

Volume 7, Issue 2, 2024

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
FOOD SYSTEMS

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

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (On line)

<http://www.fsjour.com>

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

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации

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

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
www.fsjour.com

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

РЕДАКЦИЯ

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

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-71610 от 13.11.2017

ЭЛ № ФС 77-72022 от 26.12.2017

Издается с 2018 года.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0

Цена свободная.

Периодичность — 4 номера в год.

Подписано в печать 30.06.2024.

Дата выхода в свет 02.07.2024.

Тираж 300 экз. Заказ № 545.

© ФНЦПС, 2024

© Авторы, 2024

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

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

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

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

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

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

Tarek Gamal Abdelmaksoud — Доктор пищевых наук, Адъюнкт-профессор Кафедры пищевых наук, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

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 биорегулированного 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



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

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

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

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

FOOD SYSTEMS
www.fsjour.com

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

EDITORIAL OFFICE:

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

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

The certificate of registration is
PI № FS 77 – 71610 of 13.11.2017
EL № FS 77 – 72022 of 26.12.2017

Founded in 2018.

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

Frequency — 4 issues a year.

Signed print 30.06.2024.

Released from press 02.07.2024.

Circulation — 300 copies. Order № 545.



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

© FNCPS, 2024
© Authors, 2024

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

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

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

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

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

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

Tarek Gamal Abedelmaksoud, PhD of Food Science, Associate Professor, Food Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

PRODUCTION EDITOR:

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

MEMBERS OF THE EDITORIAL BOARD:

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

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

Aram G. Galstyan, Doctor of technical sciences, Academician of RAS, Director, All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia

Irina M. Donnik, Doctor of biological sciences, Professor, Academician of RAS, Vice president of RAS, Moscow, Russia

Ivan A. Evdokimov, Doctor of technical sciences, Professor, Head of the chair “Technology of milk and dairy products”, North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

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

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

Natal'ya G. Mashentseva, Doctor of technical sciences, Professor RAS, Professor, Chair of Biotechnology and Technology of Products of Bioorganic Synthesis, Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia

