способствующим потере массы тела [17,29,42]. Обычно хитозан хорошо переносится клинически, но при длительном потреблении необходимо контролировать отсутствие нарушения кишечной флоры, выявлять препятствия всасыванию микроэлементов и витаминов [32,40].

Одной из тенденций при создании продуктов здорового питания является отказ от химических консервантов. С этой точки зрения хитозан и его производные могут рассматриваться как наиболее перспективные ингредиенты [18,44]. Они предотвращают жизнедеятельность различных групп микроорганизмов: бактерий, грибов и дрожжей [18,46–47]. Предложены два основных механизма ингибирования микробных клеток. Взаимодействие хитозана с отрицательно заряженными карбоксильными группами липополисахаридов и пептидогликанов на поверхности бактериальной клеточной стенки вызывает образование непроницаемого слоя вокруг клетки и блокирует транспорт необходимых веществ. Также отмечено ингибирование синтеза РНК и белка путем проникновения в ядро клетки [45,46]. В этом случае величина Мм является решающим параметром. Механизм про-

вогибкового действия хитозана аналогичен и проявляется по отношению к грибкам, содержащим большое количество ПНЖК. Наноматериалы на основе хитозана проявляют повышенную бактерицидную способность. На видовую восприимчивость и эффективность антимикробного действия влияют Мм и СД молекул хитозана [48].

Хитозан обладает способностью образовывать полупроницаемые покрытия, которые при нанесении на пищевые продукты продлевают срок хранения, действуя как барьер для кислорода и воды [42–44]. Покрытия из хитозана могут содержать дополнительные компоненты (антиоксиданты, антимикробные препараты, ароматизаторы), обладающие способностью постепенного высвобождения при хранении продукта. Исследовано влияние покрытий из хитозана разного состава, включая наночастицы, на сохранение качества рыбных продуктов, а также на замедление проявления меланоза у ракообразных [7,49].

Антиоксидантная активность хитозана, добавленного в растительные и животные жиры, хорошо сравнима с действием аскорбиновой кислоты [50]. Показано, что хитозан с высокой Мм проявляет менее выраженный антиоксидантный эффект за счет образования более компактной структуры, стабилизированной прочными внутримолекулярными водородными связями [47–49]. Антиоксидантное действие хитозана в полуфабрикатах из рыбы и морепродуктов и зависит от концентрации и типа хитозана [2,7]. При добавлении его в фарши сельди и трески наблюдали снижение степени окисления жиров почти на 50%. Механизм такого действия может быть обусловлен связыванием ионов металлов и липидов [7,50].

Применение хитозана позволяет получать стабильные эмульсии [51]. Для проявления эмульгирующей способности хитозана требуется соблюдение определенных условий (концентрации, температуры, pH среды). Сочетание с другими полимерами, например, агаром или белками приводит к усилению этой способности. Хитозан может образовывать эмульсии без добавления поверхностно-активных веществ (ПАВ), благодаря наличию молекул с различной СД. Молекулы с низкой СД стабилизируют капли воды внутри масляных капель, в то время как гидрофильные молекулы стабилизируют масляные капли в образующейся множественной эмульсии. Обнаружена положительная корреляция между повышением устойчивости к синерезису и увеличением вязкости хитозана. Наименее благоприятное влияние препарата с низкой Мм на стабильность эмульсий объясняется утратой эффективности совместной адсорбции на границе раздела фаз. Показано преобладание электростатических взаимодействий при межфазной стабилизации, что более характерно для хитозана с низкой СД [52]. Эмульсии, стабилизированные комплексами ПАВ-хитозан, обладали лучшей устойчивостью при термообработке и замораживании чем эмульсии, на основе ПАВ, что объясняется увеличением электростатического и стерического отталкивания между каплями. Мм хитозана не оказывала сильного влияния на свойства эмульсий «масло в воде», на  $\zeta$ -потенциал и средний диаметр частиц во вторичных эмульсиях, но при очень низкой СД (40%) доля агрегированных капель была значительно ниже [53].

При применении хитозана для получения формованных рыбных продуктов используется его способность изменять реологические характеристики пищевых масс и формировать стабильные структуры. Растворенный хитозан после внесения его в пищевую систему образует в пространстве между частицами фарша сплошной слой. С течением времени уплотнение геля и уменьшение его объема между частицами фарша приводит к образованию пустот. Окончатель-

ная структура представляет собой прочный каркас из тонких волокон хитозана [7,8,31,38]. В рыбных продуктах, полученных путем низкотемпературной осадки, взаимодействие структурообразователей и солерасторимых белков играет основную роль для получения продуктов с желаемой текстурой. При pH системы, превышающей рI, суммарный заряд мышечных белков становится отрицательным. Поэтому для образования электростатических взаимодействий необходимо добавление катионных биополимеров, таких как хитозан. Внесение хитозана позволяет улучшить реологические свойства реструктурированных рыбных изделий, например, сурими из сырья со слабой гелеобразующей способностью мышечной ткани. Выраженность такого действия зависит от типа и концентрации хитозана [54]. Наиболее однородная структура образуется при использовании хитозанов со средними и низкими значениями Мм. Оптимальная прочность сурими из канального сома с добавлением хитозана была достигнута при концентрации 1,5% по отношению к массе сырья. Увеличение концентрации привело к образованию менее упорядоченной структуры и снижению прочности геля. Однако в ряде работ сообщается, что для достижения подобного эффекта достаточно 0,3–0,5% хитозана, и при этом наименее выражены нежелательные сенсорные изменения — появление вяжущего привкуса [32].

Показано влияние pH, соотношения белок/полисахарид, ионной силы и СД на микроструктуру при взаимодействии между миофибриллярными белками и хитозаном. Относительно низкие соотношения белок/полисахарид (5:1) улучшили коллоидную стабильность продуктов в слабокислых средах ( $\text{pH} < 6,5$ ). Добавление KCl (0,05–0,6 M) разрушало коллоидную стабильность и способствовало разделению фаз. Максимальную вязкоупругость наблюдали при соотношении белок/полисахарид 1:1, pH 6,5 и 95% СД. Подтверждено, что в образовании комплексов главную роль играют электростатические взаимодействия [52].

Полагают, что воздействие хитозана на гелеобразование в мышечной ткани рыб может быть обусловлено его влиянием на активность эндогенной тканевой трансглутаминазы (ТГ). Относительно способности хитозана быть субстратом для ТГ существуют противоречивые данные. Есть большая вероятность того, что аминогруппы хитозана могут служить акцепторами ацильных групп в реакции переноса ацила от  $\gamma$ -карбоксиламидных групп к глутамильным остаткам белка. Однако также показано отсутствие изменений в молекулярно-массовом распределении белковых фракций в фарше рыб с добавлением хитозана после воздействия ТГ, а его присутствие рассматривается как стericкое препятствие для образования межбелковых сшивок. Но во всех случаях отмечено стабилизирующее влияние на текстуру продукта [55–56].

### 3.4.2. Коллаген

Исследования последних лет позволяют рассматривать коллаген в качестве ПВ. Это связано с низкой степенью переваривания его в ЖКТ и наличием функциональных технологических и физиологических качеств, свойственных ПВ [17–19]. Коллаген является основным компонентом соединительных тканей животных и составляет около 70% сухой массы кожи [57]. Видовая и тканевая специфичность коллагена обусловлена его Мм, количеством и распределением активных полярных групп, вариабельностью термостабильности. Коллаген различных типов, полученный из морских и наземных животных, используется в производстве ряда пищевых продуктов, косметики и медицинских материалов [58]. В последнее время его широко применяют в составе ФПП [59–60].

Физиологические эффекты коллагена связаны с его влиянием на нарушения обмена веществ, таких как ожирение, сахарный диабет 2 типа, гипертония, некоторые виды рака, а также различные психологические проблемы и физические нарушения [28,61].

Для выделения коллагена из соединительной ткани и перевода его в растворимое состояние разработаны различные методы, определяющие характеристики и свойства полученных субстанций. Разрушение внутри- и межмолекулярных поперечных связей макромолекул коллагена под действием химических, физических и механических факторов приводит к изменению пространственной структуры. Чаще всего для изменения микроструктуры коллагена используют термообработку, после чего он превращается в желатин, обладающий гелеобразующими свойствами. Изменения, происходящие в молекулах коллагена, в первую очередь выражаются в показателях степени полимерности и выплавляемости [62–64].

Выплавляемость — образование при температуре денатурации из нерастворимого коллагена растворимых продуктов, которые после охлаждения образуют гель. При этом часть водородных связей, удерживающих полипептидные цепочки в третичной структуре, ослабевает и разрывается. Происходит продольное расщепление фибрill и разрывление соединительной ткани. Рассматривают две стадии распада коллагена: расщепление на субфибрillы, филаменты, макромолекулярные тяжи, и далее деполимеризацию самих макромолекул. При термообработке накапливаются соединения с меньшей Мм — желатин, желатоза, глютин — образующие после охлаждения прочные гели. При распаде (полной деполимеризации) коллагена появляются полипептиды различной длины и отдельные аминокислоты [60].

Отличительной особенностью молекул коллагена является их способность к агрегации. Процесс деструкции коллагена является необратимым. Поэтому ренатурация не приводит к восстановлению исходной структуры, возможно лишь образование агрегатов с высокой Мм. Частичное восстановление молекул коллагена возможно, если при денатурации разрушается только третичная структура. Ренатурированный продукт соответствует исходному по величине вязкости, температуре денатурации, гидродинамическим свойствам [60].

ВУС коллагена варьируется в зависимости от состава окружающей среды, присутствия и типа кислот, щелочей и солей. Выделяют набухание и разбухание коллагена. Набухание минимально при pH 6,5–8,5, что соответствует рI коллагена. При этом происходит утолщение коллагеновых волокон, уменьшение их длины [60,63]. Разбухание под действием кислот и щелочей, является неспецифичным и поддается добавлением солей. Это связано с эффектом Доннана или осмотической способностью заряженных групп аминокислот притягивать и удерживать молекулы воды. В растворах нейтральных солей волокна коллагена утолщаются без укорачивания и расщепляются на тонкие нити. Этот эффект зависит от природы солей и обусловлен специфическим разрушением солевых мостиков между цепями коллагена [65].

На технологические свойства мышечных систем с добавлением коллагена существенно влияет pH среды. Сдвиг pH в щелочную или кислую сторону приводит к изменению распределения положительных и отрицательных зарядов на поверхности молекулы и изменению ее свойств. Показатель рI миофибриллярных белков менее 5, а рI коллагенов около 6,0–6,75. В кислой среде снижается изометрическое напряжение волокон коллагена. При этом также меняется температура денатурации: при pH 3 она составляет 35–40 °C, а при

pH 1 она снижается до 30 °C. В кислой среде увеличивается растворимость коллагена, ускоряется процесс его разваривания и образования желатина, тем самым повышается прочность гелей. Воздействие реагентов на функциональные свойства коллагена, зависит от их сродства к белкам и носит индивидуальный характер. Хлораты, йодиды, соли кальция и магния вызывают сильное набухание, а хлорид натрия почти не влияет на пространственную структуру коллагена [63–64].

Применение коллагена в производстве продуктов на основе мышечных белков обеспечивает возможности улучшения консистенции и структурно-механических свойств, образование требуемой монолитности, нарезаемости и «ежевательности». С помощью коллагена можно получать эмульгированные и реструктурированные цельномышечные изделия и полуфабрикаты. К преимуществам использования коллагена в мышечных пищевых системах относится снижение потерь при термообработке и хранении, высокий выход готовых изделий, улучшение экономических показателей производства [2,66,67].

Коллагеновые белки способны к синергетическому взаимодействию с различными гидроколлоидами [62–63]. Увеличение прочности и термостабильности гелей наблюдается при совместном использовании коллагена с каррагинанами, геллановой камедью, гидроксипропилметилцеллюлозой, крахмалами. При сочетании коллагена с альгинатами в мышечных белковых системах образуются гели и эмульсии с повышенной термостабильностью [2,17]. Описано получение термостабильных гидрогелей из коллагена и производных крахмала и КМЦ за счет реакции взаимодействия альдегидных групп со свободными аминогруппами коллагена. При этом третичная структура коллагена не меняется [62,63,68].

Для получения заданных структурно-механических свойств пищевых продуктов совместно с коллагеном используют хитозан. При взаимодействии аминогрупп хитозана с противоионами в молекулах коллагена или желатина происходит образование полизэлектролитных комплексов. Использование бинарного структурообразователя на основе желатина и хитозана в рыбных фаршах обеспечило формирование плотной упругой структуры белковых гелей и было более эффективным, чем применение отдельно взятого желатина. При этом значительно увеличилась температура плавления гелей, вязкость, упругость [32,69].

Возможность усовершенствования физико-химических свойств коллагена и желатина может быть реализована при комбинации с другими белками или путем ферментативной модификации [70,71]. Коллаген считается хорошим субстратом для фермента ТГ. Поперечные межмолекулярные связи, образуемые ТГ в белках, являются важными факторами в процессе гелеобразования [55]. Перекрестные связи между отдельными нитями коллагена приводят к формированию новой структуры и образованию биополимера с иными свойствами [71]. Изменение функциональных свойств коллагена может повлиять на качество многих видов продукции. Особенно важным является использование ТГ для переработки нестандартного в технологическом плане сырья, каковым, например, являются глубоководные рыбы рода макруров, мышечная ткань которых содержит более 90% воды, а ВУС миофibrillлярных белков очень низка. Поэтому при различных видах переработки наблюдаются очень высокие технологические потери. Образование термостабильной гелеобразной структуры в мышечной системе макруров возможно при сочетании ТГ и структурообразователей белковой и полисахаридной природы. При исследовании влияния системы коллаген + лактат хитозана в присутствии

ТГ на формирование текстуры мышечной ткани макруруса *Albatrossia pectoralis* показано увеличение прочности мышечной системы на 90% по сравнению с исходным сырьем. Исследование фракционного состава белков показало, что внесение коллагена и лактата хитозана не меняло направленность действия фермента, но обеспечило уменьшение фракции миогенов и повышение количества высокомолекулярных белковых агрегатов [55].

### 3.4.3. Клетчатка

В настоящее время имеется большое количество коммерческих препаратов клетчатки из разных растительных источников (табл. 3). Кроме препаратов из пшеницы, в качестве источников используют овес, рис, сахарную свеклу, сою, горох, подорожник и другие [1,2,13,15,72]. Большинство препаратов клетчатки не являются пищевыми добавками и не входят в перечень ингредиентов, подлежащих обязательному декларированию с индексом «Е». ПВ этого типа в продуктах из мышечных тканей обеспечивают повышение выхода приготовления, улучшение реологических свойств, вкусовых качеств и текстуры, снижение производственных затрат. В зависимости от происхождения варьируется состав препаратов: получаемые из овощей и фруктов содержат больше пектина, а в выделенных из злаков преобладают нерастворимая целлюлоза и гемицеллюлоза [2].

**Таблица 3. Свойства препаратов клетчатки, используемых в пищевой промышленности по данным российских научно-производственных компаний**

Table 3. Properties of fiber preparations used in the food production industry according to the Russian research and production companies

Наименование	Состав, %	Размер частиц, мкм	Цвет/Вкус
Пшеничная клетчатка (Витацель) <sup>1</sup>	Целлюлоза и гемицеллюлоза – 98 Белок < 1	70–300	Белый / нейтральный
Цитрусовая клетчатка (Сеамфайбер) <sup>1</sup>	ПВ- 36, в том числе растворимые – 40 Белок – 4.	70–350	Желтый/с горечью
Свекловичная клетчатка (ECOLIGHT native) <sup>2</sup>	ПВ – 45 Пектини – 15 Белок – 8	200; 400	Желтоватый / нейтральный
Соевая клетчатка <sup>1</sup>	ПВ – 80, в том числе растворимые – 12 белок – 20	150	Белый/нейтральный
Овсяная клетчатка <sup>1</sup>	ПВ – 96, в том числе растворимые – 3 белок – 3,	350	Белый (желтый)/нейтральный
Яблочная клетчатка <sup>1</sup>	ПВ – 60, в том числе растворимые – 11 Белок – 5	< 500	Светло коричневый/яблочный
Гороховая клетчатка (Swelite) <sup>3</sup>	ПВ – 50; крахмал – 35; Белок – 10	350	Желтоватый / нейтральный
Картофельная клетчатка <sup>4</sup>	ПВ – 25; крахмал – 45 Белок – 3	<500	Кремовый / нейтральный
Виноградная клетчатка <sup>5</sup>	ПВ – 50–70 Белок – 8–10 Полифенолы >5	<400	Коричневый/какао
Клетчатка из бурых водорослей <sup>6</sup>	Нерастворимые ПВ >60 Растворимые ПВ – 16 Полифенолы >5 Альгиновая кислота – 4	<400	Зеленоватая/ специфический

<sup>1</sup> [http://www.ingredico.ru/katalog/syrie/piwevye\\_volokna\\_seamfajbr\\_seamfibre/](http://www.ingredico.ru/katalog/syrie/piwevye_volokna_seamfajbr_seamfibre/)

<sup>2</sup> <http://www.пищевые-волокна.рф>

<sup>3</sup> <http://www.100ing.ru/product/gorokhovye-volokna-frantsiiia/>

<sup>4</sup> <https://ntk.kubstu.ru/data/mc/0077/3888.pdf>

<sup>5</sup> [http://kubansad.ru/media/uploads/files/dissovet/predv\\_rassmotr/dis\\_tichonova.compressed.pdf](http://kubansad.ru/media/uploads/files/dissovet/predv_rassmotr/dis_tichonova.compressed.pdf)

<sup>6</sup> научная статья [73]

Клетчатка не относится к гелеобразующим ПВ. Однако пищевые мышечные системы с ее добавлением обладают удовлетворительными свойствами, несмотря на изменение механических показателей и текстуры. Эти изменения являются следствием пропорционального снижения содержания в геле белка, образующего в итоге нерегулярную сеть. Высокая ВУС клетчатки не всегда благоприятно влияет на структуру геля, т. к. может приводить к обезвоживанию самого белка [10]. Такое явление имело место при использовании пшеничной клетчатки в рыбных фаршах, где в общей матрице образовывались два отдельных типа водных полостей, что косвенно ухудшило гелеобразующую способность мышечного белка [74,75].

Описаны криопротекторные свойства клетчатки, обеспечивающие стабильность аналоговых продуктов из моллюсков при замораживании-оттаивании. При добавлении препаратов пшеничной клетчатки разной степени измельчения (250 и 80 мкм) в фарши из мышечной ткани хека и ставриды лучшие результаты в отношении ВУС были показаны при использовании гранул размером 250 мкм. Также добавление этого препарата позволило осветлить образцы, что особенно важно для продуктов из ставриды, имеющей темную мышечную ткань. Отмечена коммерческая привлекательность такого явления. Реструктурированный продукт был менее жестким и липким. Повышение содержания клетчатки более чем на 3% привело к сенсорному ощущению сухости изделия [7,8].

Использование препарата МКЦ в реструктурированных рыбных изделиях позволило снизить количество добавляемых для приготовления сурими криопротекторов и модифицированного крахмала, и достичь образования не крахмалистой текстуры. Этот вид ПВ также предотвращал преобразование гелеобразных продуктов в эластичные и сухие при морозильном хранении, а также обеспечил увеличение ВУС и уменьшение синерезиса при размораживании. Клетчатка из гороха позволила улучшить текстурные свойства термоиндуцированных гелеобразных продуктов из хека и морского окуня. Однако этот же препарат не повлиял на прочность сурими из скумбрии, но увеличил твердость и сухость продукта [75]. Введение до 6% пшеничной и виноградной клетчатки в сурими и рубленное филе из минтая и фарш из хека из практически не изменило их внешний вид, но уменьшилось ощущение излишней эластичности. Одновременно возросла способность удерживать воду даже после термообработки. Добавление 1–3% клетчатки в продукты, предназначенные для жарки, позволило снизить поглощение жиров из фритюра [76]. Использование эмульгаторов на основе пшеничной клетчатки, гидратированной рыбными бульонами из вторичного рыбного сырья привело к увеличению ВУС, агрегативной устойчивости и термостабильности эмульсий [72].

Среди большого количества типов клетчатки выделяют антиоксидантные, получаемые из яблок, винограда, цитрусовых и водорослей [30]. Эти препараты имеют высокое содержание растворимых волокон, а наличие ассоциированных полифенольных соединений (>5%) наделяет их антиоксидантными свойствами. Такие ПВ были добавлены в реструктурированные продукты, приготовленные из ставриды — рыбы, склонной к быстрому окислению. В итоге значительно повысилась ВУС, снизилось количество жидкости, образующейся при размораживании, повысился выход готового продукта и уменьшились потери при нагревании. При этом когезионная способность и твердость продукта снизились. Добавление 2% виноградных ПВ обеспечило хорошие сенсорные характеристики и замедлило окисление липидов в мышечном фарше, хранившемся при минус 20° С до 180 дней [8,77,78].

Благодаря замедлению уровня окисления ПНЖК антиоксидантные ПВ обеспечивают создание пищевых продуктов, имеющих повышенные органолептические и питательные свойства. Исследования интересов потребителей показали предпочтения к использованию альтернативных источников ПВ, таких как, например, морские водоросли [78].

Применение клетчатки позволяет производить привлекательные по вкусу и внешнему виду реструктурированные продукты. Исследовано влияние концентратра из буры водоросли *Fucus spp.* на фарш ставриды при морозильном хранении. Концентрат состоял в основном из нерастворимых ПВ (>60%) при достаточно высоком содержании растворимых веществ (16%) и фенольных соединений (>5%). В образцах рыбного фарша с добавлением 1 и 2% ПВ фукуса отмечено снижение степени окисления липидов и общего количества потерь после размораживания и варки образцов. Сенсорные характеристики продуктов не отличались от контрольных. Измельченные морские водоросли были использованы в качестве источника ПВ в рыбных продуктах с восстановленной структурой [9]. Предложены изделия по типу «швейцарского ролла» из морепродуктов, содержащие натуральные цветные ПВ из морских водорослей и винограда. Одно из них в качестве покрытия содержало гель сурими, обогащенный пшеничной клетчаткой, а внутри находился рыбный фарш, смешанный с сублимированными морскими водорослями *Ulva rigida* [8]. Содержание в таком продукте ПВ было достаточным, чтобы считать его источником функциональных ингредиентов.

Водорослевую клетчатку рассматривают как набухающий полимер. В ее надмолекулярной структуре выделяют области с различной степенью упорядоченности молекул, влияющих на протекание сорбционных процессов, которые осуществляются гидроксильными группами целлюлозы и карбоксильными группами примесных составляющих. Для сульфатированных полисахаридов (СП) важно наличие полярных групп: гидроксильных, карбоксильных и сульфатных, способных удерживать воду [79–80]. Изучена эффективность добавления порошка зеленой водоросли *Ulva intestinalis* и выделенного из нее СП на окисление липидов, pH, цвет, текстуру, выход и вкус реструктурированных рыбных продуктов типа сурими из серебристого карпа [8,77]. В обоих случаях показано снижение накопления продуктов окисления липидов при хранении в течение 6 мес. Наименьшие потери влаги были показаны для образцов с добавленным СП. Текстурные характеристики обоих продуктов в этот период оставались стабильными, в то же время контрольные образцы затвердевали. Сенсорные показатели, и наиболее всего сочность, были признаны лучшими для образцов с добавлением СП, благодаря меньшим потерям при приготовлении. Следовательно, гидратационные свойства препаратов в большей степени зависели от содержания растворимых ПВ, а наиболее высокие значения ВУС отмечены для СП в очищенной форме.