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

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

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

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

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



СОДЕРЖАНИЕ

Ландиговская А. В., Творогова А. А., Кочнева С. Е. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КСАНТАНОВОЙ КАМЕДИ В МОЛОКОСОДЕРЖАЩЕМ МОРОЖЕНОМ С МИКРОПАРТИКУЛЯТОМ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ	182
Алексаночкин Д. И., Фоменко И. А., Алексеева Е. А., Чернуха И. М., Машенцева Н. Г. ПОЛУЧЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА ИЗ СЕМЯН И ЖМЫХА ПРОМЫШЛЕННОЙ КОНОПЛИ: ОБЗОР СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ	188
Творогова А. А., Гурский И. А., Богданова Ю. И. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА НИЗКОЛАКТОЗНОГО МОРОЖЕНОГО С КОНЦЕНТРАТАМИ МОЛОЧНЫХ И СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ.....	198
Утьянов Д. А., Куликовский А. В., Хвостов Д. В., Курзова А. А. ОБРАЗОВАНИЕ МЕIQX И РНIP В МОДЕЛЬНЫХ МАТРИЦАХ ИЗ АМИНОКИСЛОТ, УГЛЕВОДОВ И КРЕАТИНА	206
Ahmed A. Abd El-Maksoud, Mohamed A. Radwan, Hassan A. F. Rahmy, Fouad M. F. Elshaghabee, Ahmed M. Hamed AGRO-INDUSTRIAL BY-PRODUCTS AS A FEEDING STRATEGY FOR PRODUCING FUNCTIONAL MILK	213
Чернуха И. М., Тихонов С. Л., Тихонова Н. В. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПЕПТИДНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ СОЗДАНИЯ БИОПЕПТИДОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ: МИНИ-ОБЗОР.....	220
Дубцова Г. Н., Витол И. С. БЕЗГЛЮТЕНОВЫЕ СНЕКИ НА ОСНОВЕ МУЧНОЙ КОМПОЗИТНОЙ СМЕСИ, ОБОГАЩЕННЫЕ ПРЯНОСТЬЮ АСАФЕТИДА (FERULA ASSA-FOETIDA).....	225
Петрунина И. В., Горбунова Н. А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ ЭКОНОМИКИ ЗАМКНУТОГО ЦИКЛА В ОТДЕЛЬНЫХ ОТРАСЛЯХ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА.....	231
Барковская И. А., Кручинин А. Г., Рожкова И. В. ДЕФИЦИТ ЙОДА В РОССИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ, МИРОВАЯ ПРАКТИКА И НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ.....	238
Мельникова Е. И., Станиславская Е. Б., Богданова Е. В., Шабалова Е. Д. ОБОСНОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ИЗОЛЯТА СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ	246
Пчелкина В. А. ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА МЯСА И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ.....	253
Yousif M. A. Idris, Abdalbasit A. Mariod, Khansaa F. Mohamedin, Amna S. Alshafi FOOD SAFETY KNOWLEDGE AND PRACTICES OF FOOD HANDLERS AT A PUBLIC SUDANESE UNIVERSITY	263
Мазукабзова Э. В. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ТРЕБОВАНИЯ К СЫРЬЮ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ ГЛАЗУРИ	268
Свириденко Г. М., Шухалова О. М., Вахрушева Д. С., Мамыкин Д. С. ФОРМИРОВАНИЕ РИСУНКА СЫРОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОНОВИДОВЫХ КУЛЬТУР	276
Вафин Р. Р., Михайлова И. Ю., Агейкина И. И. МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ГЕНОИДЕНТИФИКАЦИИ ЧАЙНОГО СЫРЬЯ И СЫРЬЕВОГО СОСТАВА БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ НА ОСНОВЕ ЧАЯ.....	282
Дыдыкин А. С., Зубарев Ю. Н., Логунова Е. И., Кузлякина Ю. А. ОЦЕНКА РИСКОВ ПРОИЗВОДСТВА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДИКИ RSA	288
Посокина Н. Е., Захарова А. И. СОВРЕМЕННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ОБРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ЕГО ХРАНИМОСПОСОБНОСТИ.....	298
Кучеренко И. В., Кураева Е. В., Масежная Е. С. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ЗАМОРАЖИВАНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КУЛЬТУР ЛАКТОКОККОВ ПРИ ЛИОФИЛИЗАЦИИ	305
Mochamad R. T. Alifiansyah, Mochammad A. Herdiansyah, Rahma C. Pratiwi, Ragil P. Pramesti, Nisriena W. Hafsyah, Athaya. P. Rania, Justitia E. R. P. Putra, Putri A. Cahyono, Litazkiyyah, Sirojuddin K. Muhammad, Ahmad A. A. Murtadlo, Viol D. Kharisma, Arif N. M. Ansori, Vikash Jakhmola, Praveen K. Ashok, Jyoti M. Kalra, Hery Purnobasuki, Intan Ayu Pratiwi QSAR OF ACYL ALIZARIN RED BIOCOMPOUND DERIVATIVES OF RUBIA TINCTORUM ROOTS AND ITS ADMET PROPERTIES AS ANTI-BREAST CANCER CANDIDATES AGAINST MMP-9 PROTEIN RECEPTOR: IN SILICO STUDY.....	312

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-182-187>

Поступила 16.01.2024

Поступила после рецензирования 08.04.2024

Принята в печать 15.04.2024

© Ландиховская А. В., Творогова А. А., Кочнева С. Е., 2024

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

Научная статья

Open access

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КСАНТАНОВОЙ КАМЕДИ В МОЛОКОСОДЕРЖАЩЕМ МОРОЖЕНОМ С МИКРОПАРТИКУЛЯТОМ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ

Ландиховская А. В.*, Творогова А. А., Кочнева С. Е.

Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

гидроколлоиды,
вязкоупругие
характеристики,
структура,
воздушная фаза,
кристаллы льда