#### 4. Выводы

Таким образом, проведенный анализ возможностей и преимуществ использования ПВ при производстве рыбной продукции позволяет говорить об их огромном технологическом потенциале, обеспечивающим использование различных видов исходного рыбного сырья для создания продуктов с добавленной стоимостью. Целесообразность включения ПВ в рыбные продукты базируется на их способности влиять на такие процессы как удержание воды и жиров, стабилизация эмульсий, гелеобразование, изменение текстуры и сенсорных характеристик, увеличение выхода готовой продукции, увеличение сроков хранения

и так далее. На основе анализа современных научных исследований обосновано использование различных видов ПВ в технологии рыбных продуктов. К последним следует отнести реструктурированные продукты, включая гели сурими, студни, желе, пищевые покрытия и панировки, а также

разнообразный ассортимент формованных рыбных изделий, включая колбасы, сосиски, котлеты, медальоны, палочки, боллы, паштеты. Одновременно с совершенствованием технологий использование функциональных ингредиентов обеспечивает развитие индустрии здорового питания.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Li, Y.-O., Komarek, A.R. (2017). Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis and applications. *Food Quality and Safety*, 1(1), 47–59. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx007>
- Mehta, N., Ahlawat, S.S., Sharma, D.P., Dabur, R.S. (2015). Novel trends in development of dietary fiber rich meat products – a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 633–647. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1010-2>
- EFSA (2017). Dietary reference values for nutrients summary report. *EFSA Supporting Publication*, 14(12), Article e15121. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.e15121>
- Методические рекомендации МР 2.3.1.0253–21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» Утверждены Руководителем Роспотребнадзора, Главным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 22 июля 2021 г. Электронный ресурс [https://www.rosпотребnadzor.ru/upload/iblock/789/1.-mr-2.3.1.0253\\_21-normy-pishchovykh-veshchestv.pdf](https://www.rosпотребnadzor.ru/upload/iblock/789/1.-mr-2.3.1.0253_21-normy-pishchovykh-veshchestv.pdf) Дата доступа 12.03.2023.
- Gibson, R., Eriksen, R., Chambers, E., Gao, H., Aresu, M., Heard, A. et al. (2019). Intakes and food sources of dietary fibre and their associations with measures of body composition and inflammation in UK adults: cross-sectional analysis of the airwave health monitoring study. *Nutrients*, 11(8), Article 1839. <https://doi.org/10.3390/nu11081839>
- Пырьева, Е.А., Сафонова, 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>
- Borderias, A., Sanchez-Alonso, I., Perez-Mateos, M. (2005). New applications of fibres in foods: Addition to fishery products. *Trends in Food Science Technology*, 16(10), 458–465. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.011>
- Moreno, H.M., Herranz, B., Pérez-Mateos, M., Sánchez-Alonso, I., Borderías, J.A. (2014). New alternatives in seafood restructured products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(2), 237–248. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.719942>
- Jannat-Alipour, H., Rezaei, M., Shabani, B., Tabarsa, M., Rafipour, F. (2019). Addition of seaweed powder and sulphated polysaccharide on shelf-life extension of functional fish surimi restructured product. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3777–3789. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03846-y>
- Debusca, A., Tahergorabi, R., Beamer, S.K., Partington S., Jaczynski, J. (2013). Interactions of dietary fibre and omega-3-rich oil with protein in surimi gels developed with salt substitute. *Food Chemistry*, 141(1), 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.111>
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417–1435. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>
- Dai, F.-I., Chau, C.-F. (2016). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 37–42. <http://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.09.006>
- Zinina, O., Merenкова, S., Tazeddinova, D., Rebezov, M., Stuart, M., Okushanova, E. et al. (2019). Enrichment of meat products with dietary fibers: a review. *Agronomy Research*, 17(4), 1808–1822. <https://doi.org/10.15159/AR.19.163>
- 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>
- Игорянова, Н.А., Мелешкина, Е.П. (2016). Перспективы использования ингредиентов, содержащих пищевые волокна вторичных продуктов переработки зерна, для стабилизации структуры пищевых систем. Международная конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. Москва: ВНИИМП им. В. М. Горбатова, 2016.
- Zhang, B., Wang, S., Wichienchot, S., Huang, Q., Dhital, S. (2021). Dietary fibers: structural aspects and nutritional implications. Chapter in a book: *Food Hydrocolloids*. Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2021. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-0320-4\\_15](https://doi.org/10.1007/978-981-16-0320-4_15)
- Irahorza, A., Zarandona, I., Andonegi, M., Guerrero, P., de la Caba, K. (2021). The versatility of collagen and chitosan: from food to biomedical applications. *Food Hydrocolloids*, 116, Article 106633. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.106633>
- Philibert, T., Lee, B.H., Fabien, N. (2017). Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181(4), 1314–1337. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2286-2>
- Неклюдов, А.Д., Иванкин, А.Н. (2007). Коллаген: Получение, свойства и применение. Москва: Московский государственный университет леса, 2007.
- Zhang, S., Tian, J., Lei, M., Zhang, J. (2022). Association between dietary fiber intake and atherosclerotic cardiovascular disease risk in adults: a cross-sectional study of 14,947 population based on the National Health and Nutrition Examination Surveys. *BMC Public Health*, 22(1), Article 1076. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13419-y>
- Barber, T.M., Kabisch, S., Pfeiffer, A.F.H., Weickert, M.O. (2020). The health benefits of dietary fibre. *Nutrients*, 12(10), Article 3209. <https://doi.org/10.3390/nu12103209>
- Weickert, M.O., Pfeiffer, A.F.H. (2018). Impact of dietary fiber consumption on insulin resistance and the prevention of type 2 diabetes. *The Journal of Nutrition*, 148(1), 7–12. <https://doi.org/10.1093/jn/nxx008>
- Weickert, M.O., (2018). High fiber intake, dietary protein, and prevention of type 2 diabetes *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 13(5), 223–224. <https://doi.org/10.1080/17446651.2018.1513320>
- Honsek, C., Kabisch, S., Kemper, M., Gerbracht, C., Arafat, A.M., Birkenfeld, A.L. et al. (2018). Fibre supplementation for the prevention of type 2 diabetes and improvement of glucose metabolism: The randomised controlled Optimal Fibre Trial (OptiFiT). *Diabetologia*, 61(6), 1295–1305. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4582-6>
- Eswaran, S., Muir, M., Chey, W. (2013). Fiber and functional gastrointestinal disorders. *American Journal of Gastroenterology*, 108(5), 718–727. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.63>
- Ардатская, М.Д. (2010). Клиническое применение пищевых волокон. Москва: 4ТЕ Апрт, 2010.
- Yang, Y., Yang, L., Zhou, L., Tang, S. (2021). A critical review of the effect of dietary fiber intake on the prevention of colorectal cancer in Eastern Asian countries. *Journal of Healthcare Engineering*, 2021, Article 6680698. <https://doi.org/10.1155/2021/6680698>
- Yumuk, V., Tsigos, C., Fried, M., Schindler, K., Busetto, L., Micic, D. et al. (2015). European guidelines for obesity management in adults. *Obes Fact*, 8(6), 402–424. <https://doi.org/10.1159/000442721>
- Ahn, S.-I., Cho, S., Choi, N.-J. (2021). Effectiveness of chitosan as a dietary supplement in lowering cholesterol in murine models: a meta-analysis. *Marine Drugs*, 19(1), Article 26. <https://doi.org/10.3390/md19010026>
- Eskicioglu, V., Kamiloglu, S., Nilufer-Erdil, D. (2015). Antioxidant dietary fibres: Potential functional food ingredients from plant processing by-products. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(6), 487–499. <https://doi.org/10.17221/42/2015-CJFS>
- Петрова, Е.А., Легонькова, О.А. (2012). Применение хитозана в мясной индустрии. *Пищевая промышленность*, 1, 49–51.
- Максимова, С.Н., Сафонова, Т.М., Суровцева, Е.В. (2017). Использование хитозана в технологии пищевых продуктов из водных биоресурсов. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 2–3, 35–40.
- Рензяева, Т.В., Тубольцева, А.С., Понкратова, Е.К., Луговая, А.В., Канццева, А.В. (2014). Функционально-технологические свойства порошкообразного сырья и пищевых добавок в производстве кондитерских изделий. *Техника и технология пищевых производств*, 4(35), 43–49.
- Hunt, A., Park, J.W. (2013). Alaska pollock fish protein gels as affected by refined carrageenan and various salts. *Journal of Food Quality*, 36(1), 51–58. <https://doi.org/10.1111/jfq.12010>
- Хатко, З.Н., Титов, С.А., Саранов, И.А., Корышева, Н.Н., Ашинова, А.А., Колодина, Е.М. (2019). Влияние гидратации пектинов на внутреннее трение и вязкость их водных растворов. *Новые технологии/Newtechnologies*, 3, 113–124. <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10310>
- Приянишников, В.В., Колыхалова, В.В., Глотова, И.А., Гиро, Т.М., Николаева, Ю. В. (2014). Пищевые волокна витацель в технологии полуфабрикатов. *Современные научоемкие технологии*, 11, 29–30.
- Montero, P., Hurtado, J.L., Pérez-Mateos, M. (2014). Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting with hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 14(5), 455–461. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00025-4](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00025-4)
- Ramírez, J.A., Uresti, R.M., Velázquez, G., Vázquez, M. (2011). Food hydrocolloids as additives to improve the mechanical and functional properties of fish products: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1842–1852. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.009>
- Nyaisaba, B.M., Hatab, S., Liu, X., Chen, Y., Chen, X., Miao, W. et al. (2019). Physicochemical changes of myofibrillar proteins of squid (*Argentinus ilex*) induced by hydroxyl radical generating system. *Food Chemistry*, 297, Article 124941. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.06.008>
- Matin, H.R.H., Sharatiadari, F., Torshizi, M.A.K. (2013). In vitro mineral-binding capacity of various fibre sources: the monogastric sequen-

- tial simulated physiological conditions. *Advanced Studies in Biology*, 5(5), 235–249. <https://doi.org/10.12988/asb.2013.2535>
41. Панина, Е.В., Королькова, Н.В., Колобаева, А.А., Сорокина, И.А., Курчава, Е.Е. (2022). Концептуальные подходы к использованию продуктов переработки бобов сои при производстве функциональных продуктов питания. *Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции*, 1(18), 51–62. [https://doi.org/10.53914/issn2311-6870\\_2022\\_1\\_51](https://doi.org/10.53914/issn2311-6870_2022_1_51)
  42. Шишкина, Д.И., Соколов, А.Ю. (2018). Анализ зарубежных технологий мясных продуктов функционального назначения. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 80(2(76)), 189–194. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-2-189-194>
  43. Gámiz-González, M.A., Piskin, A.E., Pandis, C., Chatzimanolis-Moustakas, C., Kyritsis, A., Marí, B. et al. (2015). Determining the influence of N-acetylation on water sorption in chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 133, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.020>
  44. Kabanov, V.L., Novinyuk, L.V. (2020). Chitosan application in food technology: a review of recent advances. *Food Systems*, 3(1), 10–15. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-1-10-15>
  45. Friedman, M., Juneja, V.K. (2010). Review of antimicrobial and antioxidant activities of chitosans in food. *Journal of Food Protection*, 73(9), 1737–1761. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-73.9.1737>
  46. Verlee, A., Mincke, S., Stevens, C.V. (2017). Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 164, 268–283. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.001>
  47. Gutiérrez, T.J. (2017). Chitosan applications for the food industry. Chapter in a book: Chitosan: derivatives, composites and applications. Scrivener Publishing LLC, 2017. <https://doi.org/10.1002/9781119364849.ch8>
  48. Ngo, D.-H., Vo, T.-S., Ngo, D.-N., Kang, K.-H., Je, J.-Y., Pham, H. N.-D. et al. (2015). Biological effects of chitosan and its derivatives. *Food Hydrocolloids*, 51, 200–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.023>
  49. Dehghani, S., Hosseini, S.V., Regenstein, J.M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation. *Food Chemistry*, 240, 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034>
  50. Cao, X., Islam, M.N., Chitrakar, B., Duan, Z., Xu, W., Zhong, S. (2020). Effect of combined chlorogenic acid and chitosan coating on antioxidant, antimicrobial, and sensory properties of snakehead fish in cold storage. *Food Science and Nutrition*, 8, 973–981. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1378>
  51. Huang, P., Huang, C., Ma, X., Gao, C., Sun, F., Yang, N. et al. (2021). Effect of pH on the mechanical, interfacial, and emulsification properties of chitosan microgels. *Food Hydrocolloids*, 121, Article 106972. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106972>
  52. Huang, M., Xu, Y., Xu, L., Bai, Y., Xu, X. (2022). Interactions of water-soluble myofibrillar protein with chitosan: phase behavior, microstructure and rheological properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 78, Article 103013. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103013>
  53. Ruzaina, I., Zhong, F., Rashid, N.A., Jia, W., Li, Y., Som, H.Z.M. et al. (2017). Effect of different degree of deacetylation, molecular weight of chitosan and palm stearin and palm kernel olein concentration on chitosan as edible packaging for cherry tomato. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4), Article e13090. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13090>
  54. Li, X., Xia, W. (2010). Effects of chitosan on the gel properties of salt-soluble meat proteins silver carp. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 958–954. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.026>
  55. Пивненко, Т.Н., Ковалев, Н.Н., Конькова, Д.А., Позднякова, Ю.М. (2022). Влияние пищевых волокон на структурообразование в мышечной ткани объекта глубоководного рыбного промысла макрорусца малоглазого в присутствии трансглутамины. *Вестник КрасГАУ*, 2(179), 121–129. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-2-121-129>
  56. Пивненко, Т.Н. (2021). Применение трансглутамины в пищевой промышленности. *Научные труды Дальрыбвтуза*, 55(1), 5–22.
  57. Silvipriya, K.S., Kumar, K.K., Bhat, A.R., Kumar, B.D., John, A., Iakshmanan, P. (2015). Collagen: animal sources and biomedical application. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(05), 123–127. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50322>
  58. Coppola, D., Oliviero, M., Vitale, G.A., Lauritano, C., D'Ambra, I., Iannace, S. et al. (2020). Marine collagen from alternative and sustainable sources: extraction, processing and applications. *Marine Drugs*, 18(4), Article 214. <https://doi.org/10.3390/md18040214>
  59. Hashim, P., Mohd Ridzwan, M.S., Bakar, J., Mat Hashim, D. (2015). Collagen in food and beverage industries. *International Food Research Journal*, 22(1), 1–8.
  60. Антипова, Л.В., Сторублевцев, С.А. (2014). Коллагены: источники, свойства, применение. Воронеж: ВГУИТ, 2014.
  61. Zhu, C., Zhang, W., Liu, J., Mu, B., Zhang, F., Lai, M. et al. (2017). Marine collagen peptides reduce endothelial cell injury in diabetic rats by inhibiting apoptosis and the expression of coupling factor 6 and microparticles. *Molecular Medicine Reports*, 16(4), 3947–3957. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7061>
  62. Tumerkan, E.T.A., Cansu, U., Boran, G., Mac Regenstein, J., Ozogul, F. (2019). Physicochemical and functional properties of gelatin obtained from tuna, frog and chicken skins. *Food Chemistry*, 287, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.088>
  63. Дроздова, Н.А., Насонова, В.В. (2016). Влияние различных пищевых добавок и ингредиентов на технологические характеристики животных белков. *Теория и практика переработки мяса*, 1(3), 48–56. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-3-48-56>
  64. Тунинея, Е. К. Афанасьева, Ю.И. (2021). Влияние соли на функционально-технологические свойства соединительного белка. *Все о мясе*, 3, 3–5. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2021-3-3-5>
  65. Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L. et al. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal*, 2016, Article 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
  66. Ramírez, J. A., Uresti, R. M., Velázquez, G., Vázquez, M. (2011). Food hydrocolloids as additives to improve the mechanical and functional properties of fish products: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1842–1852. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.009>
  67. Tang, C., Zhou, K., Zhu, Y., Zhang, W., Xie, Y., Wang, Z. et al. (2022). Collagen and its derivatives: From structure and properties to their applications in food industry. *Food Hydrocolloids*, 133, Article 107748. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107748>
  68. He, Y., Wang, C., Wang, C., Xiao, Y., Lin, W. (2021). An overview on collagen and gelatin-based cryogels: fabrication, classification, properties and biomedical applications. *Polymers (Basel)*, 13(14), Article 2299. <https://doi.org/10.3390/polym13142299>
  69. Кращенко, В.В., Карпенко, Ю.В. (2014). Влияние бинарного структурообразователя на свойства рыбных студней. *Известия ТИНРО*, 179, 272–278. <https://doi.org/10.26428/1606-9919-2014-179-272-278>
  70. Gaspar, A.L.C., de Góes-Favoni, S.P. (2015). Action of microbial transglutaminase in the modification food proteins. *Food Chemistry*, 171, 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.019>
  71. Cheng, S., Wang, W., Li, Y., Gao, G., Zhang, K., Zhou, J. et al. (2019). Cross-linking and film-forming properties of transglutaminase-modified collagen fibers tailored by denaturation temperature. *Food Chemistry*, 271, 527–535. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.223>
  72. Кораблева, Н.С., Базарнова, Ю.Г. (2013). Исследование препаратов пшеничной клетчатки для использования в рыбных фаршевых продуктах. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»*, 2, 10.
  73. Дружинина, А.С., Боголицын, К.Г., Каплицин, П.А., Овчинников, Д.В., Паршина, А.Э., Шульгина, Е.В. и др. (6–7 октября 2016). *Структура и физико-химические свойства целлюло-зы арктических бурых водорослей*. Материалы Второй Всероссийской научно-практической Интернет-конференции с международным участием. Россия, Петрозаводск, 2016.
  74. López-Marcos, M.C., Bailina, C., Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J. (2015). Properties of dietary fibers from agroindustrial co-products as source for fiber-enriched foods. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 2400–2408. <https://doi.org/10.1016/j.fobcha.2022.100149>
  75. Sánchez-Alonso, I., Haji-Maleki, R., Borderías, A.J. (2007). Wheat fiber as a functional ingredient in restructured fish products. *Food Chemistry*, 100(3), 1037–1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.090>
  76. Martínez-Pineda, M., Yagüe-Ruiz, C., Vercet, A. (2021). Frying conditions, methyl cellulose, and k-carrageenan edible coatings: useful strategies to reduce oil uptake in fried mushrooms. *Foods*, 10(8), Article 1694. <https://doi.org/10.3390/foods10081694>
  77. Jannat Alipour, H., Rezaei, M., Shabani, B., Tabarsa, M.E. (2018). Effects of sulfated polysaccharides from green alga *Ulva intestinalis* on physicochemical properties and microstructure of silver carp surimi. *Food Hydrocolloids*, 74, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.038>
  78. Careche, M., Borderías, A.J., Sánchez-Alonso, I., Lund, E.K. (2011). Functional seafood products. Chapter in a book: Functional foods: concept to product. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, 2011. <https://doi.org/10.1533/9780857092557.3.557>
  79. Боголицын, К.Г., Каплицин, П.А., Дружинина, А.С., Овчинников, Д.В., Шульгина, Е.В., Паршина А. Э. (2015). Целлюлозная матрица арктических бурых водорослей: выделение, структура. *Современные научные технологии*, 12–1, 14–19.
  80. Choi, Y.-S., Choi, J.-H., Han, D.-J., Kim, H.-Y., Kim, H.-W., Lee, M.-A. et al. (2012). Effects of *Laminaria japonica* on the physicochemical and sensory characteristics of reduced-fat pork patties. *Meat Science*, 91(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.11.011>

## REFERENCES

1. Li, Y.-O., Komarek, A.R. (2017). Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis and applications. *Food Quality and Safety*, 1(1), 47–59. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fxy007>
2. Mehta, N., Ahlawat, S.S., Sharma, D.P., Dabur, R.S. (2015). Novel trends in development of dietary fiber rich meat products – a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 633–647. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1010-2>
3. EFSA (2017). Dietary reference values for nutrients summary report. *EFSA Supporting Publication*, 14(12), Article e15121. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2017.e15121>
4. Methodical recommendations “Rational nutrition. Norms of physiological needs for energy and nutrients for various groups of the population of the Russian Federation” MR2.3.1.2.3.1.0253–21. (Approved by the Head of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Pro-

- tection and Human Well-being, the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation A. Yu. Popova on July 22, 2021). Moscow, 2021. Retrieved from [https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/789/1.-mr-2.3.1.0253\\_21-normy-pishchevykh-veshchestv.pdf](https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/789/1.-mr-2.3.1.0253_21-normy-pishchevykh-veshchestv.pdf). Accessed March 12, 2021 (In Russian)
5. Gibson, R., Eriksen, R., Chambers, E., Gao, H., Aresu, M., Heard, A. et al. (2019). Intakes and food sources of dietary fibre and their associations with measures of body composition and inflammation in UK adults: cross-sectional analysis of the airwave health monitoring study. *Nutrients*, 11(8), Article 1839. <https://doi.org/10.3390/nu11081839>
  6. Pyryeva, E.A., Safranova, 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)
  7. Borderias, A., Sanchez-Alonso, I., Perez-Mateos, M. (2005). New applications of fibres in foods: Addition to fishery products. *Trends in Food Science Technology*, 16(10), 458–465. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.011>
  8. Moreno, H.M., Herranz, B., Pérez-Mateos, M., Sánchez-Alonso, I., Borrerías, J.A. (2014). New alternatives in seafood restructured products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(2), 237–248. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.719942>
  9. Jannat-Alipour, H., Rezaei, M., Shabaniour, B., Tabarsa, M., Rafipour, F. (2019). Addition of seaweed powder and sulphated polysaccharide on shelf-life extension of functional fish surimi restructured product. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3777–3789. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03846-y>
  10. Debusca, A., Tahergorabi, R., Beamer, S.K., Partington, S., Jaczynski, J. (2013). Interactions of dietary fibre and omega-3-rich oil with protein in surimi gels developed with salt substitute. *Food Chemistry*, 141(1), 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.111>
  11. Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417–1435. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>
  12. Dai, F.-I., Chau, C.-F. (2016). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.09.006>
  13. Zinina, O., Merenkova, S., Tazeddinova, D., Rebezov, M., Stuart, M., Okushanova, E. et al. (2019). Enrichment of meat products with dietary fibers: a review. *Agronomy Research*, 17(4), 1808–1822. <https://doi.org/10.15159/AR.19.163>
  14. 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>
  15. Igoryanova, N.A., Meleshkina, E.P. (2016). Prospects for using ingredients containing food fibers of secondary products of grain processing for stabilization of food system structures. International scientific and practical conference dedicated to the memory of Vasily Matveyevich Gorbatov. Moscow: VNIIMP, 2016.
  16. Zhang, B., Wang, S., Wichienchot, S., Huang, Q., Dhital, S. (2021). Dietary fibers: structural aspects and nutritional implications. Chapter in a book: *Food Hydrocolloids*. Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2021. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-0320-4\\_15](https://doi.org/10.1007/978-981-16-0320-4_15)
  17. Irastorza, A., Zarandona, I., Andonegi, M., Guerrero, P., de la Caba, K. (2021). The versatility of collagen and chitosan: from food to biomedical applications. *Food Hydrocolloids*, 116, Article 106633. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.106633>
  18. Philibert, T., Lee, B.H., Fabien, N. (2017). Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181(4), 1314–1337. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2286-2>
  19. Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N. (2007). Collagen: Obtaining, properties and application. Moscow: MGUL, 2007. (In Russian)
  20. Zhang, S., Tian, J., Lei, M., Zhang, J. (2022). Association between dietary fiber intake and atherosclerotic cardiovascular disease risk in adults: a cross-sectional study of 14,947 population based on the National Health and Nutrition Examination Surveys. *BMC Public Health*, 22(1), Article 1076. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13419-y>
  21. Barber, T.M., Kabisch, S., Pfeiffer, A.F.H., Weickert, M.O. (2020). The health benefits of dietary fibre. *Nutrients*, 12(10), Article 3209. <https://doi.org/10.3390/nu12103209>
  22. Weickert, M.O., Pfeiffer, A.F.H. (2018). Impact of dietary fiber consumption on insulin resistance and the prevention of type 2 diabetes. *The Journal of Nutrition*, 148(1), 7–12. <https://doi.org/10.1093/jn/nnx008>
  23. Weickert, M.O., (2018). High fiber intake, dietary protein, and prevention of type 2 diabetes. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 13(5), 223–224. <https://doi.org/10.1080/17446651.2018.1513320>
  24. Honsek, C., Kabisch, S., Kemper, M., Gerbracht, C., Arafat, A.M., Birkenfeld, A.L. et al. (2018). Fibre supplementation for the prevention of type 2 diabetes and improvement of glucose metabolism: The randomised controlled Optimal Fibre Trial (OptiFIT). *Diabetologia*, 61(6), 1295–1305. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4582-6>
  25. Eswaran, S., Muir, M., Chey, W. (2013). Fiber and functional gastrointestinal disorders. *American Journal of Gastroenterology*, 108(5), 718–727. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.63>
  26. Ardatskaya, M.D. (2010). Clinical application of dietary fiber. Moscow: 4TE Art, 2010/ (In Russian)
  27. Yang, Y., Yang, L., Zhou, L., Tang, S. (2021). A critical review of the effect of dietary fiber intake on the prevention of colorectal cancer in Eastern Asian countries. *Journal of Healthcare Engineering*, 2021, Article 6680698. <https://doi.org/10.1155/2021/6680698>
  28. Yumuk, V., Tsigos, C., Fried, M., Schindler, K., Busetto, L., Micic, D. et al. (2015). European guidelines for obesity management in adults. *Obes Fact*, 8(6), 402–424. <https://doi.org/10.1159/000442721>
  29. Ahn, S.-I., Cho, S., Choi, N.-J. (2021). Effectiveness of chitosan as a dietary supplement in lowering cholesterol in murine models: a meta-analysis. *Marine Drugs*, 19(1), Article 26. <https://doi.org/10.3390/md19010026>
  30. Eskicioglu, V., Kamiloglu, S., Nilufer-Erdil, D. (2015). Antioxidant dietary fibres: Potential functional food ingredients from plant processing by-products. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(6), 487–499. <https://doi.org/10.17221/42/2015-CJFS>
  31. Petrova, E.A., Legonkova, O.A. (2012). The use of chitosan in meat industry. *Food Industry*, 1, 49–51. (In Russian)
  32. Maksimova, S.N., Safranova, T.M., Surovtseva, E.V. (2017). Use of chitosan technology of foodstuff from aquatic bioresources. *Izvestiya VUZOV. Food Technology*, 2–3, 35–40. (In Russian)
  33. Renzyaeva, T.V., Tuboltseva, A.S., Ponkratova, E.K., Lugovaya, A.V., Kvantseva, A.V. (2014). Functional and technological properties of powdered raw materials and food additives for confectionary. *Food Processing: Techniques and Technology*, 4(35), 43–49. (In Russian)
  34. Hunt, A., Park, J.W. (2013). Alaska pollock fish protein gels as affected by refined carrageenan and various salts. *Journal of Food Quality*, 36(1), 51–58. <https://doi.org/10.1111/jfq.12010>
  35. Khatko, Z.N., Titov, S.A., Saranov, I.A., Korysheva, N.N., Ashinova, A.A., Kolodina, E.M. (2019). Influence of pectin hydration on internal friction and viscosity of their aqueous solutions. *New Technologies*, 3, 113–124. <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10310> (In Russian)
  36. Pryanishnikov, V.V., Kolikhalova, V.V., Glotova, I.A., Giro, T.M., Nikolaeva, U.V. (2014). Food fibre vitaceal in semi-finished products technology. *Modern High Technologies*, 11, 29–30. (In Russian)
  37. Montero, P., Hurtado, J.L., Pérez-Mateos, M. (2014). Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting with hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 14(5), 455–461. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00025-4](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00025-4)
  38. Ramírez, J.A., Uresti, R.M., Velázquez, G., Vázquez, M. (2011). Food hydrocolloids as additives to improve the mechanical and functional properties of fish products: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1842–1852. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.009>
  39. Nyaisaba, B.M., Hatab, S., Liu, X., Chen, Y., Chen, X., Miao, W. et al. (2019). Physicochemical changes of myofibrillar proteins of squid (*Argentinus illex*) induced by hydroxyl radical generating system. *Food Chemistry*, 297, Article 124941. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.06.008>
  40. Matin, H.R.H., Sharatiadmadari, F., Torshizi, M.A.K. (2013). In vitro mineral-binding capacity of various fibre sources: the monogastric sequential simulated physiological conditions. *Advanced Studies in Biology*, 5(5), 235–249. <https://doi.org/10.12988/asb.2013.2535>
  41. Panina, E.V., Korolkova, N. V., Kolobaeva, A. A., Sorokina, I. A., Kurchaeva, E. E. (2022). Conceptual approaches to the use of soy bean processing products in the production of functional food. *Technologies and Commodity Science of Agricultural Products*, 1(18), 51–62. [https://doi.org/10.53914/issn2311-6870.2022\\_1\\_51](https://doi.org/10.53914/issn2311-6870.2022_1_51) (In Russian)
  42. Shishkina, D.I., Sokolov, A. Yu. (2018). Analysis of foreign technologies for the functional meat products. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 80(2(76)), 189–194. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-2-189-194> (In Russian)
  43. Gámiz-González, M.A., Piskin, A.E., Pandis, C., Chatzmanolis-Moustakas, C., Kyritsis, A., Mari, B. et al. (2015). Determining the influence of N-acetylation on water sorption in chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 133, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.020>
  44. Kabanov, V.L., Novinyuk, L.V. (2020). Chitosan application in food technology: a review of recent advances. *Food Systems*, 3(1), 10–15. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-1-10-15>
  45. Friedman, M., Juneja, V.K. (2010). Review of antimicrobial and antioxidant activities of chitosans in food. *Journal of Food Protection*, 73(9), 1737–1761. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.73.9.1737>
  46. Verlee, A., Mincke, S., Stevens, C.V. (2017). Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 164, 268–283. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.001>
  47. Gutiérrez, T.J. (2017). Chitosan applications for the food industry. Chapter in a book: Chitosan: derivatives, composites and applications. Scrivener Publishing LLC, 2017. <https://doi.org/10.1002/9781119364849.ch8>
  48. Ngo, D.-H., Vo, T.-S., Ngo, D.-N., Kang, K.-H., Je, J.-Y., Pham, H. N.-D. et al. (2015). Biological effects of chitosan and its derivatives. *Food Hydrocolloids*, 51, 200–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.023>
  49. Dehghani, S., Hosseini, S.V., Regenstein, J.M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation. *Food Chemistry*, 240, 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034>
  50. Cao, X., Islam, M.N., Chitrakar, B., Duan, Z., Xu, W., Zhong, S. (2020). Effect of combined chlorogenic acid and chitosan coating on antioxidant, antimicrobial, and sensory properties of snakehead fish in cold storage. *Food Science and Nutrition*, 8, 973–981. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1378>
  51. Huang, P., Huang, C., Ma, X., Gao, C., Sun, F., Yang, N. et al. (2021). Effect of pH on the mechanical, interfacial, and emulsification properties of chitosan microgels. *Food Hydrocolloids*, 121, Article 106972. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106972>