Гидроколлоиды стабилизационных систем являются необходимыми компонентами в производстве мороженого. Они влияют на вязкость, стабилизацию структурных элементов и скорость таяния. Особенно важна их роль в производстве мороженого с низким содержанием жира и сухого обезжиренного молочного остатка. В настоящее время специализированные стабилизационные системы для изготовления такого мороженого отсутствуют. Кроме того, при выборе стабилизационных систем существуют проблемы экономического характера, связанные с увеличением цены на эффективный полисахарид — камедь рожкового дерева. Целью исследования являлось обоснование состава эффективной композиции гидроколлоидов с использованием доступной их разновидности ксантановой камеди с целью применения в производстве молокосодержащего мороженого (с пониженным содержанием жира и сухих обезжиренных веществ молока). Для достижения наилучших показателей качества в молокосодержащее мороженое был введен микропартикулят сыровоточных белков. На основании синергетических свойств гидроколлоидов по показателю «динамическая вязкость» был определен состав 4 композиций с содержанием ксантановой камеди 8,6% (в образцах № 1 и № 2), 16% (в образце № 3) и 3% (в образце № 4). В качестве контрольного образца было выработано мороженое с комплексной стабилизационной системой торговой марки Cremodan 334. Во всех образцах были определены следующие показатели: динамическая вязкость, вязкоупругие характеристики (твердость, адгезионная сила, клейкость), скорость таяния, состояние и дисперсность воздушной фазы и кристаллов льда. Все разработанные композиции по показателю «вязкость» превосходили контрольный образец в 1,2–2 раза. Было установлено, что замена фракции каппа-каррагинана в количестве 50% на йота-каррагинан в сочетании с гуаровой и ксантановой камедями приводит к снижению вязкости в 1,3 раза. В образцах с испытуемыми гидроколлоидными композициями произошло снижение вязкоупругих характеристик. При использовании йота-каррагинана (образцы № 2 и № 4) было выявлено заметное уменьшение термоустойчивости мороженого в образце № 4. Кроме того, наблюдалось снижение дисперсности воздушной фазы (содержание воздушных пузырьков размером до 50 мкм сократилось почти на 30%). На основании результатов исследований было установлено, что композиция гидроколлоидов образца мороженого № 1, состоящая из моно- и диглицеридов жирных кислот, гуаровой камеди, ксантановой камеди и каппа-каррагинана, позволяет получать продукт с технологически необходимыми показателями качества и с наиболее кремообразной консистенцией.

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 16.01.2024

Accepted in revised 08.04.2024

Accepted for publication 15.04.2024

© Landikhovskaya A. V., Tvorogova A. A., Kochneva S. E., 2024

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

Original scientific article

Open access

THE USE OF XANTHAN GUM IN A MILK-CONTAINING ICE CREAM WITH THE WHEY PROTEIN MICROPARTICULATE

Anna V. Landikhovskaya*, Antonina A. Tvorogova, Svetlana E. Kochneva

All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry

KEY WORDS:

hydrocolloids,
visco-elastic
characteristics,
structure, air phase,
ice crystals

ABSTRACT

Hydrocolloids of stabilization systems are necessary components in ice cream production. They influence viscosity, stabilization of structural elements and melting rate. Their role is especially important in production of ice cream with the low content of fat and nonfat milk solids. Today, specialized stabilization systems for production of such ice cream are absent. Moreover, when choosing stabilization systems, there are problems of economic character that are linked with an increase in prices on the effective polysaccharide — locust bean gum. The aim of the research was substantiation of the composition of the effective formulation of hydrocolloids using their available variety, xanthan gum, to use in production of milk-containing ice cream (with the reduced content of fat and dry nonfat milk substances). To achieve the best quality indicators, a whey protein microparticulate was introduced into milk-containing ice cream. Based on the synergetic properties of hydrocolloids in terms of dynamic viscosity, the composition of four formulations was determined with the content of xanthan gum of 8.6% (in samples 1 and 2), 16% (in sample 3) and 3% (in sample 4). Ice cream with the complex stabilization system of the trademark Cremodan 334 was produced as a control sample. The following indicators were determined in all samples: dynamic viscosity, visco-elastic characteristics (hardness, adhesion strength, gumminess), melting rate, condition and dispersity of the air phase and ice crystals. All developed formulations were superior to the control sample in terms of viscosity by 1.2–2 times. It has been found that replacement of the kappa-carrageenan fraction with iota-carrageenan in combination with guar gum and xanthan gum in an amount of 50% leads to a decrease in viscosity by 1.3 times. A reduction of visco-elastic characteristics was noted in the samples of hydrocolloid formulations under study. When using iota-carrageenan (samples 2 and 4), a notable reduction of thermal stability of ice cream was revealed in sample 4. Furthermore, a decrease in dispersity of the air phase was observed; the content of air bubbles with a size of 50 µm reduced by almost 30%. Based on the results of the investigations, it has been established that the formulation of hydrocolloids of ice cream sample 1, which consists of mono- and di-glycerides of fatty

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Ландиховская, А. В., Творогова, А. А., Кочнева, С. Е. (2024). Использование ксантановой камеди в молокосодержащем мороженом с микропартикулятом сыровоточных белков. *Пищевые системы*, 7(2), 182–187. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-182-187>

FOR CITATION: Landikhovskaya, A. V., Tvorogova, A. A., Kochneva, S. E. (2024). The use of xanthan gum in a milk-containing ice cream with the whey protein microparticulate. *Food Systems*, 7(2), 182–187. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-182-187>

acids, guar gum, xanthan gum and kappa-carrageenan, allows obtaining a product with technologically necessary quality indicators and the most cream-like consistency.

FUNDING: The article is prepared as part of the research under the State Assignment No. FGUS-2022-0013 of Gorbатов Federal State Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences.

1. Введение

В производстве мороженого стабилизаторы являются технологически необходимыми ингредиентами. В качестве стабилизаторов применяют гидроколлоиды (полисахариды и белки) [1]. Основная роль гидроколлоидов в мороженом — влияние на вязкость смеси, необходимый уровень которой способствует формированию кремообразной консистенции, обеспечивает устойчивость к таянию и оказывает положительное влияние на процесс формирования кристаллов льда, а также препятствует их рекристаллизации в процессе хранения мороженого [2].

Гидроколлоиды бывают животного происхождения (желатин, хитозан), продуктами ферментации (ксантановая и геллановая камеди), частью растений (пектин), экстрактами водорослей (каррагинаны и агар) и семян (камеди гуаровая, рожковая, тара) и др. [3,4]. Молекулы гидроколлоидов содержат большое количество гидроксильных групп, позволяющих им взаимодействовать между собой и с другими веществами, усиливая эффективность друг друга [5]. Повышение функциональных свойств гидроколлоидов является целью создания их синергетических композиций. Наиболее применяемыми стабилизаторами в составе их композиций для мороженого являются камеди (рожковая, гуаровая, тары), каппа-каррагинан и карбоксиметилцеллюлоза.

Обязательным компонентом композиций гидроколлоидов является каррагинан. Каппа- и йота каррагинаны чаще всего используются в качестве стабилизаторов для мороженого, несмотря на отличие их функциональных свойств [6,7,8]. Каппа разновидность образует комплексы с белком, что повышает стабильность коллоидных систем, в частности связывается с поверхностью мицелл казеина и препятствует расслоению молочных продуктов [9]. Однако взаимодействие каппа-каррагинана с мицеллами казеина ослабляется после цикла температурных колебаний [10].

Часто в составе композиций гидроколлоидов для мороженого присутствует гуаровая камедь, которая известна как сравнительно дешевый и эффективный загуститель. Благодаря большому количеству водородных связей, она способствует формированию высокой вязкости растворов с выраженной псевдопластичной текучестью, что делает ее одним из самых популярных стабилизаторов [11,12].

Наиболее эффективным гидроколлоидом стабилизационных систем в производстве мороженого признана камедь рожкового дерева, основным эффектом от использования которой является положительное влияние на дисперсность кристаллов льда и ее сохранение в процессе хранения готового продукта. Однако в настоящее время отмечается ее дефицит на рынке сырья. Практический интерес представляет подбор гидроколлоида для замены камеди рожкового дерева по технологическим свойствам. На текущий момент доступной для использования в составе комплексных пищевых добавок является ксантановая камедь, поставляемая из Китая. Ксантановая камедь — биополимер, получаемый микробным синтезом. Она образует высоковязкие растворы, характеризуется способностью переходить в коллоидную степень дисперсности (растворяться) как в холодной, так и в горячей воде [13,14]. Благодаря высокому содержанию гидроксильных групп и их расположению в молекуле, ксантановая камедь удерживает большое количество воды, тем самым предотвращая рост кристаллов льда при замораживании продуктов питания [15]. Сочетания ксантановой камеди с гуаровой или с каппа-каррагинаном способствуют увеличению динамической вязкости, а ее взаимодействие с камедью рожкового дерева вызывает образование гелей [16].

Усилить функциональные свойства полисахаридов можно при их совместном использовании с белками [17,18]. Их межмолекулярное взаимодействие позволяет увеличить вязкость коллоидных систем, усилить стабилизацию на границе раздела фаз [19]. В качестве белковых компонентов можно использовать концентраты и изоляты сывороточных белков, концентраты молочного белка и микропартикулы сывороточного белка. Сывороточные белки обладают важными технологически функциональными качествами, такими, как способность к гелеобразованию, к стабилизации эмульсий и пен. Казеин стабилизирует эмульсии, повышает термостабильность пищевых продуктов [20], что обусловлено отсутствием вторичных и третичных структур [21]. Несмотря на отличие белков по свойствам, при

взаимодействии с полисахаридами они способствуют формированию необходимых реологических и органолептических характеристик молочных продуктов. Влияние на реологические и текстурные свойства продукта полисахаридов и белков происходит вследствие их взаимодействия в незамороженной плазме мороженого [22].