52. Huang, M., Xu, Y., Xu, L., Bai, Y., Xu, X. (2022). Interactions of water-soluble myofibrillar protein with chitosan: phase behavior, microstructure and rheological properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 78, Article 103013. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103013>
53. Ruzaina, I., Zhong, F., Rashid, N.A., Jia, W., Li, Y., Som, H.Z.M. et al. (2017). Effect of different degree of deacetylation, molecular weight of chitosan and palm stearin and palm kernel olein concentration on chitosan as edible packaging for cherry tomato. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4), Article e13090. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13090>
54. Li, X., Xia, W. (2010). Effects of chitosan on the gel properties of salt-soluble meat proteins silver carp. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 958–954. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.026>
55. Pivnenko, T.N., Kovalev, N.N., Konkova, D.A., Pozdnyakova, Yu.M. (2022). Dietary fibers effect on muscle tissue structure formation of the deep-sea fishing object of the giant grenadier in the presence of transglutaminase. *Bulletin of KSAU*, 2(179), 121–129. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-2-121-129> (In Russian)
56. Pivnenko, T.N. (2021). Application of transglutaminase in the food industry. *Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University*, 55(1), 5–22. (In Russian)
57. Silvipriya, K.S., Kumar, K.K., Bhat, A.R., Kumar, B.D., John, A., Iakshmanan, P. (2015). Collagen: animal sources and biomedical application. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(03), 123–127. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50322>
58. Coppola, D., Oliviero, M., Vitale, G.A., Lauritano, C., D’Ambra, I., Iannace, S. et al. (2020). Marine collagen from alternative and sustainable sources: extraction, processing and applications. *Marine Drugs*, 18(4), Article 214. <https://doi.org/10.3390/md18040214>
59. Hashim, P., Mohd Ridzwan, M.S., Bakar, J., Mat Hashim, D. (2015). Collagen in food and beverage industries. *International Food Research Journal*, 22(1), 1–8.
60. Antipova, L.V., Storublevtsev, S.A. (2014). Collagens: Sources, properties, application. Voronezh, VGU, 2014. (In Russian)
61. Zhu, C., Zhang, W., Liu, J., Mu, B., Zhang, F., Lai, M. et al. (2017). Marine collagen peptides reduce endothelial cell injury in diabetic rats by inhibiting apoptosis and the expression of coupling factor 6 and microparticles. *Molecular Medicine Reports*, 16(4), 3947–3957. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7061>
62. Tumerkan, E.T.A., Cansu, U., Boran, G., Mac Regenstein, J., Ozogul, F. (2019). Physiochemical and functional properties of gelatin obtained from tuna, frog and chicken skins. *Food Chemistry*, 287, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.088>
63. Drozdova, N.A., Nasonova, V.V. (2016). Influence of different food additives and ingredients on the technological characteristics of animal proteins. *Theory and Practice of Meat Processing*, 1(3), 48–56. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-3-48-56> (In Russian)
64. Tunieva, E.K., Afanasyeva, Yu.I. (2021). Effect of salt on functional properties of collagen protein. *Vsyo o Myase*, 3, 3–5. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2021-3-3-5> (In Russian)
65. Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L. et al. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal*, 2016, Article 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
66. Ramírez, J. A., Uresti, R. M., Velázquez, G., Vázquez, M. (2011). Food hydrocolloids as additives to improve the mechanical and functional properties of fish products: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1842–1852. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.009>
67. Tang, C., Zhou, K., Zhu, Y., Zhang, W., Xie, Y., Wang, Z. et al. (2022). Collagen and its derivatives: From structure and properties to their applications in food industry. *Food Hydrocolloids*, 133, Article 107748. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107748>
68. He, Y., Wang, C., Wang, C., Xiao, Y., Lin, W. (2021). An overview on collagen and gelatin-based cryogels: fabrication, classification, properties and biomedical applications. *Polymers (Bazel)*, 13(14), Article 2299. <https://doi.org/10.3390/polym13142299>
69. Krashchenko, V. V., Karpenko, Yu. V. (2014). Effect of binary builder on properties of fish jellies. *Izvestiya TINRO*, 179, 272–278. <https://doi.org/10.26428/1606-9919-2014-179-272-278> (In Russian)
70. Gaspar, A.L.C., de Góes-Favoni, S.P. (2015). Action of microbial transglutaminase in the modification food proteins. *Food Chemistry*, 171, 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.019>
71. Cheng, S., Wang, W., Li, Y., Gao, G., Zhang, K., Zhou, J. et al. (2019). Cross-linking and film-forming properties of transglutaminase-modified collagen fibers tailored by denaturation temperature. *Food Chemistry*, 271, 527–535. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.223>
72. Korableva, N.S., Bazarnova, Yu.G. (2013). Research of preparations of wheat cellulose for application in fish farshovy products. *Processes and Food Production Equipment*, 2, 10. (In Russian)
73. Druzhinina, A.S., Bogolitsyn, K.G., Kaplitsyn, P.A., Ovchinnikov, D.V., Parshina, A.E., Shulgina, E.V. et al. (October 6–7, 2016). *Structure and physico-chemical properties of cellulose of Arctic brown algae*. Materials of the Second All-Russian Scientific and Practical Internet Conference with international participation. Russia, Petrozavodsk, 2016. (In Russian)
74. López-Marcos, M.C., Bailina, C., Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J. (2015). Properties of dietary fibers from agroindustrial co-products as source for fiber-enriched foods. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 2400–2408. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100149>
75. Sánchez-Alonso, I., Hajji-Maleki, R., Borderías, A.J. (2007). Wheat fiber as a functional ingredient in restructured fish products. *Food Chemistry*, 100(3), 1037–1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.090>
76. Martínez-Pineda, M., Yagüe-Ruiz, C., Vercet, A. (2021). Frying conditions, methyl cellulose, and k-carrageenan edible coatings: useful strategies to reduce oil uptake in fried mushrooms. *Foods*, 10(8), Article 1694. <https://doi.org/10.3390/foods10081694>
77. Jannat Alipour, H., Rezaei, M., Shabangpour, B., Tabarsa, M.E. (2018). Effects of sulfated polysaccharides from green alga *Ulva intestinalis* on physicochemical properties and microstructure of silver carp surimi. *Food Hydrocolloids*, 74, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.058>
78. Careche, M., Borderías, A.J., Sánchez-Alonso, I., Lund, E.K. (2011). Functional seafood products. Chapter in a book: Functional foods: concept to product. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, 2011. <https://doi.org/10.1533/9780857092557.3.557>
79. Bogolitsyn, K.G., Kaplitsyn, P.A., Druzhinina, A.S., Ovchinnikov, D.V., Shulgina, E.V., Parshina, A.E. (2015). Cellulose matrix of arctic brown algae: Purification, structure. *Modern High Technologies*, 12–1, 14–19. (In Russian)
80. Choi, Y.-S., Choi, J.-H., Han, D.-J., Kim, H.-Y., Kim, H.-W., Lee, M.-A. et al. (2012). Effects of *Laminaria japonica* on the physicochemical and sensory characteristics of reduced-fat pork patties. *Meat Science*, 91(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.11.011>

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ****Принадлежность к организации**

**Пивненко Татьяна Николаевна** – доктор биологических наук, профессор, профессор, кафедра «Пищевая биотехнология», Дальневосточный государственный технический рыбакохозяйственный университет (Дальрыбвтуз) 690087, Владивосток, Луговая, 52-Б  
Тел.: +7-924-230-25-34  
E-mail: tnpivnenko@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0330-489X>

**Критерии авторства**

Автор имеет единоличное отношение к написанию рукописи и несет ответственность за плагиат.

**Конфликт интересов**

Автор заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**AUTHOR INFORMATION****Affiliation**

**Tatiana N. Pivnenko**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor, Department «Food Biotechnology», Far Eastern State Technical Fisheries University (Dalrybvtuz)  
52-B, Lugovaya str., Vladivostok, 690087, Russia  
Tel.: +7-924-230-25-34  
E-mail: tnpivnenko@mail.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0330-489X>

**Contribution**

The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.

**Conflict of interest**

The author declares no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-245-254>

Поступила 20.03.2023

Поступила после рецензирования 23.06.2023

Принята в печать 27.06.2023

© Гончарова Г. Ю., Борзов С. С., Борщев Г. В., 2023

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

Обзорная статья

Open access

# НОВЫЕ ЛЕДОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ НЕПРЕРЫВНОЙ ХОЛОДИЛЬНОЙ ЦЕПИ В СЕВЕРНЫХ РЕГИОНАХ РОССИИ

Гончарова Г. Ю.<sup>1,2</sup>, Борзов С. С.<sup>1,2</sup>, Борщев Г. В.\*<sup>2</sup><sup>1</sup> Московский государственный технический университет имени Н. Э. Баумана, Москва, Россия<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности, Москва, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

*непрерывная холодильная цепь, химическое модифицирование льда, армирование льда, автозимник, северные регионы, физико-механические свойства льда*

**АННОТАЦИЯ**

В статье рассмотрено современное состояние зимних дорог (автозимников) и приведены данные, подтверждающие необходимость продления сроков их эксплуатации для поддержания непрерывной холодильной цепи в северных регионах России. Проанализированы нормативные документы, регулирующие проектирование и создание зимних дорог. Проведен обзор существующих методов и технологий изготовления автозимников. Рассмотрена возможность применения геосинтетических материалов для укрепления ледовых дорог, а также выявлены возможные проблемы, возникающие при их использовании. Показана перспективность применения химических модификаторов для создания конструкционных материалов на основе водного льда, в особенности в сочетании с армированием ледовых массивов. Описаны современные подходы к выбору модифицирующих соединений и материалов для армирования льда и сформированные на их основе критерии. Проведен обзор научных исследований, подтверждающих возможность значительного усиления несущей способности ледовых покрытий и, как следствие, более раннего начала их эксплуатации. Показано, что совместное применение армирования и ледовых модификаторов позволило ледовому образцу сохранить свою цельность даже при значительной деформации. Описана также возможность дополнительного упрочнения ледовых дорожно-транспортных путей в результате оптимизации режимных параметров их формирования в зависимости от погодных условий.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS2022-0014 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН и в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FSFN-2023-0004 МГТУ им. Баумана.

Received 20.03.2023

Accepted in revised 23.06.2023

Accepted for publication 27.06.2023

© Goncharova G. Yu., Borzov S. S., Borschhev G. V., 2023

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

Review article

Open access

# NEW TECHNOLOGIES OF ICE ROADS CONSTRUCTION TO MAINTAIN THE SUSTAINABLE COLD CHAIN OF SUPPLY IN THE NORTHERN REGIONS OF RUSSIA

Galina Yu. Goncharova<sup>1,2</sup>, Sergey S. Borzov<sup>1,2</sup>, Georgiy V. Borschhev<sup>2</sup><sup>1</sup> Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russia<sup>2</sup> All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry, Moscow, Russia**KEY WORDS:**

*sustainable cold chain, chemical modification of ice, reinforcement of ice, ice road, northern regions, physical and mechanical properties of ice*

**ABSTRACT**

The article reviews the current state of winter ice roads (winter glacial roads) and presents data that confirm the necessity of their service life extension in order to maintain the uninterrupted cold chain of supply in the northern regions of Russia. The regulatory documents that regulate the design engineering and construction of winter ice roads are analyzed. The existing methods and technologies of winter roads construction have been analyzed. The possibility of using the geosynthetic materials for ice roads reinforcement is considered, as well as possible challenges arising from their use are exposed for consideration. The use of chemical modifiers for the creation of structural materials based on water ice is shown to be prospective and promising, especially in combination with the reinforcement of ice blocks. Modern approaches to choice of ice modifying compounds and materials for ice reinforcing are described, as well as criteria achieved on the basis of their application. The scientific studies confirming the possibility of a significant increase in the bearing capacity of glacial coverage and, as a result, an earlier start of their operation is carried out. It is shown that the combined use of reinforcement and ice modifiers allowed the ice sample to maintain its integrity even under exposure to significant deformation loads. The technical possibility of additional reinforcement of ice transport routes as a result of optimizing the modal parameters of their formation, depending on weather conditions, is also described.

**FUNDING:** The article was published as part of the research topic № FGUS2022-0014 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS and as part of the research topic № FSFN-2023-0004 of the state assignment of Bauman MSTU.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Гончарова, Г. Ю., Борзов, С. С., Борщев, Г. В. (2023). Новые ледовые технологии для поддержания непрерывной холодильной цепи в северных регионах России. Пищевые системы, 6(2), 245-254. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-245-254>

FOR CITATION: Goncharova, G. Y., Borzov, S. S., Borschhev, G. V. (2023). New technologies of ice roads construction to maintain the sustainable cold chain of supply in the northern regions of Russia. Food Systems, 6(2), 245-254. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-245-254>

## 1. Введение

Площадь арктических территорий РФ составляет около 4,8 млн кв. км. На них проживает 2,5 млн человек, что соответствует 40% всего населения, проживающего в арктической зоне Земли. В настоящее время экономика Крайнего Севера активно развивается и составляет до 15% ВВП страны [1]. Обеспечение непрерывной холодильной цепи (НХЦ) для регионов Крайнего Севера является острой проблемой. С одной стороны, необходима транспортировка продуктов питания не только в города, но и в отдаленные селения и вахтовые поселки. Это особенно актуально, учитывая экстремальные условия жизни в данных регионах, а следовательно, и потребность в сбалансированном рационе, в котором присутствует мясная, молочная и овощная продукция. С другой стороны, важно создание благоприятных условий для экспорта редкого и весьма ценного деликатеса — оленины [2,3]. Значительная часть экспорта идет в европейские страны. В 2019 году было экспортировано 440 т оленины в Финляндию и Германию на общую сумму 2,9 млн долларов, а только за январь 2022 года ЯНАО подготовил для экспорта в Финляндию более 112 тонн оленины [4]. Дополнительно поставляются шкуры, а также субпродукты, которые перерабатываются и идут на корма животным [5]. Бурно развивающийся рынок стран Азии также заинтересован в поставках северного деликатеса и субпродуктов, особенно пантов и крови оленей [6].

Для обеспечения качества и безопасности продукции, а также с целью уменьшения ее потерь в процессе хранения и доставки необходимо применение НХЦ. Она включает в себя различные технические средства для поддержания требуемых температурных уровней транспортируемой продукции, оптимизацию логистических маршрутов и обеспечение контроля качества на всем жизненном цикле продукта питания. Ключевыми принципами функционирования НХЦ являются:

- обеспечение безопасности и сохранение качества пищевой продукции;
- уменьшение потерь на протяжении всего жизненного цикла продукта;
- оптимизация затрат на функционирование цепи, сокращение энергопотребления [7,8].

В дополнение к известным проблемам НХЦ, связанным с износом машин и оборудования, с отсутствием непосредственного контроля производства на протяжении всего жизненного цикла продукции, в северных регионах возникает также проблема логистики [9]. В условиях Крайнего Севера для транспортного сообщения используются морской, речной, железнодорожный и воздушный виды транспорта. Однако доставка груза до нужного пункта зачастую возможна исключительно при помощи автотранспорта. Зимние дороги, известные как «дороги жизни», составляют от трети до половины всех автомобильных путей в зависимости от региона [10]. Так, в частности, для Республики Саха (Якутия) протяженность автозимников составляет свыше 20 тысяч километров [11]. Не менее важны и ледовые переправы, которые совместно с зимниками обеспечивают связь с большой землей. В ХМАО, Якутии, Чукотском АО от 56 до 80% населенных пунктов не имеют круглогодичного выхода на дороги с твердым покрытием, поэтому поддержание высоких эксплуатационных характеристик временных дорог является краеугольной задачей [12]. Необходимо отметить, что применение автоперевозок значительно затруднено географическими особенностями регионов [13,14]. В первую очередь это связано с тем, что зимники и ледовые переправы, будучи сезонными дорогами, становятся непригодными к использованию большую часть года. Так, в Якутии ледовые

переправы могут эксплуатироваться с 15 ноября по 15 апреля, паромные переправы — с 15 июня по 30 сентября, то есть от трех до четырех месяцев в году большая часть территории республики остается без транспортного обеспечения. В связи с этим даже незначительное продление сроков работы ледовых переправ является жизненной необходимости для северных и арктических территорий. При этом, как правило, преждевременное закрытие автозимников обусловлено не полным отеплением и выходом их из строя, а локальным (точечным) разрушением, связанным с утончением и повреждением льда отдельных проблемных участков дороги, в первую очередь переправ через многочисленные реки и т. д. [15,16]. Разработка технологий упрочнения ледового покрытия, основанных на управлении процессами тепло-массообмена, может значительно увеличить продолжительность эксплуатации зимников и решить важнейшую задачу поддержания логистики всего Крайнего Севера. Целью представленной статьи является обзор традиционных способов увеличения прочностных характеристик автозимников и ледовых переправ, а также анализ современных научных разработок в области упрочнения ледовых структур, которые в совокупности могли бы вывести на принципиально новый уровень задачу использования водного льда в качестве полноценного конструкционного материала. Особую актуальность представляет обзор современных отечественных технологий упрочнения ледового массива как стратегически важного направления поддержания логистики северных регионов и арктической зоны РФ.

## 2. Материалы и методы

Объектами изучения являлись нормативные документы и научные публикации российских и зарубежных авторов в области создания и разработки современных способов упрочнения ледового покрытия и материалов для армирования на основе синтетических и природных компонентов. На платформах eLibrary.ru, Scopus, ResearchGate и в открытых интернет-источниках был проведен поиск публикаций с использованием нескольких комбинаций ключевых слов, включая следующие: непрерывная холодильная цепь, химическое модифицирование льда, армирование льда, автозимник, северные регионы, физико-механические свойства льда. Статьи, написанные не на английском и русском языках, а также без полнотекстовой информации, не рассматривались. Из подобранных материалов также были исключены статьи, не относящиеся к теме настоящего обзора.

## 3. Современное состояние проблемы

На протяжении долгого времени жители северных стран использовали водный лед в качестве удобного и доступного материала для создания различных оборонительных и хозяйственных сооружений. Столетия назад водный лед применялся в качестве материала для создания временных фортификационных сооружений, жилых помещений, иглу, холодных складов изо льда и мерзлого грунта [17]. Исторически самое широкое распространение получили сооружения дорожно-транспортной инфраструктуры — зимники и ледовые переправы [18]. Зимники на протяжении веков использовались в качестве удобных транспортных артерий, связывающих населенные пункты северных регионов между собой [19]. Однако до настоящего времени основными препятствиями, ограничивающими применение водного льда в качестве полноценного конструкционного материала, были и остаются его недостаточная прочность и высокая хрупкость. Традиционно зимники изготавливают послойным наращиванием дорожного полотна.

Для создания автозимников применяют различные виды спецтехники: снегоочистители, вездеходы, снегогладилки, а также машины для уплотнения и разравнивания дороги. Ключевой задачей является наращивание поверхности снеголедового полотна для обеспечения необходимой толщины, при которой создаваемый участок дороги был бы выше окружающего снежного покрова. Затем со снегосборных полос на полотно дороги набрасывают снег, который в дальнейшем уплотняют [20].

При этом существенными недостатками данной технологии является низкая прочность получаемого массива, а также малая продолжительность эксплуатации подобных дорог. Для укрепления покрытия зимника его орошают водой, создавая периодически обновляемую ледяную корку, но и это не исправляет ситуацию в целом [21].

Ледовая переправа представляет собой дорогу, проложенную по ледяному покрову замерзшей реки и являющуюся участком автозимника. Одна из особенностей ледовых переправ — непостоянная толщина льда, которая требует тщательного контроля. Оценку состояния переправы проводят при помощи георадиолокационных измерений [22], подтверждаемых контрольным бурением лунок.

На сегодняшний день в России практика создания сезонных ледовых переправ и автозимников остается безальтернативной на огромных территориях Арктической зоны РФ. Введен стандарт, устанавливающий технические правила устройства и содержания зимних автомобильных дорог и ледовых переправ ГОСТ Р 58948–2020<sup>1</sup>. Применение стандарта дополняется рекомендациями ОДМ 218.4.030–2016<sup>2</sup> и ОДН 218.4.010–98<sup>3</sup>.

Вместе с тем следует отметить, что представленные в указанных документах технические решения по укреплению ледовых переправ не менялись десятилетиями, они чрезвычайно сложны, громоздки и трудоемки. При этом в качестве укрепляющих (армирующих) элементов рекомендуется использовать ветки деревьев, доски, металлоконструкции и пр. [23–27]. Однако современные исследования уже позволяют сформулировать перечень основных критериев, в которых собственная прочность и жесткость арматуры далеко не всегда способствует упрочнению льда и усилию несущей способности создаваемых ледовых покрытий.

Исследованию эффективности применения различных армирующих материалов для упрочнения льда (от стальной арматуры [28] до синтетических волокон и сеток [29–35]) посвящено большое число публикаций. Отмечается, что использование армирующих волокон не только усиливает ледовый покров, но и способствует купированию возникающих трещин.

Армирование ледового массива с помощью различных конструктивных элементов и химических соединений в ряде работ [36,37] условно подразделяется на микроармирование и макроармирование.

1. Микроармирование представляет собой улучшение прочностных характеристик льда и наиболее слабых компонентов мерзлых грунтов путем смешивания льда с различными соединениями или дискретной фазой, предназначенн

ыми для купирования возникающих трещин. В результате данного процесса получается однородная композиционная структура. В качестве микроармирующих материалов используются различные водорастворимые полимеры, волокна и дисперсные частицы.

Ледяные и льдогрунтовые композиты, улучшенные макроармированием, авторы [38] подразделяют на две группы:

- композиты, состоящие из непрерывной фазы (льда) и дисперсной фазы: частиц, солевых карманов, воздушных включений и пр.;
- композиты, включающие различные волокнистые наполнители (полимерные цепочки, дисперсные волокна и др.).

Относительное упрочнение льда при использовании дискретной фазы вместе со структурирующими соединениями в оптимальных концентрациях, по данным открытых источников, может достигать значений свыше 9 раз [39].

2. Макроармирование предполагает применение различных протяженных материалов: сеток, полотен, стальных канатов бревен, различного рода дополнительных конструктивных элементов.

С позиции описанной классификации протяженные волокна могут быть одновременно отнесены к обоим видам армирования, однако нам представляется более логичным отнести их к макроармированию, так как их использование обеспечивает связность всей конструкции и сохранение целостности всего ледового объекта даже при частичном разрушении льда.

В работах [40,41] описываются наиболее современные конструкции из пайкерита, ледяных и льдогрунтовых композитов. В 2014–2015 гг. в Финляндии были построены сооружения из пайкерита, а в 2016 г. — из армированного целлюлозой льда. Приведены определенные экспериментальным путем режимные параметры дождевания водяной пульпы с получением пайкерита повышенной прочности. Рекомендуемое содержание опилок составляло 10%. Характерный размер опилок ограничивался 2 мм в связи с тем, что мелкие частицы равномернее распределяются в объеме в процессе создания пайкерита. В работе [42] представлены результаты лабораторных исследований прочности образцов льда, армированных отходами деревообработки (опилом и стружкой), на растяжение и изгиб. Образцы размером 100×100×400 мм изо льда были изготовлены при помощи послойного намораживания (2 см на слой) на температурном уровне минус 16 °C с добавлением опилок, древесных стружек. В результате исследования было установлено, что наибольшее увеличение прочности в сравнении с образцами без армирования (контрольная группа) достигалось в процессе применения древесной стружки. Экологичность, доступность и простота внесения материала в лед позволяет авторам работы рекомендовать данный вид армирования для строительства различных наземных ледовых объектов.

Необходимость совершенствования технологий строительства ледовых переправ обусловила более широкое внедрение в практику методов упрочнения льда с использованием геосинтетических сеток, изготавляемых из различных видов синтетического волокна [31,32,43–47]. В работах [31,32] описано формирование экспериментальной ледовой переправы и представлены результаты ее практической апробации. В публикациях рассмотрена система размещения и фиксации сеток, эксплуатации и удаления их перед наступлением теплых периодов года. Отмечается, что впервые были армированы не только непосредственно ледовая поверхность переправы, но и наиболее слабые места — стыки ледяной плиты с береговой зоной (Рисунок 1 и Рисунок 2).

<sup>1</sup> ГОСТ Р 58948–2020 «Дороги автомобильные общего пользования. Дороги автомобильные зимние и ледовые переправы. Технические правила устройства и содержания». Москва, Стандартинформ, 2020. — 54 с.

<sup>2</sup> ОДМ 218.4.030–2016. Отраслевой дорожный методический документ. Методические рекомендации по оценке грузоподъемности ледовых переправ. Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/456055369> Дата доступа: 15.03.2023

<sup>3</sup> ОДН 218.010–98. Отраслевые дорожные нормы. Инструкция по проектированию, строительству и эксплуатации ледовых переправ. Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/1200029712> Дата доступа: 15.03.2023



**Рисунок 1. Погружение геокомпозита в «майну» и протаскивание его подо льдом капроновыми тросами («нижнее» армирование)**

Figure 1. Immersion of the synthetic geocomposite mesh into the ice hole and its dragging under the ice with nylon cables (“lower” reinforcement)

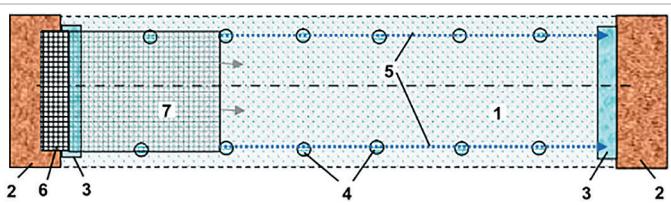
Однако до настоящего времени фактором, препятствующим широкому внедрению описанной технологии, является недостаточное адгезионное сцепление со льдом промышленно выпускаемых геосеток в связи с их гидрофобностью. Предварительная пропитка волокон гидрофобным связующим составом («замасливание») осуществляется с целью упрощения процесса производства сеточного полотна, так как исходные волокна представляют собой пучки фибрill, достаточно легко спутывающихся. Таким образом, искусственная гидрофобизация волокон при производстве сеток существенно снижает эффект упрочнения ледового покрытия в связи с отсутствием необходимой силы адгезии с ледовой матрицей и требует разработки новых методов их производства. Поэтому особое внимание при выборе армирующих элементов должно уделяться их адгезионной способности к ледовой матрице, что свойственно материалам, обладающим высокой гидрофильтрностью. В противном случае, можно наблюдать эффект расслаивания композитного материала, что приводит к его разрушению даже при незначительных нагрузках (Рисунок 3).



**Рисунок 3. Результаты прочностных испытаний на изгиб: а) армированного заводской базальтовой сеткой, пропитанной гидрофобным связующим составом; б) армированного базальтовыми волокнами без пропитки [48]**

Figure 3. Results of bending strength tests: a) ice reinforced with a factory-made basalt mesh impregnated with a hydrophobic binder; b) ice reinforced with basalt fibers without hydrophobic binder impregnation [48]

Важнейшим достоинством армирующих материалов является сокращение времени намораживания ледового слоя, требуемого для безопасного передвижения транспортных средств на ледовых переправах. В частности, в работе [49] представлен расчет длительности намораживания ледовой переправы с применением армирующих материалов. Показано, что на температурном уровне минус 15 °C для обеспечения безопасного проезда 40-тонных колесных автомобилей длительность намораживания сокращается на 44 дня.



**Рисунок 2. Схема, иллюстрирующая способ «нижнего» армирования ледового покрова: 1 – естественный ледовый покров; 2 – берега; 3 – «майны» во льду для подачи и приема армирующего полотна; 4 – лунки для протягивания тросов 5 подо льдом; 6 – рулон геосинтетического материала; 7 – полотно геосинтетики, протаскиваемое тросами подо льдом [31]**

Figure 2. Schematic sketch of the “lower” reinforcement method of the ice cover: 1 – natural ice cover; 2 – coast; 3 – ice holes for submerging and receiving the reinforcement mesh; 4 – holes for pulling cables 5 under the ice; 6 – a roll of geosynthetic mesh material; 7 – geosynthetic mesh dragged by cables under the ice [31]

Несмотря на значительное разнообразие исследований, представленных в литературе, на сегодняшний день отсутствует единый и универсальный подход к выбору современных, обладающих наибольшим средством с ледовой матрицей материалов для создания автозимников.

#### 4. Авторские разработки в области создания конструкционных материалов на основе водного льда

Важным направлением в области упрочнения конструкционных материалов на основе водного льда является применение армирования совместно с внесением высокомолекулярных модифицирующих соединений [50,51]. Ледовые модификаторы нашли широкое применение в различных видах зимнего спорта: в хоккее, фигурном катании, шорт треке, бобслее и др. Особую значимость успешное апробирование модификаторов имеет на санно-бобслейных трассах, где ледовое покрытие подвергается наиболее агрессивным разрушающим нагрузкам, не только соизмеримым, но и превышающим нагрузку на ледовое покрытие от колес грузового автотранспорта. Это объясняется существенным весом бобов со спортсменами, малой площадью контакта полоза со льдом и скоростью прохождения трассы, достигающей 150 км/ч (Рисунок 4) [52].

Применение модификаторов на ледовых объектах позволяет значительно повысить прочность льда, что открывает дополнительные перспективы при проектировании автозимников и ледовых переправ [53].

Ледовые модификаторы, применяемые на объектах с искусственным хладоснабжением, должны соответствовать следующим критериям:

- экологическая чистота и безопасность для организма человека;
- химическая инертность;
- низкая температура кристаллизации или «стеклования»;
- гибкость молекулярной цепи, определяющая способность макромолекулы к изменению формы и линейных размеров без разрыва жестких валентных связей полимерной цепи;
- высокая молекулярная масса полимера;
- подобие выбираемых соединений структуре природных биополимеров.

Для северных регионов России в процессе проектирования сооружений на основе водного льда с добавлением ледовых модификаторов необходимо добавить еще три дополнительных критерия:

1. Минимальная вязкость модификатора, изменяющаяся незначительно вплоть до температурного уровня



А



Б

**Рисунок 4. Ледовое полотно санно-бобслейной трассы:  
а) без внесения модифицирующих соединений; б) с добавлением модификаторов**  
Figure 4. Ice coverage of the bobsleigh track; a) without the modifying compounds; b) with the ice modifiers added

минус 70 °C, что способствует более равномерному распределению модифицирующего соединения в объеме заливаемой воды. В связи с этим облегчается процесс дальнейшего перераспределения модификатора при эксплуатации ледового объекта.

2. Модификатор должен включать как поверхностно активные (ПАВ), так и поверхностно инактивные (ПИВ) соединения, молекулы которых взаимодействуют с водой сильнее, чем молекулы воды между собой, и увлекаются в глубину разлитого слоя.
3. Возможность направленного увеличения или снижения фрикционного взаимодействия со льдом. Увеличение фрикционного взаимодействия необходимо для повышения управляемости транспортных средств на модифицированном ледовом покрытии, а также для снижения тормозного пути, в частности, самолетов при посадке. Уменьшение фрикционного взаимодействия может быть необходимо для снижения трения при использовании лыж или полозьев для транспортировки грузов или для ослабления интенсивности воздействия судна на пристай.

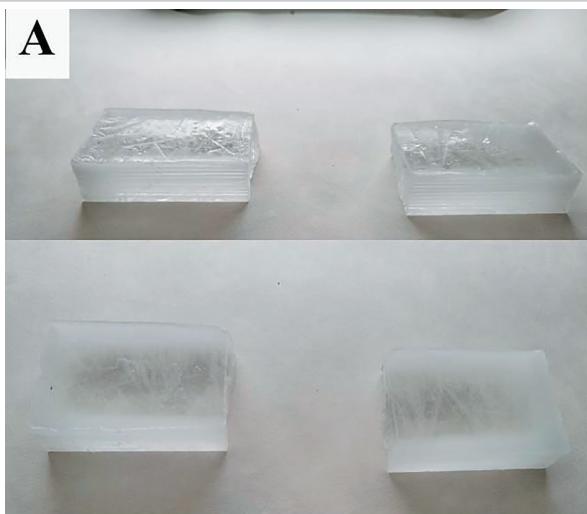
На основе современных исследований, проводимых совместно с МГТУ им. Баумана и ВНИХИ, были сформированы критерии отбора армирующих материалов, в наибольшей степени способствующих увеличению несущей способности ледовых конструкций в условиях Крайнего Севера [54]:

- максимально возможное отношение смоченной площади элементов армирования к их общей массе;
- высокий показатель собственной прочности материала армирования;
- максимально возможная адгезия армирующих элементов к ледовой матрице;
- существенное превышение длиной армирующих элементов их ширины и высоты;
- жесткость армирующего материала, не превышающая жесткость ледовой матрицы.

Также были проведены исследовательские работы по созданию конструкционных материалов на основе водного льда с учетом всех перечисленных критерии. Задачами данной работы являлись:

1. Подбор оптимального состава и концентраций высокомолекулярных модификаторов;
2. Подбор и оптимизация армирующего материала и его геометрических характеристик;
3. Обеспечение максимальной адгезии между льдом и армирующим материалом.

Были проведены экспериментальные исследования ледовых образцов, намороженных с использованием модифицирующих соединений и армированных базальтовыми волокнами (Рисунок 5). Они подтвердили эффективность предложенных методов воздействия на физико-механические свойства водного льда.



А



Б

**Рисунок 5. Исследуемые ледовые образцы после испытаний:  
а) образец из дистиллированной воды; б) образец с модифицирующими компонентами и армированием**  
Figure 5. The analyzed ice samples after tests exposure:  
a) sample of ice made from distilled water; b) sample of ice made with reinforcement fibers and modifying components

Как видно из представленного изображения, совместное применение армирования и ледовых модификаторов (Рисунок 5б) позволило ледовому образцу сохранить свою целостность даже при значительной деформации, образцы можно согнуть под углом 120 градусов, а в некоторых случаях — до 90 градусов. Внесение модификаторов купирует развитие трещин в образце благодаря появлению демпфирующей субстанции в межкристаллическом пространстве, а волокна способствуют сохранению целостности образца даже после частичного разрушения, в отличие от образцов на основе дистиллированной воды (Рисунок 5а). Это особенно важно при эксплуатации ледовых переправ, на которых разрушение ледового полотна приводит к наиболее тяжелым последствиям, человеческим жертвам и потерям автотранспорта.

В исследованиях последних лет [55] было также установлено, что прочностные свойства ледовых покрытий, формируемых за счет естественного холода, зависят также от третьего фактора — режимных параметров намораживания, включающих в первую очередь температуру разливаемой воды, толщину единичного слоя и периодичность проведения заливок. От сочетания этих параметров зависит эпюра распределения вносимых в лед модифицирующих соединений и, как следствие, прочностные свойства создаваемого ледового массива. В указанных работах представлен алгоритм определения оптимальных режимных параметров, а также численная модель их расчета в зависимости от изменения тепло-влажностных условий окружающей среды.

Авторами [48] установлено, что применение модифицирующих соединений и армирующих волокон при структурировании ледовых образцов привело к увеличению несущей способности льда до 10-кратного размера; деформация усилилась в 15–20 раз (до 2000%) до разрушения образца, в 100–150 раз возросла работа разрушения образца (Рисунок 6).

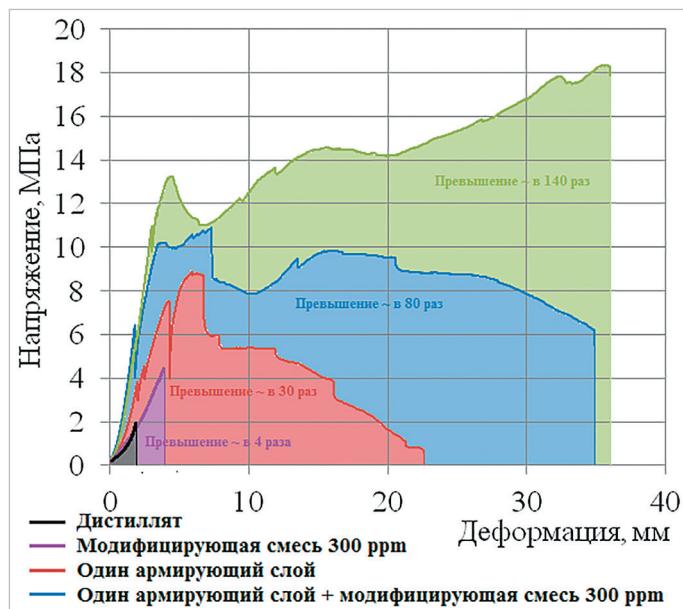


Рисунок 6. Диаграмма напряжение–деформация

для различных видов ледовых образцов [48]

Figure 6. Stress-deformation diagram for various types of ice samples [48]

Полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале использования армирования совместно с внесением химических модификаторов и оптимальной настройкой процесса намораживания ледовых массивов при создании

различных объектов, включая сезонные дороги, ледовые переправы и хозяйствственные сооружения. Это позволит значительно увеличить срок безопасной эксплуатации таких объектов.

Немаловажным фактором является экологическая безопасность применения модифицирующих веществ и армирования. Внесение химических модификаторов в мицродозах не представляет опасности для флоры и фауны; рекомендуемые виды волоконных материалов, в частности, базальтовые волокна, имеют природное происхождение, а геосинтетические материалы не содержат опасных химических веществ, не разлагаются под воздействием тепла и влаги, а также не вступают в реакции с кислотами и щелочами. После эксплуатации зимников и ледовых переправ проводится сбор геосинтетического материала, неповрежденную часть которого возможно задействовать повторно.

Использование в различных сочетаниях представленных методов наиболее перспективно для применения в рамках поддержания НХЦ в северных регионах:

Создание временных ледовых сооружений на основе надувных конструкций или жестких элементов (Рисунок 7) [56]. Подобные быстровозводимые сооружения могут быть использованы в качестве хранилищ пищевой продукции или же в виде различных инженерных объектов, а также распределительных пунктов.



Рисунок 7. Создание ледовых куполообразных конструкций с использованием надувной опалубки [56]

Figure 7. Creation of ice dome structures with the help of inflatable formwork [56]

Увеличение продолжительности эксплуатации и повышение прочностных характеристик автозимников, ледовых переправ и взлетно-посадочных полос в условиях Крайнего Севера.

## 5. Заключение

В результате проведенного обзора подтверждена актуальность и востребованность современных технологий упрочнения льда при создании автозимников и ледовых переправ. В настоящем обзоре представлены различные подходы к упрочнению льда и показано, что применение современных научных разработок открывает принципиально

новые возможности для использования композиционного материала на основе водного льда в качестве полноценного строительного материала для северных регионов РФ. Важным аспектом является необходимость разработки технологии получения гидрофильтрных материалов для обеспечения максимальной адгезии с ледовой матрицей, что позволяет значительно повышать прочность и препятствует расслоению сформированного ледового массива. Наибольшие

перспективы имеет совместное использование всех трех факторов, способствующих упрочнению льда: внесение модифицирующих соединений, армирование и оптимизация режимных параметров структурирования ледовых покрытий. Очевидно, что спектр применения описанных разработок будет расширяться, а совершенствование технологий комплексного упрочнения льда является предметом дальнейших исследований.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Добромиров, В. Н., Фомин, К. И., Мейке, У. Н. (17 ноября 2021). Оценка разрушающего воздействия строительных самосвалов на опорную поверхность автозимников. Материалы международной научно-практической он-лайн конференции: Арктика: инновационные технологии, кадры, туризм. Воронеж, Россия, 2021.
- Невзоров, В. Н., Мацкевич, И. В., Тепляшин, В. Н. (24–29 апреля 2019). Формирование транспортно-логистической схемы доставки продукции убоя оленей из Красноярского края. Материалы XIV Международной научно-практической конференции: Логистика-Евразийский мост. Красноярск, Россия, 2019.
- Шапкина, А. М., Забелин, М. М. (2017). Промысловое оленеводство Таймыра: состояние и перспективы развития. *Достижения науки и техники АПК*, 31(9), 39–47.
- Ляпustin, С. Н., Барей, Н. С. (2022) Об особенностях государственного контроля за соблюдением запретов и ограничений при экспорте продукции дикого северного оленя (*Rangifer tarandus*). *Таможенная политика России на Дальнем Востоке*, 1(98), 51–65. <https://doi.org/10.24412/1815-0683-2022-1-51-65>
- Максимов, А. А. (2019) Глубокая переработка продуктов оленеводства: возможности и направления развития. *Известия Коми научного центра УрО РАН*, 4(40), 110–118. <https://doi.org/10.19110/1994-5655-2019-4-110-118>
- Иванов, В. А. (2021). Состояние и направление развития сельской экономики Республики Коми. *Вестник института экономических исследований*, 2 (22), 29–37.
- Белозеров, Г. А. (2012). Непрерывная холодильная цепь. *Мясные технологии*, 5(113), 26–28.
- Белозеров, Г. А., Андреев, С. П. (2013). Принципы формирования непрерывных холодильных цепей. *Мясные технологии*, 7(127), 26–28.
- Слободчиков, Н. А. (31 мая – 04 апреля 2021). Проблемы организации температурного контроля при перевозке режимных грузов. Материалы XXIV Международной научной конференции: Волновая электроника и инфокоммуникационные системы. Санкт-Петербург, Россия, 2021.
- Полещкина, И. О. (2018). Оценка эффективности продовольственного обеспечения районов Крайнего Севера России. *Экономика региона*, 14(3), 820–835. <https://doi.org/10.17059/2018-3-10>
- Григорьев, С. И. (2016). Автомобильные дороги Республики Саха (Якутия). *Молодой учёный*, 30(134), 47–50.
- Якименко, О. В. (2015). Армирование ледовых переправ. *Техника и технологии строительства*, 2(2), 68–73.
- Федоров, С. А. (2020). Увеличение длительности эксплуатации автозимников (по материалам, собранным в Республике Саха (Якутия)). Международная научно-практическая конференция: «Дальний Восток: проблемы развития архитектурно-строительного комплекса». Хабаровск: Тихоокеанский государственный университет, 2020.
- Нокелайнен, Т. С. (2021). *Картографирование сезонной автотранспортной доступности Арктического региона России*. Международная конференция ИнтерКарто. ИнтерГИС. Москва: МГУ, факультете географии, 2021. <https://doi.org/10.35595/2414-9179-2021-2-27-102-113>
- Masterson, D. M. (2009). State of the art of ice bearing capacity and ice construction. *Cold Regions Science and Technology*, 58(3), 99–112. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2009.04.002>
- Doudkin, M., Kim, A., Guryanov, G., Eleukenov, M., Bugaev, A., Rogovsky, V. et al. (2019). Process modeling and experimental verification of the conditions of ice coverage destruction of automobile roads. *Journal of Mechanical Engineering Research and Developments*, 42(4), 1–8.
- Бузник, В. М., Пророкова, Н. П. (2020). Лед – планетарное и человеческое измерение. *Физика волокнистых материалов: структура, свойства, научные технологии и материалы (SMARTEX)*, 1, 171–176. [https://doi.org/10.47367/2413-6514\\_2020\\_1\\_171](https://doi.org/10.47367/2413-6514_2020_1_171)
- Сулейманов, А. А. (2022). Автомобильные зимники в транспортной системе Якутии в начале 1930–1991 годов. *Научный диалог*, 11(7), 467–482. <https://doi.org/10.24224/2227-1295-2022-11-7-467-482>
- Сулейманов, А. А. (2019). «Ресурсы холода» в транспортной системе Якутии. Конец XIX – нач. XXI вв. *Традиционные национально-культурные и духовные ценности как фундамент инновационного развития России*, 1(15), 60–64.
- Давыдов, Н. В., Райшев, Д. В. (14 апреля 2010). Классификация армирующих материалов для строительства зимников. Материалы международной научно-технической конференции: Транспортные и транспортно-технологические системы. Тюмень, Россия, 2010.
- Скрипченко, Е. А., Игнатова, О. А. (21 мая 2021). Особенности устройства зимних дорог и переправ. Материалы III Международной научно-технической конференции: Автомобили, транспортные системы и процессы: настоящее, прошлое и будущее. Курск: Юго-Западный государственный университет, 2021.
- Федорова, Л. Л., Омельяненко, А. В., Федоров, М. П., Саввин, Д. В. (2015). Результаты экспериментальных георадиолокационных обследований ледовых переправ и автомобильных дорог Якутии. *Наука и образование*, 1(77), 61–65.
- Charlebois, L., Barrette, P. (August 18–22, 2019). *Ice reinforcement: Selection criteria for winter road applications and outcomes of preliminary testing*. Proceedings of 18th International Conference on Cold Regions Engineering and 8th Canadian Permafrost Conference. Quebec, Canada, 2019. <https://doi.org/10.1061/9780784482599.014>
- Ипатов, К. И., Васильев, А. С., Земляк, В. Л. (2019). Исследование влияния поверхностного армирования на несущую способность. *Вычислительная механика сплошных сред*, 12(1), 98–105. <https://doi.org/10.7242/1999-6691/2019.12.1.9>
- Тимофеева, М. Г. (2017). Использование «пайкерита» для армирования ледовых переправ. *Научно-практические исследования*, 4(4), 70–72.
- Лотышева, А. А., Якименко, О. В., Лунев, А. А. (25–26 ноября 2021). Экспериментальные исследования образцов льда армированного природными материалами. Материалы VI Международной научно-практической конференции: Архитектурно-строительный и дорожно-транспортный комплексы: проблемы, перспективы, инновации. Омск, Россия, 2021.
- Ипатов, К. И., Васильев, А. С., Земляк, В. Л., Лесков, Е. В. (2019). Несущая способность ледяного покрова при поверхностном армировании. *Вестник Инженерной школы Дальневосточного федерального университета*, 3(40), 3–12. <https://doi.org/10.24866/2227-6858/2019-3-1>
- Козин, В. М., Васильев, А. С., Земляк, В. Л., Ипатов К. И. (2019). Исследование предельного состояния ледяного покрова в условиях чистого изгиба при усилении армирующими элементами. *Вестник Томского государственного университета. Математика и механика*, 61, 61–69. <https://doi.org/10.17223/19988621/61/6>
- Васильев, Н. К., Иванов, А. А., Шаталина, И. Н. (2013). Методы упрочнения и армирования льда для конструкций гидротехнических сооружений из ледяных и льдогрунтовых композитов. *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Математика, механика, информатика*, 13(3), 31–37.
- Vasiliev, N. K., Gladkov, M. G. (June 16–19, 2003). *Ice composites: Mechanical properties and methods of creations*. Proceedings of the 17<sup>th</sup> International Conference on Port and Ocean Engineering under Arctic Conditions (POAC'03). Trondheim, Norway, 2003.
- Сиротюк, В. В., Якименко, О. В., Левашов, Г. М., Захаренко, А. А. (2015). Расширение опытно-производственного внедрения усиления ледового покрова геосинтетическими материалами. *Техника и технологии строительства*, 2(2), 58–68.
- Якименко, О. В., Сиротюк, В. В. (2014). Армирование ледовых переправ. *Криосфера земли*, 18(1), 88–91.
- Козин, В. М. (2022). Возможности увеличения прочности ледяного покрова путем его армирования. *Морские интеллектуальные технологии*, 2–1(56), 29–34. <https://doi.org/10.37220/МИТ.2022.56.2.003>
- Лесков, Е. В., Васильев, А. С., Родионов, С. В., Ипатов, К. Н., Земляк, В. Л. (2018). Исследование деформируемости ледовых переправ при поверхностном армировании композиционными материалами. *Вестник АмГУ*, 81, 19–24.
- Müller, W., Saathoff, F. (2015). Geosynthetics in geoenvironmental engineering. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16(3), Article 034605. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/3/034605>
- Lou, X., Wu, Y. (2021). Splitting tensile mechanical properties of plain ice and fiber reinforcement ice. *Cold Regions Science and Technology*, 192, Article 103381. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2021.103381>

37. Vasiliev, N. K., Pronk, A. D. C., Shatalina, I. N., Janssen, F. H. M. E., Houben, R. W. G., (2015). A review on the development of reinforced ice for use as a building material in cold regions. *Cold Regions Science and Technology*, 115, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2015.03.006>
38. Васильев, Н. К., Шаталина, И. Н. (2011). Методы армирования льда для создания ледяных и льдогрунтовых композитов. *Известия Всероссийского научно-исследовательского института гидротехники им. Б. Е. Веденеева*, 264, 119–129.
39. Патент № 1649418. Способ получения искусственного льда / Рогожин, С. В., Чеверев, В. Г., Вайннерман, Е. С., Гагарин, В. Е., Лозинский, В. И., Торбин, В. В., и др. Опубл. 15.05.1991. Бюлл. № 18.
40. Павлов, В. В., Гайдулин, Р. О. (2015). Использование льда в строительстве. Новая наука: теоретический и практический взгляд, 6 (1), 36–39.
41. Васильев, Н. К., Пронк, А. Д. С. (2015). Ледяные и льдогрунтовые композиты как строительные материалы в ледяных сооружениях. *Известия Всероссийского научно-исследовательского института гидротехники им. Б. Е. Веденеева*, 277, 35–45.
42. Лотышева, А. А., Лунев, А. А., Якименко, О. В. (2022). Экспериментальные исследования образцов льда армированного отходами деревообрабатывающего производства. Материалы V Национальной научно-практической конференции: Образование. Транспорт. Инновации. Строительство. Омск, Россия, 2022.
43. Трапезников, А. А., Бартоломей, И. Л. (2019). Использование геосинтетических материалов при устройстве ездового полотна ледовых переправ. *Химия. Экология. Урбанистика*, 2, 192–196.
44. Карпунин, А. А., Шабуров, С. С. (2016). Использование геосинтетических материалов при сооружении и эксплуатации ледовых переправ в Иркутской области. *Известия вузов. Инвестиции. Строительство. Недвижимость*, 4(19), 113–121.
45. Karpushko, M. O., Bartolomei, I. L., Karpushko, E. N., Zhidelev, A. V. (2020). Reinforcement of ice crossings with geosynthetic materials. *Materials Science Forum*, 992, 118–123. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.992.118>
46. Barette, P. D. (2020). Reinforcement of ice covers for transportation: beam and preliminary plate testing. Technical Report (National Research Council of Canada. Ocean, Coastal and River Engineering). <https://doi.org/10.4224/8894844>
47. Васильев, Н. К., Карапулина, М. М., Марченко, А. В., Сахаров, А. Н., Чистяков, П. В. (2015). Испытания консолей армированного морского льда. *Известия Всероссийского научно-исследовательского института гидротехники им. Б. Е. Веденеева*, 277, 46–55.
48. Buznik, V. M., Goncharova, G. Yu., Grinevich, D. V., Nuzhny, G. A., Razomasov, N. D., Turalin, D. O. (2022). Strengthening of ice with basalt materials, *Cold Regions Science and Technology*, 196, Article 103490. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2022.103490>
49. Сыромятникова, А. С., Федорова, Л. К. (2022). Перспективы применения ледяных композиционных материалов для строительства ледовых переправ. *Арктика: экология и экономика*, 12(2), 281–287. <https://doi.org/10.25283/2223-4594-2022-2-281-287>
50. Goncharova, G. Ю. (2007). Современные технологии создания ледового покрытия для различных видов спорта или ледовая гомеопатия. *Ходильная техника*, 7, 12–17.
51. Архаров, И. А., Goncharova, G. Ю. (2010). Экспериментальное исследование ледовых структур, модифицированных полимерами. *Ходильная техника*, 11, 46–50.
52. Goncharova, G. Ю., Razomasov, N. D., Umanский, В. Л. (2017). Новый подход к структурированию композиционных материалов на основе естественного льда применительно к ледокольным судам, шельфовым сооружениям и другим объектам арктической зоны. *Проблемы развития корабельного вооружения и судового радиоэлектронного оборудования*, 3(12), 29–34.
53. Goncharova, G. Yu., Razomasov, N. D., Borschey, G. V. (2021). Chemically modifying ice and ice-based materials to control their properties. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 55(5), 1045–1055. <https://doi.org/10.1134/S0040579521050055>
54. Разомасов, Н. Д. (2022). Исследование влияния холодильно-технологических режимов намораживания на физико-механические свойства водного льда. Автореф. дис. канд. техн. наук. Москва, МГТУ им. Н. Э. Баумана. – 17 с.
55. Goncharova, G. Yu., Stepanov, R. O., Razomasova, T. S., Korolev, I. A., Turalin, D. O., Kulagin, Yu. A. et al. (2021). A new method of strengthening of ice blocks formed under conditions of natural cold. *Russian Journal of General Chemistry*, 91(Supple 1), S34–S40, <https://doi.org/10.1134/S1070363221130351>
56. Pronk, A. D. C., Wu, Y., Luo, P., Li, Q., Liu, X., Brands, S. et al. (July 16–20, 2018). Design and construct of the 30.5 meter Flamenco Ice Tower. Proceedings of the IAASS Symposium 2018: Creativity in Structural Design. Boston, USA, 2018.