Комплексные стабилизационные системы для мороженого, представленные на рынке сырья, предназначены для разновидностей мороженого с содержанием СОМО 10–11% (при содержании сухих веществ молока не менее 40%). В последнее время возрастает интерес к производству мороженого со сниженным содержанием сухих веществ молока. Новая разновидность мороженого (молокосодержащее) характеризуется массовой долей жира 1–6% и СОМО 3–6%¹ при содержании сухих веществ молока не менее 20%. Ввиду малого количества жира и белка в составе СОМО в этой разновидности мороженого необходимо совершенствование его химического состава для достижения приемлемых технологически и органолептически значимых показателей качества. В частности, эта цель может достигаться путем совершенствования состава стабилизационных систем на базе доступных гидроколлоидов и посредством дополнительного введения белка с концентратами белков, являющихся продуктами переработки побочной продукции молочного производства (обезжиренного молока и сыворотки). При этом особый интерес представляет применение микропартикулята сывороточных белков, обладающего функциональными свойствами белков и способностью усиливать сенсорное ощущение содержания жира, вызываемое модификацией молекул с получением частиц, близких по размеру к жировой фазе мороженого [23].

Целью данной работы являлась разработка композиций гидроколлоидов с использованием ксантановой камеди и апробирование ее в производстве молокосодержащего мороженого с микропартикулятом сывороточного белка.

2. Объекты и методы

2.1. Объекты исследования

В качестве изучаемых гидроколлоидов были выбраны камеди: тары (CEROTA, Roepert, Германия), ксантановая (E415, Китай), конжак-овая (E425, Китай), гуаровая (E412, RICOL-RG-255, Индия), каппа- и йота каррагинаны (E407, Китай). В качестве эмульгатора в составе стабилизационных систем использовались эфиры полиглицерина и жирных кислот BADE GMS90 (E471, Турция).

Для производства молокосодержащего мороженого применяли следующее сырье: сливочное масло с массовой долей жира 82,5% (Россия), сухое обезжиренное молоко (ООО «Юговский комбинат молочных продуктов», Россия), сахар (ТМ «Русский сахар», Россия), мальтодекстрин (Россия), концентрат сывороточных белков — микропартикулят КСБ-УФ-55 (АО «Молочный комбинат „Ставропольский“», Россия), Cremodan 334 VEG (Danisco, Дания).

Молокосодержащее мороженое характеризовалось следующим химическим составом: массовая доля молочного жира — 4%, СОМО — 3%, содержание сахарозы — 15,5%, МПСБ — 4,2%, мальтодекстрина — 2,3%. Стабилизационную систему вносили из расчета 7 г/кг. В качестве контрольного образца использовали молокосодержащее мороженое с МПСБ, в качестве контроля стабилизационной системы — ее широко применяемую разновидность с торговой маркой Cremodan 334, включающую моноглицериды и диглицериды жирных кислот, гуаровую камедь, карбоксиметилцеллюлозу и каррагинан.

2.2. Технологический процесс

Процесс приготовления мороженого состоял из традиционных стадий технологического процесса: смешивание сухих компонентов между собой и их внесение в воду, нагревание смеси компонентов до 65 °С и добавление сливочного масла, пастеризацию, гомогенизацию, охлаждение, созревание и фризирование смеси, фасование и закаливание мороженого. Смесь эмульгатора со стабилизаторами предварительно смешивали с сахаром.

¹ Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2011 «О безопасности молока и молочной продукции» (с изменениями на 23 сентября 2022 года). Утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 9 октября 2013 года № 67.

2.3. Методы исследований

Динамическую вязкость смеси определяли на вискозиметре DV-II+ PRO с ПО Rheocalc V3 1–1 (Brookfield, США). Смесь и растворы гидроколлоидов предварительно охлаждали до температуры $(4,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и проводили измерения.

Методика определения взбитости описана в ГОСТ 31457–2012². Использовали фризёр периодического действия LABO 8/12 XPL P (CARPIGANI, Италия) с автоматическим управлением.

Показатели термоустойчивости рассчитывали по методике ВНИИХИ [24].