## REFERENCES

- Dobromirov, V. N., Fomin, K. I., Meike, U. N. (November 17, 2021). *Evaluation of the destructive impact of construction dump trucks on the support surface of auto-zimers*. Processing of the International Scientific and Practical Online Conference: Arctic: Innovative technologies, Personnel, Tourism. Voronezh, Russia, 2021. (In Russian)
- Nevzorov, V. N., Matskevich, I. V., Teplyashin, V. N. (April 24–29, 2019). *Formation of transport and logistics schemes of delivery of products of slaughter of reindeer of the Krasnoyarsk territory*. Processing of the XIV International Scientific and Practical Conference: Logistics – the Eurasian Bridge. Krasnoyarsk, Russia, 2019. (In Russian)
- Shapkina, A. M., Zabelin, M. M. (2017). Commercial reindeer-raising of taymyr: state and prospects of development. *Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*, 31(9), 39–47. (In Russian)
- Lyapustin, S. N., Barei, N. S. (2022). On the Peculiarities of State Control over the Observance of Prohibitions and Restrictions when Exporting Wild Reindeer (*Rangifer tarandus*) Products. *Customs policy of Russia on Long-Distance Production*, 1(98), 51–65. <https://doi.org/10.24412/1815-0683-2022-1-51-65> (In Russian)
- Maximov, A. F. (2019). Deep processing of reindeer husbandry products: opportunities and directions for development. *Proceedings of the Komi Scientific center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 4(40), 110–118. <https://doi.org/10.19110/1994-5655-2019-4-110-118> (In Russian)
- Ivanov, V. A. (2021). State and directions for development of the rural economy of the Komi Republic. *Herald of the Institute of Economic Research*, 2 (22), 29–37. (In Russian)
- Belozerov, G. A. (2012). Sustainable cold chain. *Meat Technologies*, 5(113), 26–28. (In Russian)
- Belozerov, G. A., Andreev, S. P. (2013). Principles of forming sustainable cold chains. *Meat Technologies*, 7(127), 26–28. (In Russian)
- Slobodchikov N. A. (31 May – 04 June, 2021). *Problems of temperature control during transportation of regime cargoes*. Proceedings of the XXIV international scientific conference: Wave electronics and info communication systems. Saint Petersburg, Russia, 2021. (In Russian)
- Poleshkina, I. O. (2018). Problems of food security in the regions of the far north of Russia. *Economy of Regions*, 14(3), 820–835. <https://doi.org/10.17059/2018-3-10> (In Russian)
- Grigoryev, S. I. (2016). Roads of the Republic of Sakha (Yakutia). *Young Scientist*, 30(134), 47–50. (In Russian)
- Yakimenko, O. V. (2015). Reinforcement of ice crossings. *Construction Techniques and Technologies*, 2(2), 68–73. (In Russian)
- Fedorov, S. A. (2020). Extended use duration ice-road ferries (according to materials collected in the Republic of Sakha (Yakutia)). Processing Scientific and Practical Conference: Far East: Problems of Development of Architectural and Construction Complex. Khabarovsk: Pacific State University, 2020. (In Russian)
- Nokelaynen, T. S. (2021). *Mapping of seasonal road transport accessibility in the Arctic region of Russia*. InterCarto. InterGIS, Proceedings of the International conference. Moscow: MSU, Faculty of Geography, 2021. <https://doi.org/10.35595/2414-9179-2021-2-27-102-113>. (In Russian)
- Masterson, D. M. (2009). State of the art of ice bearing capacity and ice construction. *Cold Regions Science and Technology*, 58(3), 99–112. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2009.04.002>
- Doudkin, M., Kim, A., Guryanov, G., Eleukenov, M., Bugaev, A., Rogovsky, V. et al. (2019). Process modeling and experimental verification of the conditions of ice coverage destruction of automobile roads. *Journal of Mechanical Engineering Research and Developments*, 42(4), 1–8.
- Bouznik, V. M., Prorokova, N. P. (2020). Ice – planetary and human contents. *Physics of Fibrous Materials: Structure, Properties, Science Intensive Technologies and Materials (SMARTEX)*, 1, 171–176. [https://doi.org/10.47367/2413-6514\\_2020\\_1\\_171](https://doi.org/10.47367/2413-6514_2020_1_171) (In Russian)
- Suleymanov, A. A. (2022). Automobile winter roads in transport system of Yakutia in early 1930–1991. *Nauchnyi Dialog*, 11(7), 467–482. <https://doi.org/10.24224/2227-1295-2022-11-7-467-482>. (In Russian)
- Suleymanov, A. A. (2019). “Resources of cold” in transport system of Yakutia. End of XIX – begin of XXI centuries. *Traditional National-Cultural and Spiritual Values Innovative Development Basis of Russia*, 1(15), 60–64. (In Russian)
- Davydov, N. V., Raishev, D. V. (April 14, 2010). *Classification of reinforcing materials for the construction of winter roads*. Materials of the International Scientific and Technical Conference: Transport and transport-technological systems. Tyumen, Russia, 2010. (In Russian)
- Skripchenko, E. A., Ignatova, O. A. (21 May, 2021). *Features of winter roads and crossings*. Proceedings of 3rd International Scientific and Technical Conference: Automobiles, transport systems and processes: present, past and future. Kursk: Southwest State University 2021. (In Russian)
- Fedorova, L. L., Omelyanenko, A. V., Fedorov, M. P., Savvin D. V. (2015). Results of experimental georadar installations of ice crossings and highways of Yakutia. *Science and Education*, 1(77), 61–65. (In Russian)
- Charlebois, L., Barrette, P. (August 18–22, 2019). *Ice reinforcement: Selection criteria for winter road applications and outcomes of preliminary testing*. Proceedings of 18th International Conference on Cold Regions Engineering and 8th Canadian Permafrost Conference. Quebec: Canada, 2019. <https://doi.org/10.1061/9780784482599.014>
- Ipatov, K. I., Vasilyev, A. S., Zemlyak, V. L., (2019). Study of the influence of surface reinforcement on the bearing capacity of ice. *Computational Continuum Mechanics*, 12(1), 98–105. <https://doi.org/10.7242/1999-6691/2019.12.1.9> (In Russian)

25. Timofeeva, M. G. (2017). Use of "pykrete" for reinforcement of ice crossings. *Scientific and Practical Research*, 4(4), 70–72. (In Russian)
26. Lotysheva, A. A., Yakimenko, O. V., Lunev, A. A. (25–26 November, 2021). *Experimental studies of reinforced ice*. Proceedings of VI International Scientific and Practical Conference: Architectural, Construction and Road Transport Complexes: Problems, Prospects, Innovations. Omsk, Russia, 2021. (In Russian)
27. Ipatov, K. I., Vasilyev, A. S., Zemlyak, V. L., Leskov, E. V. (2019). Carrying capacities of the ice cover with surface reinforcement. *School of Engineering Bulletin*, 3(40), 3–12. <https://doi.org/10.24866/2227-6858/2019-3-1> (In Russian)
28. Kozin, V. M., Vasilyev, A. S., Zemlyak, V. L., Ipatov K. I. (2019). Research of the limiting state of ice cover under conditions of pure bending with reinforcement by reinforcing elements. *Tomsk State University Journal of Mathematics and Mechanics*, 61, 61–69. <https://doi.org/10.17223/19988621/61/6> (In Russian)
29. Vasilyev, N. K., Ivanov, A. A., Shatalina, I. N. (2013). Methods of hardening and reinforcing ice for structures of hydraulic structures from ice and ice-ground composites. *Bulletin of Novosibirsk State University. Series: Mathematics, Mechanics, Computer Science*, 13(3), 31–37. (In Russian)
30. Vasiliev, N. K., Gladkov, M. G. (16–19 June, 2003). Ice composites: Mechanical properties and methods of creation. Proceedings of the 17<sup>th</sup> International Conference on Port and Ocean Engineering under Arctic Conditions (POAC'03). Trondheim, Norway, 2003.
31. Sirotuk, V. V., Yakimenko, O. V., Levashov, G. M., Zakharenko, A. A. (2015). Extension of pilot-instant production implementation amplification of ice cover geosynthetics materials. *Construction Techniques and Technologies*, 2(2), 58–68. (In Russian)
32. Yakimenko, O. V., Sirotuk, V. V. (2014). Reinforcement of ice crossings. *Kriosfera Zemli*, 18(1), 88–91. (In Russian)
33. Kozin, V. M., (2022). The possibility of increasing the strength of the ice cover by reinforcing it. *Marine Intelligent Technologies*, 2–1(56). 29–34. <https://doi.org/10.37220/MIT.2022.56.2.003> (In Russian)
34. Leskov, E. V., Vasiliev, A. S., Rodionov, S. V., Ipatov, K. N., Zevlyak, V. L. (2018). Investigation of the deformability of ice ribs at surface mounting by composite materials. *Herald of AmSU*, 81, 19–24. (In Russian)
35. Müller, W., Saathoff, F. (2015). Geosynthetics in geoenvironmental engineering. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16(3), Article 034605. <http://dx.doi.org/10.1088/1468-6996/16/3/034605>
36. Lou, X., Wu, Y. (2021). Splitting tensile mechanical properties of plain ice and fiber reinforcement ice. *Cold Regions Science and Technology*, 192, Article 103581. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2021.103581>
37. Vasiliev, N. K., Pronk, A. D. C., Shatalina, I. N., Janssen, F. H. M. E., Houben, R. W. G. (2015). A review on the development of reinforced ice for use as a building material in cold regions. *Cold Regions Science and Technology*, 115, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2015.03.006>
38. Vasiliev, N. K., Shatalina, I. N. (2011). Methods of ice reinforcement to form ice and ice-earth composites. *Proceedings of the VNIIG*, 264, 119–129. (In Russian)
39. Rogozhin, S. V., Cheverev, V. G., Vainerman, E. S., Gagarin, V. E., Lozinskiy, V. I., Torbin, V. V. et al. Method for obtaining artificial ice. Patent RF, no. 1649418. 1991. (In Russian)
40. Pavlov V. V., Gubaidullin R. O. (2015) Use of ice in construction. New Science: Theoretical and Practical View, 6(1), 36–39. (in Russian)
41. Vasilyev, N. K., Pronk, A. D. C. (2015). Ice and ice-soil composites as construction materials in ice structures. *Proceedings of the VNIIG*, 277, 35–45. (In Russian)
42. Lotysheva, A. A., Lunev, A. A., Yakimenko, O. V. (2022). *Experimental studies of samples of ice reinforced with waste from woodworking production*. Processing V National Scientific and Practical Conference: Education. Transport. Innovation. Construction. Omsk, Russia, 2022. (In Russian)
43. Trapeznikov, A. A., Bartolomei, I. L. (2019). The use of geosynthetic materials in the device of the ice crossing. *Chemistry, Ecology, Urbanistics*, 2, 192–196. (In Russian)
44. Karpunin, A. A., Shaburov, S. S. (2016). Use of geosynthetic materials during the construction and exploitation of ice bridges in Irkutsk region. *Proceedings of Universities. Investment. Construction. Real Estate*, 4(19), 113–121. (In Russian)
45. Karpushko, M. O., Bartolomei, I. L., Karpushko, E. N., Zhidlev, A. V. (2020). Reinforcement of Ice Crossings with Geosynthetic Materials. *Materials Science Forum*, 992, 118–123. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.992.118>
46. Barette, P. D. (2020). Reinforcement of ice covers for transportation: beam and preliminary plate testing. Technical Report (National Research Council of Canada. Ocean, Coastal and River Engineering). <https://doi.org/10.4224/8894844>
47. Vasilyev, N. K., Karulina, M. M., Marchenko, A. V., Sakharov, A. N., Chistyakov, P. V. (2015). Testing of cantilevers of reinforced sea ice. *Proceedings of the VNIIG*, 277, 46–55. (In Russian)
48. Buznik, V. M., Goncharova, G. Yu., Grinevich, D. V., Nuzhny, G. A., Razomarov, N. D., Turalin, D. O. (2022). Strengthening of ice with basalt materials, *Cold Regions Science and Technology*, 196, Article 103490. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2022.103490>
49. Syromyatnikova, A. S., Fedorova, L. K. (2022). Prospects for the application of ice composite materials for the construction of ice crossings. *Arctic: Ecology and Economy*, 12(2), 281–287. <https://doi.org/10.25283/2223-4594-2022-2-281-287> (In Russian)
50. Goncharova, G. Yu. (2007). Modern technologies for creation of ice coating for different kinds of sports, or the ice homeopathy. *Kholodilnaya Tekhnika*, 7, 12–16. (In Russian)
51. Arkharov, I. A., Goncharova, G. Yu. (2010). Experimental investigation of ice structures modified by polymers. *Kholodilnaya Tekhnika*, 11, 46–50. (In Russian)
52. Goncharova, G. Yu., Razomasov, N. D., Umanskiy, V.L. (2017). A new approach to the structuring of composite materials based on natural ice in relation to icebreaking ships, offshore structures and other objects of the Arctic zone. *Problems of Development of Ship Armament and Shipborne Radio-Electronic Equipment*, 3(12), 29–34. (In Russian)
53. Goncharova, G. Yu., Razomasov, N. D., Borschew, G. V. (2021). Chemically modifying ice and ice-based materials to control their properties. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 55(5), 1045–1055. <https://doi.org/>
54. Razomasov, N. D. (2022). Research examination of refrigeration-technological modes of freezing physical and mechanical properties of water ice. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Technical Sciences. Moscow, Bauman University, 17 p. (In Russian)
55. Goncharova, G. Yu., Stepanov, R. O., Razomasova, T. S., Korolev, I. A., Turalin, D. O., Kulagin, Yu. A. et al. (2021). A new method of strengthening of ice blocks formed under conditions of natural cold. *Russian Journal of General Chemistry*, 91(Supple 1), S34–S40. <https://doi.org/10.1134/S1070363221130351>
56. Pronk, A. D. C., Wu, Y., Luo, P., Li, Q., Liu, X., Brands, S. et al. (July 16–20, 2018). Design and construct of the 30.5 meter Flamenco Ice Tower. Proceedings of the IASS Symposium 2018: Creativity in Structural Design. Boston, USA, 2018.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p><b>Гончарова Галина Юрьевна</b> — доктор технических наук, профессор, кафедра «Холодильная и криогенная техника, системы кондиционирования и жизнеобеспечения», Московский государственный технический университет имени Н. Э. Баумана 105005, Москва, 2-я Бауманская улица, 5/1 Заведующая лабораторией систем хладоснабжения и теплофизических измерений, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-985-233-49-31 E-mail: galinagoncharova@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4270-819X">https://orcid.org/0000-0003-4270-819X</a></p>	<p><b>Galina Y. Goncharova</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Department of “Refrigerating and Cryogenic Technology, Systems of Air Conditioning and Life Support”, Bauman Moscow State Technical University 5/1, Second Bauman str., 105005, Moscow, Russia Head of the Laboratory of Refrigeration Systems and Thermophysical Measurements, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostykova str., 127422, Moscow, Russia Tel.: +7-985-233-49-31 E-mail: galinagoncharova@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4270-819X">https://orcid.org/0000-0003-4270-819X</a></p>
<p><b>Борзов Сергей Сергеевич</b> — инженер, Московский государственный технический университет имени Н. Э. Баумана 105005, Москва, 2-я Бауманская улица, 5/1 Младший научный сотрудник, лаборатория систем хладоснабжения и теплофизических измерений, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-495-610-41-61 E-mail: donsb@bk.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4431-1815">https://orcid.org/0000-0003-4431-1815</a></p>	<p><b>Sergey S. Borzov</b>, Engineer, Bauman Moscow State Technical University 5/1, Second Bauman str., 105005, Moscow, Russia Junior Researcher, Laboratory of Refrigeration Systems and Thermophysical Measurements, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostykova str., 127422, Moscow, Russia Tel.: +7-495-610-41-61 E-mail: donsb@bk.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4431-1815">https://orcid.org/0000-0003-4431-1815</a></p>
<p><b>Борщев Георгий Владимирович</b> — младший научный сотрудник, лаборатория систем хладоснабжения и теплофизических измерений, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-495-610-41-61 E-mail: razorleaf.619@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8878-1571">https://orcid.org/0000-0002-8878-1571</a> * автор для контактов</p>	<p><b>Georgiy V. Borshchev</b>, Junior Researcher, Laboratory of Refrigeration Systems and Thermophysical Measurements, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostykova str., 127422, Moscow, Russia Tel.: +7-495-610-41-61 E-mail: razorleaf.619@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-8878-1571">https://orcid.org/0000-0002-8878-1571</a> * corresponding author</p>
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за пластификатор.	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/10.21323/2618-9771-2023-6-2-255-260>

Received 24.04.2023

Accepted in revised 22.06.2023

Accepted for publication 26.06.2023

© Nekrasov R. V., Bogolyubova N. V., Chabaev M. G., Ostrenko K. S., Rykov R. A., Semenova A. A., Nasonova V. V., 2023

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

Original scientific article

Open access

## ROLE OF FEED ADAPTOGENS IN FORMING THE CONCEPT OF ORGANIC PIG PRODUCTION

Roman V. Nekrasov<sup>1,\*</sup>, Nadezhda V. Bogolyubova<sup>1</sup>, Magomed G. Chabaev<sup>1</sup>,  
Konstantin S. Ostrenko<sup>1</sup>, Roman A. Rykov<sup>1</sup>, Anastasia A. Semenova<sup>2</sup>, Viktoriya V. Nasonova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Podolsk, Moscow Region, Russia

<sup>2</sup> V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

**KEY WORDS:**

*taxifolin, vitamins, stress, feeding method, animal adaptation, productivity, meat quality*

**ABSTRACT**

One of the priorities of the Strategy of scientific and technological development of the Russian Federation (approved by Presidential Decree № 642 of December 1, 2016) is the transition to a highly productive and environmentally friendly agriculture. Organic agriculture can help to ensure sufficient food for the population by 2050 and simultaneously reduce the impact of agriculture on the environment only if it is implemented as part of a system of agricultural production, which should provide the same volume and composition of products as in the baseline scenario. An important aspect of organic livestock production is to reduce the impact of stress factors on animals. A promising solution can be the use of natural biologically active substances with pronounced antioxidant properties. The action of natural bioflavonoids (Taxifolin) and also in a complex with vitamins on the organism of fattening pigs during the periods of stress of various etiology (climatic, fodder, social etc.) has been studied. A complex including vitamin C, vitamin E and Taxifolin has been developed. The provisions of the method of feeding pigs as a way to reduce the negative impact of stress factors on meat quality by means of the studied nutritional factor have been studied experimentally.

FUNDING: This research was implemented with the financial support of the Russian Science Foundation, project No. 19–16–00068-Р.

Поступила 24.04.2023

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

Поступила после рецензирования 22.06.2023

Научная статья

Принята в печать 26.06.2023

Open access

© Некрасов Р. В., Боголюбова Н. В., Чабаев М. Г., Остренко К. С.,  
Рыков Р. А., Семенова А. А., Насонова В. В., 2023

## РОЛЬ КОРМОВЫХ АДАПТОГЕНОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ КОНЦЕПЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКЦИИ СВИНОВОДСТВА

Некрасов Р. В.<sup>1</sup>, Боголюбова Н. В.<sup>1</sup>, Чабаев М. Г.<sup>1</sup>,  
Остренко К. С.<sup>1</sup>, Рыков Р. А.<sup>1</sup>, Семенова А. А.<sup>2</sup>, Насонова В. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени Академика Л. К. Эрнста,  
Подольск, Московская область, Россия

<sup>2</sup> Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

*таксифолин, витамины, стресс, способ кормления, адаптация животных, продуктивность, качество мяса*

**АННОТАЦИЯ**

Одним из приоритетов Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации (утверждена Указом Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 г. № 642) является переход к высокопродуктивному и экологически чистому агрохозяйству. Органическое сельское хозяйство может способствовать обеспечению достаточного количества продовольствия для населения к 2050 году и одновременному снижению воздействия сельского хозяйства на окружающую среду только в том случае, если оно будет реализовано в рамках системы сельскохозяйственного производства, которая должна обеспечивать те же объемы и состав продукции, что и при базовом сценарии. Важным аспектом получения органической животноводческой продукции является снижение воздействия факторов стресса на животных. Поэтому существует острая необходимость в разработке эффективных и устойчивых подходов к управлению для смягчения негативных последствий стрессов и повышения эффективности конверсии корма при получении свинины более высокого качества. Перспективным решением может быть применение природных биологически активных веществ с выраженным антиоксидантными свойствами, которые могут посредством стабилизации свободнорадикального окисления повышать адаптационные свойства организма к воздействию стресс-факторов среды. Изучено действие природных биофлавоноидов (таксифолина), а также в комплексе с витаминами на организм откармливаемых свиней в периоды стрессов различной этиологии (климатического, кормового, транспортного, социального и т. д.). Разработан комплекс, включающий витамин С, витамин Е, таксифолин. Экспериментальным путем изучены положения способа кормления свиней, как способа снижения негативного влияния стресс-факторов на качество мяса посредством изученного фактора питания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда грант № . 19–16–00068-П.

FOR CITATION: Nekrasov, R. V., Bogolyubova, N. V., Chabaev, M. G., Ostrenko, K. S., Rykov, R. A., Semenova, A. A., Nasonova, V. V. (2023). Role of feed adaptogens in forming the concept of organic pig production. *Food Systems*, 6(2), 255–260. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-255-260>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Некрасов, Р. В., Боголюбова, Н. В., Чабаев, М. Г., Остренко, К. С., Рыков, Р. А., Семенова, А. А., Насонова, В. В. (2023). Роль кормовых адаптогенов при формировании концепции органического производства продукции свиноводства. *Пищевые системы*, 6(2), 255–260. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-255-260>

## 1. Introduction

In the practice of animal husbandry and, in particular, pig breeding, there are stresses of different etiology associated with feeding and housing conditions, climatic conditions, physiological characteristics of the organism. Under chronic exposure to various stress situations there is an activation of free radical oxidation with simultaneous depletion of antioxidant protection. The body forms the syndrome of stress maladaptation, ketosis, hepatodystopia, autoimmune processes [1].

There are known studies on the use of various biologically active substances — adaptogens, in particular, antioxidants, trace elements, bioflavonoids, vitamins and other substances, in pig feeding. Vitamins are organic compounds necessary for normal life activity of organisms, some of them are simultaneously antioxidants.

It is known that antioxidants are added to feed or feed ingredients to inhibit lipid oxidation processes, the development of which can lead to changes in the chemical composition, nutritional and energy value of feed, the appearance of foreign flavors (rancidity, sedimentation), loss of important substances in the diet of animals, especially unsaturated fatty acids and several vitamins [2]. Vitamin E, Vitamin C and Se are effective antioxidants that help increase the antioxidant status of the body [3,4].

Fat-soluble vitamin E (D-alpha-tocopherol) is widely used in premixes for animals, but often its insufficient content in feed and stress loading of animals is not taken into account. Vitamin E is a universal protector of cell membranes and an effective immunomodulator that activates the immune system. Vitamin E is also important for the formation of catalase and peroxidase, which neutralize peroxides, which is necessary for adequate immune response of the body. The vitamin E action develops gradually over several weeks of intake, therefore vitamin E must be given as long term doses [5].

The oxidized form of vitamin E is reduced by Vitamin C, and Vitamin E can again perform the function of an antioxidant [6].

Water-soluble vitamin C (L-ascorbic acid), entering the animal's body with food, does not accumulate and is quickly eliminated from the organism. For this reason, its content in the body must be constantly replenished. As an antioxidant, ascorbic acid performs the biological functions of reducing agent and coenzyme of a number of metabolic processes. It is an important substance in the diet of animals, necessary for normal development and functioning of all body systems, including bone and connective tissue [7].

Vitamin C participates in biological redox reactions of the body, has antiradical properties, which causes inhibition of the process of peroxidation of proteins, lipids and other components of cells and their protection from damage, has membrane stabilizing and immunomodulatory effects [8].

It is known that polyphenols (flavonoids) have pronounced antioxidant properties, similar to vitamin E, such as protection from reactive oxygen species, chelation of metal ions and induction of antioxidant enzymes [9]. Our 2019–2021 studies showed that the use of adaptogens-bioflavonoids (in particular, Taxifolin) during periods of stress of various etiologies is reasonable [10,11,12,13].

However, the complete replacement of tocopherols in the diet with polyphenols is questionable. Polyphenols cannot replace the unique antioxidant function of vitamin E, which, due to its lipophilic structure, is embedded in biological membranes and effectively neutralizes fatty acid radicals and AFC [14].

Based on the analysis of information obtained from public sources, as well as the norms of using vitamins in feeding pigs [15], taking into account their synergistic effect on activation of antioxidant protection of the body, immunostimulation; as well as taking into account the previously obtained results of works,

a complex of biologically active substances including Taxifolin, Vitamin E and Vitamin C (TaxEC) was developed. The aim of the research was to study the effectiveness of using a new complex of biologically active substances to provide an antioxidant effect on pigs during the fattening period against the background of environmental stressors.

## 2. Materials and Methods

For the scientific experimentation 30 clinically healthy cross-bred castrated young boars (F-2:(LW × L) × D) were used. The age of piglets at the beginning of the experiment was 60 days. According to the principle analogue scale, the animals are divided into two groups, based on the body weight (Table 1).

Table 1. Experimental design

Таблица 1. Дизайн эксперимента

Groups	Number of animals	Feeding characteristics
1 Control (C)	15	Basic diet (BD)
2 Experimental (E)	15	BD + Feeding complex (Taxifolin with vitamins C and E, TaxEC)*

\* The composition of the additive is currently under registration. The experimental party contained Tax ("Ekostimul-2", JSC Ametis, Russia), vitamin E (INNOVIT E60, GC "MEGAMIKS", Russia), vitamin C (Tiger C35, "Anhui Tiger Biotech Co. Ltd.", China). The claim of the invention is stated in the application for the invention "Method of feeding young pigs during the feeding period" No. 2022129798/20(065177), filing date 17.11.2022.

The basis of diet was mixed fodder SK-4 (during pig growing), SK-5 (during 1st period of fattening) and SK-6 (during final fattening) (Table 2), balanced by nutrients and energy according to modern standards and recommended feeding regime [15]. TaxEC was fed with mixed fodder to pigs of the experimental group (0.25% of the feed composition).

The research was conducted in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123, Strasbourg, 1986). The research was approved by the bioethical commission of the L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry (Protocol No. 6, dated May 27, 2022).

The production area where the experiment was conducted had all necessary equipment, tools, and feed distribution system. All animals were kept under the same conditions and had free access to feed and water during the whole period of the experiment. The conditions of housing and care of the animals were identical.

When simulating environmental conditions, temperature ranged from 14.0 to 32.0 °C (in sections up to 33.0 °C), and relative humidity from 60 to 85%.

Growth rate of the experimental animals was monitored by individual weighing on electronic scales REUS-300 (Tenzosila LLC, Russia) before the experiment and then every 7 days until its end. Gross and average daily gains, as well as feed expenses per growth unit were calculated based on the results of weighing and feed consumption.

At the beginning (n=5), in the middle (n=5) of fattening and before slaughter (n=5) blood from the jugular veins was sampled in vacuum tubes. Serum was separated by centrifugation (3000 rpm for 15 min) and stored at -20 °C until analysis. Stress markers (glucose (GLU), triglycerides (TG), lactate dehydrogenase (LDG), creatine phosphokinase (CPK), aspartate aminotransferase (AST), were examined on a BioChemFC-360 automated analyzer (HTI, USA) according to the procedures enclosed with the reagents (HTI, USA). The antioxidant status of the blood was determined on the basis of the following parameters:

total antioxidant status (TAS) and total amount of water-soluble antioxidants (TAWSA) in blood by amperometric method on a Color-Yauza-01-AA device (NPO Khimavtomatika, Russia).

Control slaughter of pigs with determination of: body weight before slaughter, carcass weight, fat thickness (over spinous processes between 6th and 7th thoracic vertebrae, excluding the thickness of the skin, mm); slaughter yield (ratio of carcass weight to body weight before slaughter) was conducted in accordance with the "Rules of veterinary inspection of slaughter animals and veterinary and sanitary examination of meat and meat products". Meat quality indicators: determination of moisture-holding capacity (MHC) by Grau and Hamm pressing method with Volovinskaya modification; total amount of water-soluble antioxidants (TAWSA) — as per Tsvet-Yauza-01-AA (NPO Khimavtomatika, Russia) device by amperometric method.

Data were analyzed using a one-way ANOVA analysis of variance using STATISTICA statistical software (Version 13RU, StatSoft Inc., USA). Differences of  $p < 0.05$  were considered statistically significant, whereas a trend was considered when  $0.05 \leq p < 0.1$ .

### 3. Results

Against the background of feeding the TaxEC during the period of rearing, the ADG in group 2 were higher than in group 1 by 2.5% ( $p > 0.05$ ). At the same time, in the first week there was a tendency to better growth of animals in the experimental group ( $p < 0.10$ ). By simulating the conditions, the temperature optimum (18–20 °C) was exceeded to 32–33 °C during the first fattening period. On this background, the animals of

experimental group against the background of simulated high ambient temperature also showed the tendency ( $p=0.09$ ) to better growth — 1029,21 vs. 983,81 g in the control, or by 4,6%. During the 8th week of experiment, the growth of experimental group animals was reliably higher than the control values ( $p=0.03$ ), indicating the effectiveness of feeding TaxEC during the temperature stress. In the 2nd period of fattening, the animals showed similar growth parameters ( $p > 0.05$ ) — 945,85 g vs. 953,06 g in control, or lower by 0,8%. On the whole the gains during the experiment were 877,67 vs. 861,27 in the control, the animals of the control group were more exposed to the environment stress-factors during the fattening period, but later on they slightly improved their results.

Additional feeding of pigs with TaxEC resulted in the improvement of metabolic processes, first of all, it was reflected in the increase of antioxidant protection, better adaptability of animals to the conditions of temperature stress, which was characterized by the level of stress markers (Table 3).

Feeding TaxEC was effective already in the early periods of rearing and fattening, and further feeding led to the preservation of general antioxidant status and improved the formation of product characteristics (slaughter performance, meat quality) (Table 4).

Table 3. Blood serum indices of experimental animals ( $M \pm m$ )

Таблица 3. Показатели сыворотки крови экспериментальных животных ( $M \pm m$ )

Indicator	Groups		p-value
	C	E	
<b>The rearing period (n=5)</b>			
GLU, mmol/l	5,22 ± 0,24	5,40 ± 0,23	0,75
TG, mmol/l	0,17 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,43
LDH, U/l	207,21 ± 29,00	201,05 ± 27,48	0,93
CPK, U/l	815,18 ± 203,89	786,58 ± 98,89	0,94
AST, U/l	29,73 ± 0,66	28,67 ± 1,28	0,66
CREA, μmol/L	102,26 ± 1,99	110,04 ± 1,50 <sup>†</sup>	0,09
TAS, mmol/l	1,55 ± 0,05	1,39 ± 0,04*	<0.05
TAWSA, mg/l	19,01 ± 1,53	14,17 ± 1,05*	<0.05
<b>The 1<sup>st</sup> period of fattening (n=5)</b>			
GLU, mmol/l	5,67 ± 0,45	5,57 ± 1,02	0,96
TG, mmol/l	0,22 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,96
LDH, U/l	325,65 ± 27,39	187,82 ± 29,83 <sup>†</sup>	0,07
CPK, U/l	1845,67 ± 503,94	1573,54 ± 336,29	0,79
AST, U/l	35,94 ± 2,08	32,46 ± 3,08	0,58
CREA, μmol/L	129,19 ± 2,45	133,53 ± 2,22	0,44
TAS, mmol/l	1,47 ± 0,04	1,65 ± 0,08*	<0.05
TAWSA, mg/l	11,69 ± 0,93	12,99 ± 0,52	>0.05
<b>The 2<sup>nd</sup> period of fattening (n=5)</b>			
GLU, mmol/l	6,15 ± 0,14	5,95 ± 0,05	0,44
TG, mmol/l	0,21 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,39
LDH, U/l	374,51 ± 3,36	343,96 ± 26,94	0,50
CPK, U/l	2617,40 ± 344,39	1290,00 ± 144,62 <sup>†</sup>	0,06
AST, U/l	59,16 ± 4,69	39,14 ± 1,15	0,03
CREA, μmol/L	145,16 ± 2,50	148,27 ± 2,54	0,60
TAS, mmol/l	1,47 ± 0,06	1,60 ± 0,02 <sup>†</sup>	0,10
TAWSA, mg/l	11,31 ± 0,67	11,61 ± 1,01	>0.05
GLU, glucose; TG, triglycerides; LDH, lactate dehydrogenase; CPK, creatine phosphokinase; AST, aspartate aminotransferase; CREA, creatinine; TAS, total antioxidant status; TAWSA, total amount of water-soluble antioxidants. Significantly at * — $p < 0.05$ compared to the control; † — tendency at $p < 0.10$ . Compiled by the authors			

Compiled by the authors

**Table 4. Pre-slaughter and slaughter performance of pigs  
(M $\pm$ m, n=15)**Таблица 4. Предубойные и убойные показатели свиней (M $\pm$ m, n=15)

Indicator	Groups		p-value
	C	E	
Weight of a fresh carcass, kg	93,30 $\pm$ 1,58	94,50 $\pm$ 1,43	0,49
Slaughter yield, %	74,43 $\pm$ 0,45	74,38 $\pm$ 0,38	0,85
Fat thickness between 6th and 7th thoracic vertebrae, mm	23,53 $\pm$ 0,98	23,50 $\pm$ 2,03	0,78
Fat thickness on loin, mm	16,80 $\pm$ 0,77	15,29 $\pm$ 1,36	0,33
pH of the longest muscle of back, 45 min, units	5,79 $\pm$ 0,08	5,84 $\pm$ 0,11	0,57
pH of the longest muscle of the back, 24 hours, units	5,44 $\pm$ 0,01	5,52 $\pm$ 0,03**	0,01
Area of muscle eye, cm <sup>2</sup>	46,52 $\pm$ 1,62	49,26 $\pm$ 2,35	0,22
MHC, %	81,62 $\pm$ 1,09	82,54 $\pm$ 1,41	0,87
TAWSA, mg/g	0,081 $\pm$ 0,002	0,0083 $\pm$ 0,002	0,60

MHC, moisture-holding capacity; TAWSA, total amount of water-soluble antioxidants. Significantly at \*\* – p<0.01 compared to the control. Compiled by the authors

#### 4. Discussion

The use of combinations of various antioxidant-adaptogens has been extensively studied in the poultry industry [16]. Regarding applications in swine production, it has been reported that studies on the effects of Vitamins E and C in stressed pigs are necessary elements that can form part of a strategy to improve animal health and productivity [17].

Positive effects of polyphenol supplementation have been observed in studies with sick or stressed animals and have been attributed to their systemic anti-inflammatory effects, improved gut health and reduced translocation of pro-inflammatory and pro-oxidant stimuli into the bloodstream. The health effects of bioflavonoids likely result not only from direct antioxidant activity, but also include inhibition of radical-forming enzymes such as xanthine oxidase, NOX and lipoxygenase, in addition to effects on platelet aggregation, leukocyte adhesion and vasodilatory properties. Flavonoids have different biological activities in different cells, tissues and disease states [18].

The antioxidant properties of flavonoids are convincing and in a number of cases they were even more effective than traditional antioxidants such as vitamins E and C [14]. Attempts to completely replace vitamins (particularly E) in animal diets with various plant extracts containing flavonoids were found to be unsuccessful. At the same time, the need to clarify the effective doses of polyphenols in studies on farm animals was noted [19]. Therefore, we chose the strategy of using a combination of the action of polyphenols with vitamins E and C.

Additional feeding Tax pigs in combination with vitamins (C and E) led to improvement of metabolic processes, first of all, it was reflected in the increase of antioxidant protection, better adaptability of animals to the conditions of temperature stress.

Stress metabolites such as lactate and glucose in blood can be useful indicators to assess pre-slaughter stress, and their high levels in blood indicate an accelerated rate and high degree of postmortem muscle metabolism, resulting in low muscle pH, while carcass temperature remains high, which causes a higher incidence of pale, soft and exudative (PSE) pork [20]. Glucose levels in animals of control and experimental groups were within normal values. Feeding TaxEC had no effect on this parameter in this case. At the same time, the level of triglycerides in animals of both groups was  $\leq$ 0.22 mmol/l, which confirms the high level of animal stress throughout the experiment.

Evaluation of the potential use of various biomarkers of physiological stress in slaughter pigs is important in terms of predicting carcass and meat quality parameters. According to [21] LDH

can help pork producers predict changes in pork quality, while cortisol, alanine aminotransferase and albumin can be useful in predicting carcass quality. In our experiment, LDH activity was normal in animals of groups C and E throughout the experiment, but during the temperature stress (mid-fattening), there was a tendency (p=0.07) to decrease this index in animals of group E. Elevated CPK content was observed in all animals throughout the whole experiment, but the highest level was in the middle and end of fattening. In group E, this index was insignificantly lower in the beginning and middle of fattening, and at the end of the experiment there was a tendency to lower values (p=0.06), which indicates a favorable protective role of antioxidants.

AST is a marker of liver and cardiovascular damage, and CREA characterizes the rate of creatine phosphokinase reaction and the rate of muscle mass gain. AST and CREA values were normal in all animals throughout the experiment. At the end of the experiment in Group E AST was reliably lower (p<0,01) and there was a tendency (p=0,09) to a higher CREA level, indicating a positive effect of TaxEC on the animals' condition against the background of better growth.

It was found that combining Tax with vitamins C and E enhanced the mechanism of antioxidant protection. For instance, at the beginning of the experiment, there was a loss of water-soluble forms of antioxidants (TAWSA) (p<0,01) (Table 3), but later, their level in the blood of experimental animals exceeded the control level, indicating a better protective mechanism against environmental factors (including temperature stress during the period of fattening).

The effect of TaxEC was clearly manifested at the end of the experiment. In pigs of Group E, the level of TAS in blood serum became higher (p<0.05) during basic fattening and before slaughter (p=0.1) as compared to the control under the influence of TaxEC feeding.

The slaughter yield in Group E was 74.38% vs. 74.43% (p>0.05) in Group C (Table 4). Slaughter weight correlated with paired carcass weight without head and legs ( $r=0.34$  and  $r=0.46$ , respectively groups), whose mean values were 1.29% higher in Group E (p=0.49). The thickness of the backbone, both at the level between the 6th and 7th thoracic vertebrae, and in the lumbar part of the carcass were: 23.50 vs. 23.53 mm (p=0.78) and 15.29 vs. 16.80 mm (p=0.33), respectively. Muscle eye area was higher in animals of the experimental group by 2.74 cm<sup>2</sup> (p=0.22).

The pH value of the longest muscle back 45 minutes after slaughter was relatively the same for carcasses of groups C and E, 5.79 and 5.84 (p = 0,57), respectively. Anaerobic glycolysis produces lactate, which accumulates and lowers intracellular pH, so that by 24 hours after death, pH can fall to about 5.4–5.7 [22]. The use of TaxEC resulted in an improvement of this index. 24 h after slaughter, the pH in the experimental group was higher by 0.07 units (p<0.01).

Prolonged chronic stress, even at a moderate level of exposure, can worsen the growth of animals and lead to a decrease in the quality of production. Tax in combination with vitamins can regulate in animals through suppression of excessive activation of the RAAS system, improve water and sodium retention, reduce inflammatory response [23]. Tax inhibits free-radical oxidation of both water-soluble and fat-soluble substrates and can function as a trap for reactive oxygen species and as a chelator of variable valence metals [24]. Complex feeding of Tax with vitamins E and C inhibited oxidation reactions, which resulted in the accumulation of water-soluble antioxidant reserves in the animals over time. The results of control slaughter testified to obtaining the carcasses from the Group E with higher values of the following indices: slaughter yield, muscle eye area, pH of the longest muscle of the back 24 hours after slaughter demonstrating the correctness of the chosen strategy.

Thus, the study and application of poorly studied feedstuffs, as well as combining them with well-studied ones, is important to reduce the exposure of animals to stress without significantly affecting the characteristics of organic production.

## 5. Conclusions

One of the priorities of the Strategy of scientific and technological development of the Russian Federation is the transition to a highly productive and environmentally friendly agriculture. Organic agriculture can help to ensure sufficient food for the population by 2050 and simultaneously reduce the impact of agriculture on the environment only if it is implemented within the system of agricultural production, which

should provide the same volume and composition of products, as in the baseline scenario. The use of targeted feed additives to reduce the effects of stressors is the most convenient and cost-effective method of reducing their impact on the animal body. In the given research we considered feeding young pigs including feeding them with complete fodder a micro additive consisting of vitamins complex (C and E) and Taxifolin during the period of fattening against the background of stresses of different etiology. The implementation of this strategy contributes to a better adaptation of animals to environmental conditions and can contribute to obtaining products of higher quality when implementing the direction of development of pig breeding.

## REFERENCES / БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Martínez-Miró, S., Tecles, F., Ramón, M., Escribano, D., Hernández, F., Madrid, J. et al. (2016). Causes, consequences and biomarkers of stress in swine: an update. *BMC Veterinary Research*, 12, Article 171. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0791-8>
- Jacela, J.Y., DeRouche, J.M., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Nelissen, J.L., Renter, D.G. et al. (2010). Feed additives for swine: Fact sheets – flavors and mold inhibitors, mycotoxin binders, and antioxidants. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 0(10), Article 1229. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.7069>
- Mahan, D.C., Lepine, A.J., Dabrowski, K. (1994). Efficacy of magnesium-l-ascorbyl-2-phosphate as a vitamin C source for weanling and growing-finishing swine. *Journal of Animal Science*, 72(9), 2354–2361. <https://doi.org/10.2527/1994.7292354x>
- Lauridsen, C., Nielsen, J.H., Henckel, P., Sorensen, M.T. (1999). Antioxidative and oxidative status in muscles of pigs fed rapeseed oil, vitamin E, and copper. *Journal of Animal Science*, 77(1), 105–115. <https://doi.org/10.2527/1999.771105x>
- Kim, M., Eo, H., Lim, J.G., Lim, H., Lim, Y. (2022). Can low-dose of dietary Vitamin E supplementation reduce exercise-induced muscle damage and oxidative stress? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients* 14(8), Article 1599. <https://doi.org/10.3390/nu14081599>
- Pehlivan, F.E. (2017). Vitamin C: An Antioxidant Agent. Chapter in a book: Vitamin C. IntechOpen, 2017. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69660>
- Shah, D., Sachdev, H.P.S. (2020). Vitamin C (Ascorbic Acid) deficiency and excess. Chapter in a book: Nelson Textbook of Pediatrics. Elsevier, 2020.
- Hao, Y., Xing, M., Gu, X. (2021). Research progress on oxidative stress and its nutritional regulation strategies in pigs. *Animals*, 11(5), Article 1384. <https://doi.org/10.3390/ani11051384>
- Fraga, C.G. (2007). Plant polyphenols: how to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions. *IUBMB Life*, 59(4–5), 308–315. <https://doi.org/10.1080/15216540701230529>
- Semenova, A., Kuznetsova, T., Nasonova, V., Nekrasov, R., Bogolubova, N. (2020). Effect of modelled stress and adaptogens on microstructural characteristics of pork from fast-growing hybrid animals. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 656–663. <https://doi.org/10.5219/1388>
- Fomichev, Yu. P., Bogolyubova, N.V., Nekrasov, R.V., Chabaev, M.G., Rykov, R.A., Semenova, A.A. (2020). Physiological and biochemical effects of two feed antioxidants in modeling technological stress in pigs (*Sus scrofa domesticus* Erxleben, 1777). *Agricultural Biology*, 55(4), 750–769. <https://doi.org/10.1538/agrobiology.2020.4.750eng>
- Nekrasov, R.V., Chabaev, M.G., Tsis, E. Yu., Bogolyubova, N.V., Mishurov, A.V., Rykov, R.A. (2020). Effect of feed antioxidants on behavior and stress resistance of fattening pigs. *Journal of Animal Science*, 98(Suppl 4), 364–365. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.640>
- Nekrasov, R.V., Chabaev, M.G., Tsis, E. Yu., Bogolyubova, N.V., Semenova, A.A. (2021). The effect of dihydroquercetin on the growth and use of feed by pigs (*Sus scrofa domesticus* Erxleben, 1777) under moderate heat stress. *Agricultural Biology*, 56(6), 1156–1171. <https://doi.org/10.1538/agrobiology.2021.6.1156eng>
- Surai, P.F. (2014). Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(1), 19–31. <https://doi.org/10.1111/jpn.12070>
- Nekrasov, R.V., Golovin, A.V., Machaev, E.A., Anikin, A.S., Pervov, N.G., Strekozov, N.I. et al. (2018). Requirements of nutrition of dairy cattle and pigs. Moscow: Russian Academy of Sciences, 2018. (In Russian)
- Surai, P.F. (2020). Antioxidants in Poultry Nutrition and Reproduction: An Update. *Antioxidants*, 9(2), Article 105. <https://doi.org/10.3390/antiox9020105>
- Peeters, E., Neyt, A., Beckers, F., De Smet, S., Aubert, A.E., Geers, R. (2005). Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration. *Journal of Animal Science*, 83(7), 1568–1580. <https://doi.org/10.2527/2005.8371568x>
- Williamson, G., Kay, C. D., Crozier, A. (2018). The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: A review from a historical perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(5), 1054–1112. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12351>
- Gessner, D.K., Ringseis, R., Eder, K. (2017). Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(4), 605–628. <https://doi.org/10.1111/jpn.12579>
- Edwards, L.N., Engle, T.E., Correa, J.A., Paradis, M.A., Grandin, T., Anderson, D.B. (2010). The relationship between exsanguination blood lactate concentration and carcass quality in slaughter pigs. *Meat Science* 85(3), 435–440. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.02.012>
- Čobanović, N., Stanković, S.D., Dimitrijević, M., Suvajdžić, B., Grković, N., Vasilev, D. et al. (2020). Identifying physiological stress biomarkers for prediction of pork quality variation. *Animals*, 10(4), Article 614. <https://doi.org/10.3390/ani10040614>
- Frimpong, S., Gebresenbet, G., Bobobee, E., Aklaku, E.D., Hamdu, I. (2014). Effect of transportation and pre-slaughter handling on welfare and meat quality of cattle: Case study of Kumasi Abattoir, Ghana. *Veterinary Sciences*, 1(3), 174–191. <https://doi.org/10.3390/vetsci1030174>
- Gao, L., Yuan, P., Zhang, Q., Fu, Y., Hou, Y., Wei, Y. et al. (2020). Taxifolin improves disorders of glucose metabolism and water-salt metabolism in kidney via PI3K/AKT signaling pathway in metabolic syndrome rats. *Life Sciences*, 263, Article 118713. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118713>
- Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Rice-Evans, C. (1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 322(2), 339–346. <https://doi.org/10.1006/abbi.1995.1473>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p><b>Roman V. Nekrasov</b>, Doctor of Agricultural Sciences, Professor of RAS, Chief Researcher, Department of Feeding of Farm Animals, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia Tel.: +7-496-765-12-77 E-mail: nek_roman@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4242-2239">https://orcid.org/0000-0003-4242-2239</a> * corresponding author</p>	<p><b>Некрасов Роман Владимирович</b> — доктор сельскохозяйственных наук, профессор РАН, главный научный сотрудник, отдел кормления сельскохозяйственных животных, Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, 60 Тел.: +7-496-765-12-77 E-mail: nek_roman@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-4242-2239">https://orcid.org/0000-0003-4242-2239</a> * автор для переписки</p>
<p><b>Nadezhda V. Bogolubova</b>, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Physiology and Biochemistry of Farm Animals, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia Tel.: +7-496-765-11-69 E-mail: 652202@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-0520-7022">https://orcid.org/0000-0002-0520-7022</a></p>	<p><b>Боголюбова Надежда Владимировна</b> — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, отдел физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, 60 Тел.: +7-496-765-11-69 E-mail: 652202@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-0520-7022">https://orcid.org/0000-0002-0520-7022</a></p>
<p><b>Magomed G. Chabaev</b>, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Leading Researcher, Department of Feeding of Farm Animals, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia Tel.: +7-496-765-12-90 E-mail: chabaev.m.g-1@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1889-6063">https://orcid.org/0000-0003-1889-6063</a></p>	<p><b>Чабаев Магомед Газиевич</b>, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ведущий научный сотрудник, отдел кормления сельскохозяйственных животных, Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, 60 Тел.: +7-496-765-12-90 E-mail: chabaev.m.g-1@mail.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1889-6063">https://orcid.org/0000-0003-1889-6063</a></p>
<p><b>Konstantin S. Ostrenko</b>, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Immunobiotechnology and Microbiology, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia Tel.: +7-496-765-12-90 E-mail: ostrenkoks@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8862-3648">https://orcid.org/0000-0001-8862-3648</a></p>	<p><b>Остренко Константин Сергеевич</b> — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория иммунобиотехнологии и микробиологии, Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени Академика Л. К. Эрнста 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, 60 Тел.: +7-496-765-12-90 E-mail: ostrenkoks@gmail.com ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-8862-3648">https://orcid.org/0000-0001-8862-3648</a></p>
<p><b>Roman A. Rykov</b>, Senior Researcher, L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia Tel.: +7-496-765-11-69 E-mail: brukw@bk.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0228-8901">https://orcid.org/0000-0003-0228-8901</a></p>	<p><b>Рыков Роман Анатольевич</b>, старший научный сотрудник, отдел физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, 60 Тел.: +7-496-765-11-69 E-mail: brukw@bk.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-0228-8901">https://orcid.org/0000-0003-0228-8901</a></p>
<p><b>Anastasia A. Semenova</b>, Doctor of Technical Sciences, Professor, Deputy Director, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (105) E-mail: a.semenova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-4372-6448">https://orcid.org/0000-0002-4372-6448</a></p>	<p><b>Семенова Анастасия Артуровна</b>, доктор технических наук, профессор, заместитель директора, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (105) E-mail: a.semenova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-4372-6448">https://orcid.org/0000-0002-4372-6448</a></p>
<p><b>Victoria V. Nasonova</b>, Doctor of Technical Sciences, Head of Department of Applied Scientific and Technological Development, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (307) E-mail: v.nasonova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-7625-3838">https://orcid.org/0000-0001-7625-3838</a></p>	<p><b>Насонова Виктория Викторовна</b>, доктор технических наук, руководитель отдела научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (307) E-mail: v.nasonova@fncps.ru ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0001-7625-3838">https://orcid.org/0000-0001-7625-3838</a></p>
Contribution	Критерии авторства
Authors are 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 plagiat.
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-261-268>

Поступила 07.04.2023

Поступила после рецензирования 20.06.2023

Принята в печать 27.06.2023

© Ландиховская А. В., Творогова А. А., 2023

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

Научная статья

Open access

# ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА МОЛОЧНОГО МОРОЖЕНОГО С ЦИТРУСОВЫМИ ВОЛОКНАМИ И КАМЕДЯМИ

Ландиховская А. В., \* Творогова А. А.

Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности, Москва, Россия

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

*стабилизаторы, пищевые волокна, структура, воздушная фаза, кристаллы льда*

**АННОТАЦИЯ**

В настоящее время в производстве мороженого для стабилизации структуры используют не менее 4-х пищевых добавок — эмульгаторов и гидроколлоидов. Добавление таких веществ способствует снижению спроса на этот продукт у приверженцев здорового образа жизни. Целью исследований являлось установление возможности применения для стабилизации структуры молочного мороженого цитрусовых волокон и их композиций с камедями гуаровой и ксантановой. В качестве контрольных использовали образцы с желатином и комплексным стабилизатором — эмульгатором. Установлено, что внесение цитрусовых волокон в количестве 0,6% придает продукту горький вкус, не обеспечивает требуемый уровень динамической вязкости смеси, формирует нестабильную воздушную фазу и крупные кристаллы льда. Композиция пищевых волокон с камедями оказалась положительное влияние на указанные показатели качества. Наиболее высокая дисперсность кристаллов льда (средний размер — 36–39 мкм) и динамическая вязкость смеси, сопоставимые с показателями качества образца с комплексным стабилизатором-эмульгатором, была достигнута в образце с волокнами и ксантановой камедью. Образец с пищевым волокном и гуаровой камедью по термоустойчивости превосходил образцы только с волокном, а также образцы с волокном и гуаровой камедью. После 60 мин термостатирования массовая доля плава составила 7%, что в 2,8 и в 2 раза меньше, чем в образцах без камедей и с ксантановой камедью. Выявлена корреляция между показателями «твёрдость» и «термоустойчивость»: наиболее твердые образцы были более устойчивыми к таянию. На основании результатов исследования установлена целесообразность использования в производстве мороженого с ограниченным числом пищевых добавок композиций цитрусовых волокон и камедей гуаровой или ксантановой. При этом необходимо учитывать состояние структурных элементов в процессе хранения и использовать упаковку, способствующую сохранению формы порции.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:** Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2022-0013 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 07.04.2023

Accepted in revised 20.06.2023

Accepted for publication 27.06.2023

© Landikhovskaya A. V., Tvorogova A. A., 2023

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

Original scientific article

Open access

# QUALITY CHARACTERISTICS OF MILK ICE CREAM WITH CITRUS FIBERS AND GUM

Anna V. Landikhovskaya\*, Antonina A. Tvorogova

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

**KEY WORDS:**

*stabilizers, food fiber, structure, air phase, ice crystals*

**ABSTRACT**

Currently at least 4 food additives — emulsifiers and hydrocolloids — are used for ice cream production to stabilize its structure. However adding these substances reduces the demand for this product among healthy lifestyle adepts. The aim of the research was to define the possibility of using citrus fibers and their compositions together with guar and xanthan gums to stabilize the milk ice cream structure. Samples with gelatin and a complex stabilizer (emulsifier) were used as control samples. It was established that adding of citrus fibers in amount of 0.6% makes the product bitter, does not provide the required level of dynamic viscosity of the mixture, it forms an unstable air phase and large ice crystals. The combination of dietary fibers with gums had a positive effect on these quality characteristics. The highest dispersion of ice crystals (average size accounted for 36–39 μm) and dynamic viscosity of the mixture, comparable with the quality characteristics of the sample with a complex stabilizer-emulsifier, was achieved in the sample with added fibers and xanthan gum. The sample with dietary citrus fiber and guar gum showed better characteristics in terms of heat resistance in comparison with the samples with fiber only, as well as samples with plain fiber and guar gum. After 60 min of thermostating, the mass fraction of melt was equal to 7%, which is 2.8 and 2 times less than in samples without gums and with xanthan gum. The correlation was found between the parameter “hardness” and the parameter “thermal stability”: the hardest samples showed the highest resistance to melting. Based on the results of the research, the expediency of using combinations of citrus fibers and guar gum or xanthan gum in the production of ice cream with a limited number of food additives was established. Meanwhile it is necessary to take into account the state of structural elements during the product storage, and using the packaging that helps preserve the shape of the ice cream portion.

**FUNDING:** The article is prepared as part of the research under the State Assignment No. FGUS-2022-0013 of Gorbatov Federal State Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Ландиховская, А. В., Творогова, А. А. (2023). Стабилизация структуры мороженого с низким содержанием жира цитрусовыми волокнами. Пищевые системы, 6(2), 261-268. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-6-261-268>

FOR CITATION: Landikhovskaya, A. V., Tvorogova, A. A. (2023). Quality indicators of milk ice cream with citrus fibers and gum. Food Systems, 6(2), 261-268. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-6-261-268>

## 1. Введение

Эффективная стабилизация структуры мороженого в значительной степени определяет технологические и органолептические свойства мороженого. Однако комплексные стабилизационные системы, предназначенные для этой цели, имеют в своем составе не менее четырех пищевых добавок, включая гидроколлоиды и эмульгаторы. Тенденция здорового питания населения, поддерживаемая на уровне государственной политики, отражает стремление россиян к употреблению натуральной пищи. Потребители отдают предпочтение продуктам с «чистой этикеткой» или с минимальным содержанием пищевых добавок в продукте. В связи с этим актуально использование альтернативных стабилизаторов для производства мороженого взамен комплексных стабилизационных систем, содержащих гидроколлоиды и эмульгаторы. Гидроколлоиды бывают растительного, животного, микробного и химически модифицированного происхождения [1,2]. Они оказывают влияние на вязкость смесей для мороженого и на формирование кристаллов льда при замораживании и в процессе хранения, а также препятствуют рекристаллизации [3,4]. Действие эмульгаторов в производстве мороженого основано на вытеснении белка с оболочки жирового шарика, что в дальнейшем приводит к дестабилизации оболочки при фризеровании и к образованию конгломератов жира [5]. Все это, в свою очередь, способствует замедлению скорости таяния мороженого, образованию более сухой поверхности продукта, что особенно важно при применении линий экструзионного типа [6]. В комплексных стабилизационных системах, предназначенных для производства мороженого, чаще всего в качестве эмульгатора используют моно- и диглицериды жирных кислот (Е471) [7]. Эмульгаторы оказывают влияние на вязкость, пенообразующую способность, стабильность эмульсии и пены [8].

Наиболее известной и доступной пищевой добавкой, применяемой в качестве моностабилизатора в производстве мороженого, является желатин [9,10]. В качестве источника сырья для желатина могут выступать свинина, говядина, рыба [11]. Желатин является хорошим гелеобразователем, его молекула амфи菲尔на, что способствует хорошей влагосвязывающей способности [12]. Желатин используют в молочных продуктах также в качестве пенообразователя для улучшения структуры. Однако применение желатина ограничено для групп населения, отказывающихся от употребления белка животного происхождения. Помимо желатина, в составе мороженого с ограниченным числом пищевых добавок могут присутствовать модифицированные крахмалы и пищевые волокна на основе целлюлозы [13]. На предприятиях пищевой отрасли используют и другие разновидности волокон, в частности цитрусовые. Их извлекают из кожуры цитрусовых фруктов: апельсинов, лимонов, грейпфрутов, лаймов и др. Применение цитрусовых волокон позволяет уменьшить количество отходов соковой промышленности и получить технологически функциональный ингредиент из побочного сырья [14,15]. В кожуре цитрусовых содержатся фенольные кислоты, обладающие антиоксидантными свойствами, а также флавоноиды, кумарины и др. Эти компоненты придают цитрусовым волокнам биологическую ценность, что важно для обеспечения качества сырья, применяемого для получения пищевых добавок [16,17]. Цитrusовые волокна состоят из растворимых (пектин) и нерастворимых (клетчатка) пищевых волокон. Эти ингредиенты активно используются в пищевой промышленности, поскольку они имеют большую молекулярную массу и обладают хорошей влагосвязывающей и влагоудерживающей способностью [18]. Их добавляют в кондитерские и хлебобулочные изделия для улучшения технологических и потребительских свойств

[19,20]. На технологические свойства пищевых волокон влияет степень их измельчения (помола) [21]. Для улучшения функциональных свойств цитрусовых волокон используют гомогенизацию высокого давления [22,23,24]. Кроме того, на функциональные свойства цитрусовых волокон влияет тип фрукта, из кожуры которого они были изготовлены [25]. В работе [18] установили, что действие цитрусовых волокон в эмульсиях типа «масло в воде» представляет собой «комбинацию эффекта Пикеринга и формирования трехмерной сети на основе капель-частиц».

Для мороженого с низким содержанием жира характерно образование крупных кристаллов льда с грубой структурой, в связи с чем такой продукт быстро тает [26,27]. На долю воды в таком продукте приходится более 60%. Использование комплексных пищевых добавок позволяет влиять на вязкость, кристаллообразование и текстуру. Внесение каких-либо изменений в стабилизацию структуры данного продукта может сильно сказаться на его показателях качества и потребительских свойствах. Однако использование цитрусовых волокон может положительно отразиться на структуре продукта с низкой массовой долей жира и высокой массовой долей влаги, а также позволит снизить число вносимых в состав мороженого пищевых добавок. Вместе с тем отказ от комплексных пищевых добавок вызовет необходимость мониторинга состояния структуры продукта в процессе хранения.

Целью данной работы является изучение показателей качества молочного мороженого с низким содержанием жира при использовании цитрусовых волокон в качестве моностабилизатора и в композиции с гидроколлоидами.

## 2. Объекты и методы

Объектами исследований были 5 образцов мороженого с одинаковой массовой долей жира (2,5%), СОМО (11%) и сахара (15,5%). Для стабилизации структуры в образцах использовали: № 1 — цитрусовые волокна, № 2 — композицию из цитрусовых волокон и гуаровой камеди, № 3 — композицию из цитрусовых волокон и ксантановой камеди, № 4к — желатин и № 5к — комплексную стабилизационную систему. В образцах № 2 и № 3 количество цитрусовых волокон равнялось 4,0 г/кг. В натуральном выражении суммарная дозировка всех стабилизаторов в каждом из образцов составляла 6,0 г/кг.

Мороженое изготавливали в соответствии с ТТИ ГОСТ 31457–2012<sup>1</sup>. Стадия созревания в образцах № 1–4 была исключена в связи с отсутствием эмульгатора. Волокна в образцах № 1–4 предварительно смешивали с сахаром, затем вносили в воду, перемешивали 5 мин, после чего добавляли остальные сухие компоненты. Раствор желатина готовили отдельно и вносили в смесь для мороженого при температуре 45 °С.

Для приготовления мороженого использовали следующее сырье: сливочное масло с массовой долей жира 82,5% по ГОСТ 32261–2013<sup>2</sup> (Россия), сухое обезжиренное молоко по ГОСТ 33629–2015<sup>3</sup> (Россия, ООО «Юговской комбинат молочных продуктов»), сахар белый ГОСТ 33222–2015<sup>4</sup> (Россия). В качестве стабилизатора применяли цитрусовые волокна CITRI-FE100M20 торговой марки Naturex (Франция), гуаровую камедь (Индия), ксантановую камедь (Китай), желатин (Россия), комплексный стабилизатор-эмульгатор Cremodan 709 (Дания), состоящий из моно- и диглицеридов,

<sup>1</sup> ГОСТ 31457–2012. «Мороженое молочное, сливочное и пломбир. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2014. — 27 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 32261–2013. «Масло сливочное. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2019. — 24 с.

<sup>3</sup> ГОСТ 33629–2015. «Консервы молочные. Молоко сухое. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2017. — 13 с.

<sup>4</sup> ГОСТ 33222–2015. «Сахар белый. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2019. — 22 с.

карагинана, а также из камедей рожкового дерева и гуаровой. Динамическую вязкость смеси определяли с использованием вискозиметра DV-II+ PRO с программным обеспечением Rheocalc V3 1–1 (Brookfield, США) при температуре смеси ( $4,0 \pm 0,5$ ) °C.

Методика определения взбитости описана в ГОСТ 31457–2012<sup>5</sup>. Мороженое получали с применением фризера периодического действия LABO 8/12 XPL P (CARPIGANI, Италия).

Показатели формо- и термоустойчивости выявляли по методике ВНИХИ. Методика термоустойчивости заключается в определении массовых долей плава мороженого, образующегося за определенный промежуток времени (первая точка снимается через 60 мин, далее еще в течение 60 мин с шагом 10 мин.) под воздействием температуры ( $20 \pm 1,5$ ) °C. Определение проводили с использованием термостата TCO-1/80 (СКТБ СПУ, Россия) и электронных весов HL 2000 (AND, Япония) с точностью взвешивания  $\pm 1$  г. Формоустойчивость определяли путем фиксирования формы порции мороженого с помощью фотоаппарата каждые 10 мин, пока мороженое не потеряло свою форму.

Структурно-механические свойства (твёрдость, адгезия, клейкость) выявляли на текстурометре LFRA Texture Analyzer с ПО TexturePro Lite v1.1 (Brookfield, США). Для измерения использовали цилиндрический зонд TA 28 диаметром 2 мм. Скорость погружения зонда составляла 0,5 мм/с, глубина погружения в поверхность продукта – 5 мм. Температура образца при измерении – минус 18 °C.

Микроскопические исследования были проведены при помощи микроскопа CX-41 (Olympus, Япония), системы Пельтье PE120 (Linkam, Великобритания) и программного обеспечения ImageScope M (Россия) для подсчета структурных элементов мороженого. Образцы продукта для исследования имели температуру минус ( $20 \pm 2$ ) °C.

Органолептические характеристики образцов мороженого оценивали по трем основным показателям: «вкус и аромат» (6 баллов), «структура и консистенция» (3 балла) и «цвет и внешний вид» (1 балл). Температура образцов мороженого при дегустации составляла минус ( $14 \pm 2$ ) °C. За основу проведения органолептической оценки взят ГОСТ Р ИСО 22935–2–2011<sup>6</sup>.

<sup>5</sup> ГОСТ 31457–2012. «Мороженое молочное, сливочное и пломбир. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2014. – 27 с.

<sup>6</sup> ГОСТ Р ИСО 22935–2–2011. «Молоко и молочные продукты. Органолептический анализ. Часть 2. Рекомендуемые методы органолептической оценки». Москва: Стандартинформ, 2012. – 20 с.

Обработку данных осуществляли с использованием программ Microsoft Excel и Past 4.03. Для оценки статистически значимых различий между образцами использовали однфакторный дисперсионный анализ ANOVA. Для попарного сравнения выборок применяли апостериорный критерий Тьюки. Статистически значимый результат оценивали при  $p \leq 0,05$ .

### 3. Результаты и обсуждение

На качество мороженого с низкой массовой долей жира большое влияние оказывают такие показатели, как исходная динамическая вязкость смеси, взбитость, скорость таяния и твердость мороженого, а также дисперсность его структурных элементов, кристаллов льда и пузырьков воздуха. Эти показатели качества были определены в процессе проведения исследований смеси и мороженого.

Динамическая вязкость характеризует эффективность стабилизаторов, используемых при приготовлении смеси мороженого. Изучение этого показателя проводили при температуре ( $4 \pm 2$ ) °C, достижение которой необходимо до подачи смеси во фризер (Рисунок 1). В работе оценивали показатели вязкости смеси при градиенте сдвига на срез 0,83  $\text{с}^{-1}$ .

Как следует из данных, приведенных на Рисунке 1, наименьшей вязкостью (74 мПа·с) характеризовалась смесь для образца мороженого № 1, в котором в качестве стабилизатора были использованы только цитрусовые волокна. Установлено, что наибольшая вязкость характерна для смеси образца мороженого № 3 с совместным применением цитрусовых волокон и ксантановой камеди – 311 мПа·с. Это значение в 1,5 раза превышает показатель вязкости смеси в образце № 2 (с гуаровой камедью и волокнами). Также оно в 2 раза выше по сравнению с образцом № 4к и в 2,8 раза больше, чем в образце № 5к. Низкие значения вязкости смесей образцов с желатином (№ 4к и № 5к) обусловлены отсутствием стадии созревания. Это подтверждается исследованиями Dervisoglu и соавторов [28], в котором также установлено, что образцы только с цитрусовыми волокнами имели наименьшую вязкость по сравнению с образцами с эмульгатором/стабилизатором или при совместном их использовании с цитрусовыми волокнами.

Таким образом, учитывая, что вязкость смесей при одновременном применении цитрусовых волокон и камедей гуаровой и ксантановой значительно повышается и превосходит значение показателей с традиционно применяемыми

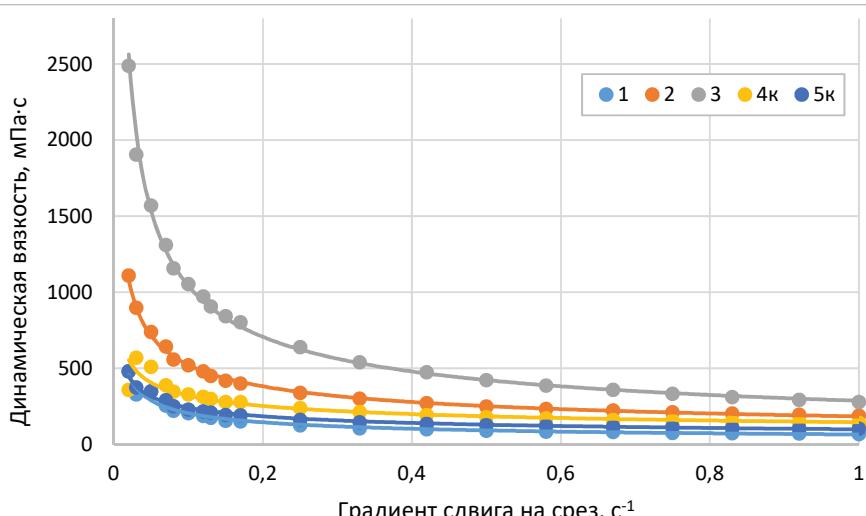


Рисунок 1. Изменение динамической вязкости смеси в зависимости от градиента сдвига  
Figure 1. Change in the dynamic viscosity of the mixture depending on the shear gradient

стабилизаторами, использование композиций предпочтительнее, чем добавление одних волокон.

Стоит отметить, что отсутствие эмульгаторов в составе стабилизационных систем может привести к снижению способности смесей к насыщению воздухом, поэтому существует необходимость контроля состояния и дисперсности воздушной фазы в процессе производства и хранения мороженого. Для воздушных пузырьков характерно несколько типов изменений состояния воздушной фазы, основными из которых являются диспропорционирование и коалесценция [29]. В процессе исследования установлено, что использование цитрусовых волокон при отсутствии эмульгаторов приводит к снижению дисперсности воздушной фазы (Таблица 1).

В образцах с цитрусовыми волокнами более мелкие воздушные пузырьки после закаливания были обнаружены в образце № 1. Однако, размер пузырьков после закаливания был выше на 7 и 37%, чем в контрольных образцах (№ 4к и № 5к). Через 1 месяц хранения средний размер воздушных пузырьков увеличился во всех образцах: в первом — в 1,3 раза, во втором — в 1,2 раза, а в образцах № 3, № 4к и № 5к — в 1,1 раза. Диаметр воздушных пузырьков через 1 месяц хранения в образцах № 1 и № 3 не имел значимых различий ( $p > 0,05$ ).

За период от 1 до 3 мес. хранения в образцах № 1, № 2 и № 3 отметилось увеличение средних размеров воздушных пузырьков на 25, 11 и 14% соответственно, а также снижение их количества размером до 50 мкм. Подобные изменения были характерны и для контрольного образца № 4к. Данные изменения обусловлены, скорее всего, отсутствием эмульгатора в составе стабилизационной системы и низким содержанием жира в продукте. Значительные трансформации за 3 мес. хранения в образце с цитрусовыми волокнами обусловлены также изначально низкой вязкостью смеси, что способствует большему диспропорционированию воздушных пузырьков. В образце № 5к с использованием комплексной пищевой добавки с эмульгаторами (моно- и диглицеридами жирных кислот) размер воздушных пузырьков характеризовался наименьшим размером, и на их долю до 50 мкм приходилось 77%.

Таблица 1. Дисперсность воздушной фазы в образцах

Table 1. Dispersion of the air phase in the samples

Образцы	Стадия хранения					
	закаливание		1 месяц		3 месяц	
	dcp ± SE, мкм	доля воздушных пузырьков размером до 50 мкм, %	dcp ± SE, мкм	доля воздушных пузырьков размером до 50 мкм, %	dcp ± SE, мкм	доля воздушных пузырьков размером до 50 мкм, %
1	40,8 ± 0,8	72	51,7 ± 1,5	52	65,0 ± 2,0	38
2	48,6 ± 1,4	62	56,5 ± 1,6	48	63,0 ± 1,9	42
3	44,9 ± 1,2	67	49,7 ± 1,2	58	56,7 ± 1,6	48
4к	37,9 ± 0,7	69	41,1 ± 0,7	64	48,5 ± 1,2	51
5к	29,8 ± 0,5	87	31,6 ± 0,5	84	35,9 ± 0,7	77

Таблица 2. Дисперсность кристаллов льда в образцах

Table 2. Ice crystals dispersity in the samples

Образцы	Стадия хранения					
	закаливание		1 месяц		3 месяц	
	I <sub>cp</sub> ± SE, мкм	доля кристаллов льда размером до 50 мкм, %	I <sub>cp</sub> ± SE	доля кристаллов льда размером до 50 мкм, %	I <sub>cp</sub> ± SE	доля кристаллов льда размером до 50 мкм, %
1	45,0 ± 0,7 <sup>a</sup>	71	45,9 ± 1,0 <sup>a</sup>	67	45,0 ± 0,7 <sup>a</sup>	66
2	42,9 ± 0,6 <sup>b</sup>	74	43,3 ± 0,7 <sup>b</sup>	73	45,9 ± 0,7	65
3	36,5 ± 0,5 <sup>c</sup>	81	37,0 ± 0,6 <sup>c</sup>	84	39,7 ± 0,5	77
4к	31,2 ± 0,4	91	34,8 ± 0,4 <sup>d</sup>	87	34,7 ± 0,5 <sup>d</sup>	84
5к	25,7 ± 0,3 <sup>e</sup>	95	25,8 ± 0,3 <sup>e</sup>	97	31,0 ± 0,4	91

Примечание: значения с одинаковой буквой в одной строке существенно не различаются ( $p > 0,05$ ).

Все образцы обладали хорошей способностью к насыщению воздухом. Наименьшей взбитостью (58%) характеризовался образец с использованием желатина (№ 4к), наибольшее значение данного показателя было отмечено у образца с цитрусовыми волокнами и гуаровой камедью (№ 2) — в 1,4 раза выше по сравнению с другими образцами. В образце № 3 взбитость составила 67%, в образцах № 1 и № 5к она была одинаковой — 73% ( $p > 0,05$ ).

Взбитость мороженого в значительной степени сказывается на консистенции мороженого. В Таблице 3 приведены механические характеристики образцов мороженого, количественно характеризующие консистенцию этого продукта. Эти сведения учитываются при выборе способа фасования и упаковки для мороженого, а также дополняют представление о текстуре, получаемое при органолептической оценке.

**Таблица 3. Значения показателей консистенции (среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение) мороженого с различным составом стабилизаторов**

Table 3. Parameters of texture (mean value  $\pm$  standard deviation) of ice cream with various combination of stabilizers

Показатели	Образец 1	Образец 2	Образец 3	Контроль 4к	Контроль 5к
Твердость, Н	7,9 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	13,0 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup>	6,4 $\pm$ 1,5 <sup>c</sup>	13,0 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>	9,6 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>
Адгезионная сила, Н	-0,7 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>	-0,8 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>	-0,6 $\pm$ 0,2	-0,7 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>	-0,3 $\pm$ 0,1
Клейкость, Н·с	-0,6 $\pm$ 0,1 <sup>m</sup>	-1,1 $\pm$ 0,3 <sup>k</sup>	-0,6 $\pm$ 0,1 <sup>m</sup>	-1,9 $\pm$ 0,2	-1,0 $\pm$ 0,3 <sup>k</sup>

Примечание: значения с одинаковой буквой в одной строке существенно не различаются ( $p > 0,05$ ).

Данные, полученные экспериментально, позволяют предположить, что на твердость мороженого наибольшее влияние оказывают его исходная вязкость, взбитость и размер кристаллов льда. В образцах № 1 и 5к с одинаковой взбитостью, но с различными по размеру кристаллами льда твердость отличалась в 1,2 раза. Образцы № 2 и № 4к по вязкости и твердости различались незначительно. В наиболее вязком образце № 3 твердость была наименьшей. Наибольшей адгезионной силой и клейкостью характеризовались самые твердые образцы № 3 и № 4к. В нашем исследовании не было обнаружено явной зависимости между размерами кристаллов льда и твердостью мороженого, в отличие от результатов работы [31].

Важными показателями, характеризующими структуру мороженого, являются форма- и термоустойчивость образцов, определяемые при их выдерживании при температуре ( $20 \pm 1,5$ ) °C (Рисунок 2 и Рисунок 3). Устойчивость к температурному воздействию зависит от массовой доли жира в продукте, от взбитости и размеров кристаллов льда в мороженом [26,32]. Поскольку содержание жира в продукте во всех образцах не превышало 2,5%, то он не оказывал значимого влияния на данные показатели.

Анализ данных, приведенных на Рисунке 2, выявил корреляцию показателей «термоустойчивость» и «устойчивость к таянию». Высокой термоустойчивостью характеризовались образцы с наибольшей твердостью — № 2 и № 4к. В этих образцах, вероятно, сформирована наиболее прочная структура. Наилучшей термоустойчивостью обладал контрольный образец с желатином (№ 4к), через 60 мин термостатирования плава в данном образце не было, поскольку желатин является эффективным гелеобразователем и создает прочные связи с водой. Из опытных образцов наилучшей термоустойчивостью характеризовался образец № 2, за это же время массовая доля плава составила 7%, что в 2,8 и в 2 раза меньше, чем в образцах № 1 и № 3 соответственно. Количество плава в контрольном образце № 5к и в образце с цитрусовыми волокнами (№ 1) заметно не отличалось ( $p > 0,05$ ). Твердость этих образцов также сопоставима. Наибольшее количество плава через 60 мин образовалось в образце № 3, характеризуемом наименьшей твердостью.

Данные по формоустойчивости (Рисунок 3) согласуются с показателями термоустойчивости.

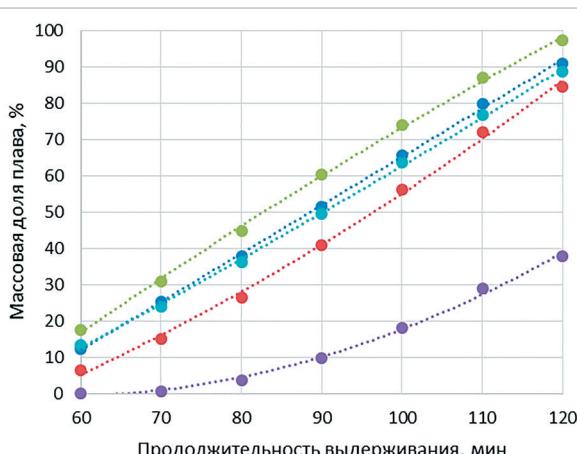
Через 50 мин образец № 3 с наименьшей термоустойчивостью полностью потерял исходную форму. В наибольшей степени форма порции была сохранена в контрольном образце с желатином (№ 4к). Образцы № 1, № 2 и № 5к visualno существенно не отличались.

Результаты органолептической оценки представлены в Таблице 4.

**Таблица 4. Органолептические характеристики мороженого в образцах с различным составом гидроколлоидов**

Table 4. Organoleptic characteristics of ice cream in the samples with different composition of hydrocolloids

Показатели	Образцы				
	1	2	3	4к	5к
Вкус и аромат	5,2 $\pm$ 0,0	5,6 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,1	5,6 $\pm$ 0,2	5,4 $\pm$ 0,2
Структура и консистенция	2,5 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,2
Цвет и внешний вид	1,0 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,0



Уравнение регрессии  $y=ax^2+bx+c$   
Коэффициенты уравнения, коэффициенты корреляции:  
• Образец 1:  
 $a=0,0001, b=1,33, c=-66,8, R^2=0,99$   
• Образец 2:  
 $a=0,0052, b=0,41, c=-38,0, R^2=0,99$   
• Образец 3:  
 $a=0,003, b=1,86, c=-84,6, R^2=0,99$   
• Образец 4к:  
 $a=0,01, b=-1,13, c=31,6, R^2=0,99$   
• Образец 5к:  
 $a=0,0014, b=1,03, c=-54,0, R^2=0,99$

**Рисунок 2. Зависимость массовой доли плава от продолжительности выдерживания в образцах мороженого с различными стабилизаторами**

Figure 2. Dependence of the mass fraction of melt on the duration of heat exposure for the ice cream samples with various stabilizers

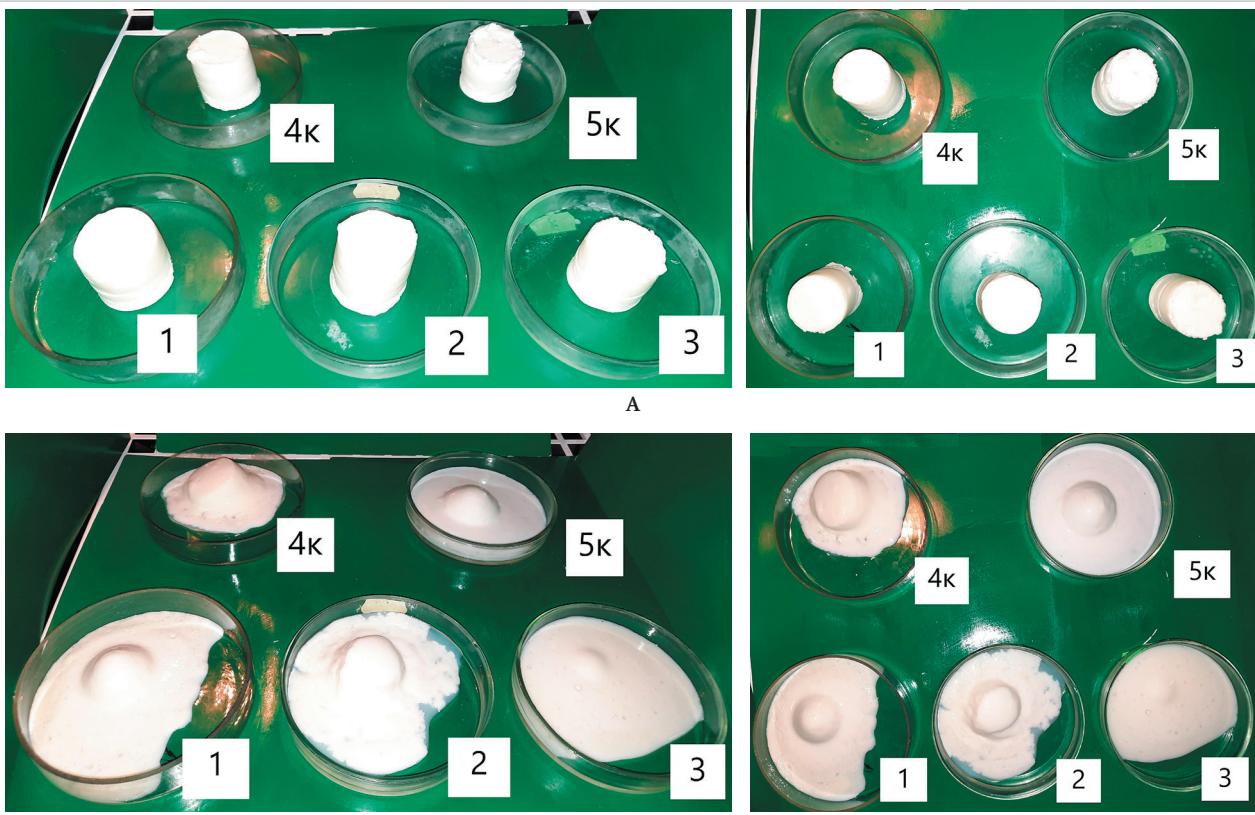


Рисунок 3. Состояние порций мороженого при выдерживании в термостате:  
А – начало термостатирования, Б – через 50 мин

Figure 3. The state of ice cream portions after exposure in a thermostat: A – at the beginning of thermostating, B – in 50 minutes

Дегустаторы заметили, что образец с волокнами и гуаровой камедью имеет более кремообразную консистенцию по сравнению с образцом, содержащим только цитрусовые волокна. Кроме того, структура образца с волокнами и ксантановой камедью получила более высокую оценку, чем образец, содержащий только волокна. Во всех образцах с волокнами отмечена характерная для цитрусовых волокон горечь. Таким образом, увеличение дозировки цитрусовых волокон свыше 0,6% невозможно из-за их негативного влияния на вкус. Приемлемый вкус мороженого достигается при их использовании в количестве не более 0,4%, что также коррелирует с дегустационной оценкой других авторов [28, 33].

#### 4. Выводы

В результате экспериментальных исследований были изучены показатели качества мороженого с низким содержанием жира, где в качестве стабилизаторов использовались цитрусовые волокна и их композиции с гуаровой и ксантановой камедями. Установлено, что для достижения технологической вязкости смеси применения только одних цитру-

совых волокон (образец № 1) недостаточно. Образцы № 2 и № 3 по данному показателю превосходили контрольные образцы: их вязкость по сравнению с желатином была выше в 1,3 и в 2 раза соответственно, а по сравнению с комплексной пищевой добавкой – в 1,8 и в 2,8 раза соответственно. Определено, что по показателю «дисперсность воздушной фазы» образцы с цитрусовыми волокнами не подлежат длительному хранению, что вызвано отсутствием эмульгатора при стабилизации структуры. По показателю «дисперсность кристаллов льда» опытные образцы уступали контрольным, однако через 3 мес. хранения на долю кристаллов размером до 50 мкм приходилось более 60% в образцах № 1 и № 2 и более 70% в образце № 3. По показателям формо- и термоустойчивости наиболее устойчивым был опытный образец с содержанием цитрусовых волокон и гуаровой камеди, также он характеризовался самой высокой твердостью среди опытных образцов. Твердость образца с волокнами и ксантановой камедью была в 2 раза ниже. Образцы с использованием цитрусовых волокон и камедей обладали наиболее высокими органолептическими показателями.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Pirsa, S., Hafezi, K. (2023). Hydrocolloids: Structure, preparation method, and application in food industry. *Food Chemistry*, 399, Article 133967. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133967>
- Himashree, P., Sengar, A. S., Sunil, C. K. (2022). Food thickening agents: Sources, chemistry, properties and applications – A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 27, Article 100468. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100468>
- Творогова, А. А. Мороженое в России и СССР: теория, практика. Развитие технологий. Спб: Профессия, 2021.
- Goff, H. D. (2019). The Structure and Properties of Ice Cream and Frozen Desserts. Chapter in a book: Encyclopedia of Food Chemistry (Vol.3). Elsevier Inc., 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21703-4>
- Cheng, J., Dudu, O. E., Li, X., Yan, T. (2020). Effect of emulsifier-fat interactions and interfacial competitive adsorption of emulsifiers with proteins on fat crystallization and stability of whipped-frozen emulsions. *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105491. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105491>
- Goff, H. D., Hartel, R. W. (2013) Ice cream. Springer, 2013. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6096-1>
- Loffredi, E., Moriano, M. E., Masseroni, L., Alamprese, C. (2021). Effects of different emulsifier substitutes on artisanal ice cream quality. *LWT*, 137, Article 110499. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110499>
- Blankart, M., Oellig, C., Averweg, S., Schwack, W., Hinrichs, J. (2020). Effect of storage at high temperature on chemical (composition) and

- techno-functional characteristics of E471 food emulsifiers applied to aerosol whipping cream. *Journal of Food Engineering*, 277, Article 109882. <https://doi.org/10.1016/j.foodeng.2019.109882>
9. Гурский, И. А., Творогова, А. А. (2022). Влияние количества желатина на показатели консистенции размороженного кисломолочного десерта. *Холодильная техника*, 2, 123–130. <https://doi.org/10.17816/RF108504>
  10. Sari, D., Nuraini, H., Suryati, T. (September 20–21, 2022). *Application of gelatin from chicken leg skin as a stabilizer in ice cream*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1097(1), Article 012036. Malang, Indonesia. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1097/1/012036>
  11. Alipal, J., Mohd Pu'ad, N. A. S., Lee, T. C., Nayan, N. H. M., Sahari, N., Basri, H. et al. (2021). A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialization. *Materials Today: Proceedings*, 42(Part 1), 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.922>
  12. Zhang, T., Xu, J., Zhang, Y., Wang, X., Lorenzo, J. M., Zhong, J. (2020). Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 113–131. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.005>
  13. Творогова, А. А., Коновалова, Т. В. (2015). Обоснование технологической функциональности нативных крахмалов в производстве мороженого без пищевых добавок. *Холодильная техника*, 6, 39–42.
  14. Yun, D., Wang, Z., Li, C., Chen, D., Liu, J. (2023). Antioxidant and antimicrobial packaging films developed based on the peel powder of different citrus fruits: A comparative study. *Food Bioscience*, 51, Article 102319. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102319>
  15. Ademosun, A. O. (2002). Citrus peels odyssey: From the waste bin to the dining table. *Applied Food Research*, 2(1), Article 100083. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100083>
  16. Lee, G. J., Lee, S. Y., Kang, N.-G., Jin, M. H. (2022). A multi-faceted comparison of phytochemicals in seven citrus peels and improvement of chemical composition and antioxidant activity by steaming. *LWT*, 160, Article 113297. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113297>
  17. Wedamulla, N. E., Fan, M., Choi, Y.-J., Kim, E.-K. (2022). Citrus peel as a renewable bioresource: Transforming waste to food additives. *Journal of Functional Foods*, 95, Article 105163. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105163>
  18. Qi, J.-R., Song, L.-W., Zeng, W.-Q., Liao, J.-S. (2020). Citrus fiber for the stabilization of O/W emulsion through combination of Pickering effect and fiber-based network. *Food Chemistry*, 343, Article 128523. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128523>
  19. Caggia, C., Palmeri, R., Russo, N., Timpone, R., Randazzo, C. L., Todaro, A. et al. (2020). Employ of citrus by-product as fat replacer ingredient for bakery confectionery products. *Frontiers in Nutrition*, 7, Article 46. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00046>
  20. Spina, A., Brighina, S., Muccilli, S., Mazzaglia, A., Fabroni, S., Fallico, B. et al. (2019). Wholegrain durum wheat bread fortified with citrus fibers: Evaluation of quality parameters during long storage. *Frontiers in Nutrition*, 6, Article 13. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00013>
  21. Jiang, Z., Mu, S., Ma, C., Liu, Y., Ma, Y., Zhang, M. et al. (2022). Consequences of ball milling combined with high-pressure homogenization on structure, physicochemical and rheological properties of citrus fiber. *Food Hydrocolloids*, 127, Article 107515. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107515>
  22. Serial, M. R., Velichko, E., Nikolaeva, T., den Adel, R., Terenzi, C., Bouwman, W. G. et al. (2021). High-pressure homogenized citrus fiber cellulose dispersions: Structural characterization and flow behavior. *Food Structure*, 30, Article 100237. <https://doi.org/10.1016/j.foastr.2021.100237>
  23. Agoda-Tandjawa, G., Mazoyer, J., Waldeck, J., Langendorff, V. (2020). Effects of sucrose addition on the rheological properties of citrus peel fiber suspensions before and after drying. *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105473. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105473>
  24. Su, D., Zhu, X., Adhikari, B., Li, D., Wang, L. (2020). Effect of high-pressure homogenization on the rheology, microstructure and fractal dimension of citrus fiber-oil dispersions. *Journal of Food Engineering*, 277, Article 109899. <https://doi.org/10.1016/j.foodeng.2019.109899>
  25. Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Pan, Q., Fan, R., Gao, Y. (2015). Physicochemical characterization of five types of citrus dietary fibers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(2), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.02.003>
  26. Liu, X., Sala, G., Scholten, E. (2022). Effect of fat aggregate size and percentage on the melting properties of ice cream. *Food Research International*, 160, Article 111709. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111709>
  27. Zhao, Y., Khalesi, H., He, J., Fang, Y. (2023). Application of different hydrocolloids as fat replacer in low-fat dairy products: Ice cream, yogurt and cheese. *Food Hydrocolloids*, 138, Article 108493. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108493>
  28. Dervisoglu, M., Yazici, F. (2006). Note. The effect of citrus fibre on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. *Food Science and Technology International*, 12(2), 159–164. <https://doi.org/10.1177/1082013206064005>
  29. X, E., Pei, Z. J., Schmidt, K. A. (2010). Ice Cream: Foam formation and stabilization—A Review. *Food Reviews International*, 26(2), 122–137. <https://doi.org/10.1080/87559120903564472>
  30. Baer, R. J., Wolkow, M. D., Kasperson, K. M. (1997). Effect of emulsifiers on the body and texture of low fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3123–3132. [https://doi.org/10.3168/jds.0022-0302\(97\)76283-0](https://doi.org/10.3168/jds.0022-0302(97)76283-0)
  31. Inoue, K., Ochi, H., Habara, K., Taketsuka, M., Saito, H., Ichihashi, N. et al. (2009). Modeling of the effect of freezer conditions on the hardness of ice cream using response surface methodology. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5834–5842. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2228>
  32. Muse, M. R., Hartel, R. W. (2004). Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of Dairy Science*, 87(1), 1–10. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73135-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73135-5)
  33. Yu, B., Zeng, X., Wang, L., Regenstein, J. M. (2020). Preparation of nanofibrillated cellulose from grapefruit peel and its application as fat substitute in ice cream. *Carbohydrate Polymers*, 254, Article 117415. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117415>

## REFERENCES

1. Pirsa, S., Hafezi, K. (2023). Hydrocolloids: Structure, preparation method, and application in food industry. *Food Chemistry*, 399, Article 133967. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133967>
2. Himashree, P., Sengar, A. S., Sunil, C. K. (2022). Food thickening agents: Sources, chemistry, properties and applications — A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, Vol. 27, Article 100468. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100468>
3. Tvorogova, A. A. (2021) Ice cream in Russia and the USSR: Theory, practice. Technology development. St. Petersburg: Professija, 2021. (In Russian)
4. Goff, H. D. (2019). The Structure and Properties of Ice Cream and Frozen Desserts. Chapter in a book: Encyclopedia of Food Chemistry (Vol.3). Elsevier Inc., 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21703-4>
5. Cheng, J., Dudu, O. E., Li, X., Yan, T. (2020). Effect of emulsifier-fat interactions and interfacial competitive adsorption of emulsifiers with proteins on fat crystallization and stability of whipped-frozen emulsions. *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105491. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105491>
6. Goff, H. D., Hartel, R. W. (2013). Ice cream. Springer, 2013. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6096-1>
7. Loffredi, E., Moriano, M. E., Masseroni, L., Alamprese, C. (2021). Effects of different emulsifier substitutes on artisanal ice cream quality. *LWT*, 137, Article 110499. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110499>
8. Blankart, M., Oellig, C., Averweg, S., Schwack, W., Hinrichs, J. (2020). Effect of storage at high temperature on chemical (composition) and techno-functional characteristics of E471 food emulsifiers applied to aerosol whipping cream. *Journal of Food Engineering*, 277, Article 109882. <https://doi.org/10.1016/j.foodeng.2019.109882>
9. Gurskii, I. A., Tvorogova, A. A. (2022). Influence of the gelatin amount on the indicators of a defrosted fermented milk dessert texture. *Kholodilnaya Tekhnika*, 2, 123–130. <https://doi.org/10.17816/RF108504> (In Russian)
10. Sari, D., Nuraini, H., Suryati, T. (September 20–21, 2022). *Application of gelatin from chicken leg skin as a stabilizer in ice cream*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1097(1), Article 012036. Malang, Indonesia. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1097/1/012036>
11. Alipal, J., Mohd Pu'ad, N. A. S., Lee, T. C., Nayan, N. H. M., Sahari, N., Basri, H. et al. (2021). A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialization. *Materials Today: Proceedings*, 42(Part 1), 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.922>
12. Zhang, T., Xu, J., Zhang, Y., Wang, X., Lorenzo, J. M., Zhong, J. (2020). Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 113–131. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.005>
13. Tvorogova, A. A., Konovalova, T. V. (2015). Grounds of technological functionality of native starches in ice cream production without food additives. *Холодильная Техника*, 6, 39–42. <https://doi.org/10.17816/RF108504> (In Russian)
14. Yun, D., Wang, Z., Li, C., Chen, D., Liu, J. (2023). Antioxidant and antimicrobial packaging films developed based on the peel powder of different citrus fruits: A comparative study. *Food Bioscience*, 51, Article 102319. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102319>
15. Ademosun, A. O. (2002). Citrus peels odyssey: From the waste bin to the lab bench to the dining table. *Applied Food Research*, 2(1), Article 100083. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100083>
16. Lee, G. J., Lee, S. Y., Kang, N.-G., Jin, M. H. (2022). A multi-faceted comparison of phytochemicals in seven citrus peels and improvement of chemical composition and antioxidant activity by steaming. *LWT*, 160, Article 113297. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113297>
17. Wedamulla, N. E., Fan, M., Choi, Y.-J., Kim, E.-K. (2022). Citrus peel as a renewable bioresource: Transforming waste to food additives. *Journal of Functional Foods*, 95, Article 105163. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105163>
18. Qi, J.-R., Song, L.-W., Zeng, W.-Q., Liao, J.-S. (2020). Citrus fiber for the stabilization of O/W emulsion through combination of Pickering effect and fiber-based network. *Food Chemistry*, 343, Article 128523. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128523>
19. Caggia, C., Palmeri, R., Russo, N., Timpone, R., Randazzo, C. L., Todaro, A. et al. (2020). Employ of citrus by-product as fat replacer ingredient for bakery confectionery products. *Frontiers in Nutrition*, 7, Article 46. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00046>
20. Spina, A., Brighina, S., Muccilli, S., Mazzaglia, A., Fabroni, S., Fallico, B. et al. (2019). Wholegrain durum wheat bread fortified with citrus fibers: Evaluation of quality parameters during long storage. *Frontiers in Nutrition*, 6, Article 13. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00013>
21. Jiang, Z., Mu, S., Ma, C., Liu, Y., Ma, Y., Zhang, M. et al. (2022). Consequences of ball milling combined with high-pressure homogenization on structure, physicochemical and rheological properties of citrus fiber. *Food Hydrocolloids*, 127, Article 107515. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107515>
22. Serial, M. R., Velichko, E., Nikolaeva, T., den Adel, R., Terenzi, C., Bouwman, W. G. et al. (2021). High-pressure homogenized citrus fiber cellulose dispersions: Structural characterization and flow behavior. *Food Structure*, 30, Article 100237. <https://doi.org/10.1016/j.foastr.2021.100237>
23. Agoda-Tandjawa, G., Mazoyer, J., Waldeck, J., Langendorff, V. (2020). Effects of sucrose addition on the rheological properties of citrus peel fiber suspensions before and after drying. *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105473. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105473>
24. Su, D., Zhu, X., Adhikari, B., Li, D., Wang, L. (2020). Effect of high-pressure homogenization on the rheology, microstructure and fractal dimension of citrus fiber-oil dispersions. *Journal of Food Engineering*, 277, Article 109899. <https://doi.org/10.1016/j.foodeng.2019.109899>
25. Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Pan, Q., Fan, R., Gao, Y. (2015). Physicochemical characterization of five types of citrus dietary fibers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(2), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.02.003>
26. Liu, X., Sala, G., Scholten, E. (2022). Effect of fat aggregate size and percentage on the melting properties of ice cream. *Food Research International*, 160, Article 111709. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111709>
27. Zhao, Y., Khalesi, H., He, J., Fang, Y. (2023). Application of different hydrocolloids as fat replacer in low-fat dairy products: Ice cream, yogurt and cheese. *Food Hydrocolloids*, 138, Article 108493. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108493>
28. Dervisoglu, M., Yazici, F. (2006). Note. The effect of citrus fibre on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. *Food Science and Technology International*, 12(2), 159–164. <https://doi.org/10.1177/1082013206064005>
29. X, E., Pei, Z. J., Schmidt, K. A. (2010). Ice Cream: Foam formation and stabilization—A Review. *Food Reviews International*, 26(2), 122–137. <https://doi.org/10.1080/87559120903564472>
30. Baer, R. J., Wolkow, M. D., Kasperson, K. M. (1997). Effect of emulsifiers on the body and texture of low fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3123–3132. [https://doi.org/10.3168/jds.0022-0302\(97\)76283-0](https://doi.org/10.3168/jds.0022-0302(97)76283-0)
31. Inoue, K., Ochi, H., Habara, K., Taketsuka, M., Saito, H., Ichihashi, N. et al. (2009). Modeling of the effect of freezer conditions on the hardness of ice cream using response surface methodology. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5834–5842. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2228>
32. Muse, M. R., Hartel, R. W. (2004). Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of Dairy Science*, 87(1), 1–10. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73135-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73135-5)
33. Yu, B., Zeng, X., Wang, L., Regenstein, J. M. (2020). Preparation of nanofibrillated cellulose from grapefruit peel and its application as fat substitute in ice cream. *Carbohydrate Polymers*, 254, Article 117415. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117415>

19. Caggia, C., Palmeri, R., Russo, N., Timpone, R., Randazzo, C. L., Todaro, A. et al. (2020). Employ of Citrus By-product as Fat Replacer Ingredient for Bakery Confectionery Products. *Frontiers in Nutrition*, 7, Article 46. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00046>
20. Spina, A., Brighina, S., Muccilli, S., Mazzaglia, A., Fabroni, S., Fallico, B. et al. (2019). Wholegrain durum wheat bread fortified with citrus fibers: Evaluation of quality parameters during long storage. *Frontiers in Nutrition*, 6, Article 13. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00013>
21. Jiang, Z., Mu, S., Ma, C., Liu, Y., Ma, Y., Zhang, M. et al. (2022). Consequences of ball milling combined with high-pressure homogenization on structure, physicochemical and rheological properties of citrus fiber. *Food Hydrocolloids*, 127, Article 107515. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107515>
22. Serial, M. R., Velichko, E., Nikolaeva, T., den Adel, R., Terenzi, C., Bouwman, W. G. et al. (2021). High-pressure homogenized citrus fiber cellulose dispersions: Structural characterization and flow behavior. *Food Structure*, 30, Article 100237. <https://doi.org/10.1016/j.foodstr.2021.100237>
23. Agoda-Tandjawa, G., Mazoyer, J., Wallegan, J., Langendorff, V. (2020). Effects of sucrose addition on the rheological properties of citrus peel fiber suspensions before and after drying. *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105473. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105473>
24. Su, D., Zhu, X., Adhikari, B., Li, D., Wang, L. (2020). Effect of high-pressure homogenization on the rheology, microstructure and fractal dimension of citrus fiber-oil dispersions. *Journal of Food Engineering*, 277, Article 109899. <https://doi.org/10.1016/j.jfooodeng.2019.109899>
25. Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Pan, Q., Fan, R., Gao, Y. (2015). Physicochemical characterization of five types of citrus dietary fibers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(2), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.02.003>
26. Liu, X., Sala, G., Scholten, E. (2022) Effect of fat aggregate size and percentage on the melting properties of ice cream. *Food Research International*, 160, Article 111709. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111709>
27. Zhao, Y., Khalesi, H., He, J., Fang, Y. (2023). Application of different hydrocolloids as fat replacer in low-fat dairy products: Ice cream, yogurt and cheese. *Food Hydrocolloids*, 138, Article 108493. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108493>
28. Dervisoglu, M., Yazici, F. (2006). Note. The effect of citrus fibre on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. *Food Science and Technology International*, 12(2), 159–164. <https://doi.org/10.1177/1082013206064005>
29. X, E., Pei, Z. J., Schmidt, K. A. (2010). Ice Cream: Foam Formation and Stabilization – A Review. *Food Reviews International*, 26(2), 122–137. <https://doi.org/10.1080/87559120903564472>
30. Baer, R. J., Wolkow, M. D., Kasperson, K. M. (1997). Effect of Emulsifiers on the Body and Texture of Low Fat Ice Cream. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3123–3132. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(97\)76283-0](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(97)76283-0)
31. Inoue, K., Ochi, H., Habara, K., Taketsuka, M., Saito, H., Ichihashi, N. et al. (2009). Modeling of the effect of freezer conditions on the hardness of ice cream using response surface methodology. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5834–5842. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2228>
32. Muse, M. R., Hartel, R. W. (2004). Ice Cream Structural Elements that Affect Melting Rate and Hardness. *Journal of Dairy Science*, 87(1), 1–10. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73135-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73135-5)
33. Yu, B., Zeng, X., Wang, L., Regenstein, J. M. (2020). Preparation of nanofibrillated cellulose from grapefruit peel and its application as fat substitute in ice cream. *Carbohydrate Polymers*, 254, Article 117415. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117415>

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ****Принадлежность к организации**

**Ландиховская Анна Валентиновна** — кандидат технических наук, научный сотрудник, лаборатория технологии мороженого, ВНИХИ — филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН  
127422, Москва, ул. Костякова, 12  
Тел.: 7-495-610-83-85  
E-mail: anna.landih@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5881-2309>  
\* автор для контактов

**Творогова Антонина Анатольевна** — доктор технических наук, доцент, заместитель директора, ВНИХИ — филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН  
127422, Москва, ул. Костякова, 12  
Тел.: 7-495-610-83-85  
E-mail: antvorogova@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7293-9162>

**Критерии авторства**

Ландиховская А. В. — обзор литературы, проведение и обработка результатов экспериментальных исследований.  
Творогова А. А. — научное руководство исследованиями.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**AUTHOR INFORMATION****Affiliation**

**Anna V. Landikhovskaya**, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Ice Cream Technology Laboratory, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry  
12, Kostyukova str, Moscow, 127422, Russia Tel.: +7-495-610-83-85  
E-mail: anna.landih@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5881-2309>  
\* corresponding author

**Antonina A. Tvorogova**, Doctor of Technical Sciences, Docent, Deputy Director, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry  
12, Kostyukova str, Moscow, 127422, Russia  
Tel.: +7-495-610-83-85  
E-mail: antvorogova@yandex.ru  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7293-9162>

**Contribution**

Landikhovskaya A.V. — Literature review, conducting and processing the results of experimental studies.  
Tvorogova A. A. — scientific adviso of research.

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.