Твердость, адгезивную силу и клейкость определяли на текстуromетре 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 его погружения в поверхность продукта — 5 мм. Температура образца при измерении — минус 18°C .

Состояние воздушной фазы и кристаллов льда, а также их дисперсность оценивали с использованием биологического микроскопа CX-41 (Olympus, Япония) и программного обеспечения ImageScore M (Россия). Для сохранения кристаллов льда применяли системы Пельтье PE120 (Linkam, Великобритания), позволяющие проводить исследования при температуре минус 18°C .

При проведении органолептической оценки использовали ГОСТ Р ИСО 22935–2–2011³, дегустацию проводили при температуре образцов минус $(14 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Обработку данных осуществляли с применением программ Microsoft Excel, Statistica 10 и Past 4.03. Для оценки статистически значимых различий между образцами задействовали однофакторный 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 первой стадии исследований были разработаны синергетические композиции гидроколлоидов по показателю «динамическая вязкость». При формировании композиций гидроколлоидов были учтены показатели вязкости каждого гидроколлоида в отдельности с содержанием камедей 0,3 г на 100 г молочной основы, а каррагинана — 0,046 г. Вязкость молочной основы с ксантановой камедью при градиенте сдвига $0,67 \text{ c}^{-1}$ была на уровне $812 \text{ мПа} \cdot \text{с}$, с каппа-каррагинаном — $223 \text{ мПа} \cdot \text{с}$, с йота-каррагинаном — $72 \text{ мПа} \cdot \text{с}$, с гуаровой камедью — $361 \text{ мПа} \cdot \text{с}$. Из представленных данных следует, что наибольшая вязкость молочной основы достигается при использовании ксантановой камеди, наименьшая — при применении йота-каррагинана. Стоит обратить внимание, что вязкость молочной основы в зависимости от используемой фракции каррагинана отличалась в 3 раза.

Таким образом, очевидно, что для технологически необходимого повышения вязкости смесей молокосодержащего мороженого рационально в составе стабилизационных систем использовать ксантановую камедь. При этом важно учитывать, что она образует синергетические комплексы с галактоманнами (камедями гуаровой и рожкового дерева) по показателю «динамическая вязкость». Кроме того, на вязкость оказывает влияние взаимодействие полисахаридов и белков [25]. В связи с этим было важно определить критическое содержание полисахаридов, способствующее структурообразованию в молочной основе с появлением плотного сгустка. Он образуется в результате совместного использования конжаковой и ксантановой камедей, что продемонстрировано на Рисунке 1 в рамках проведения экспериментальных исследований. Аналогичный результат был отмечен при взаимодействии ксантановой и конжаковой камедей в работе Agoub с соавторами [26]. Эти и другие особенности были учтены при разработке композиций гидроколлоидов — в частности, пониженное содержание казеина в молокосодержащем мороженом, в том числе при использовании концентратов белков. Молочные белки могут быть внесены в мороженое для имитации более высокого содержания жира, а также для формирования структуры продукта [27]. В данном исследовании микропартикулят сывороточных белков (МПСБ) вносили с целью восполнения массовой доли белка при сниженном содержании СОМО, а также для формирования структуры молокосодержащего мороженого при его взаимодействии с полисахаридами. При использовании МПСБ в некоторых композициях гидроколлоидов не вносили фракции каппа-каррагинана.



Рисунок 1. Внешний вид сгустка при содержании ксантановой и конжаковой камедей в мороженом более 0,25%

Figure 1. Appearance of the clot upon the content of xanthan gum and konjac gum in ice cream of more than 0.25%

Композиции гидроколлоидов, обеспечивающие наиболее высокую вязкость модельных растворов (молочных основ), применяли при изготовлении экспериментальных партий мороженого. В Таблице 1 представлены композиции эмульгатора и стабилизаторов. Содержание композиции полисахаридов в составе стабилизационной системы составляло 30%. В каждую композицию были включены ксантановая камедь в сочетании с одним, двумя или тремя дополнительными полисахаридами.

Таблица 1. Состав композиций эмульгаторов и гидроколлоидов для молокосодержащего мороженого

Table 1. Composition of formulations of emulsifiers and hydrocolloids for milk-containing ice cream

Наименование пищевой добавки	Содержание эмульгатора и гидроколлоидов в композициях, %			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
E471 (BADE GMS90)	70,0			
ксантановая камедь	8,6	8,6	16,0	3,0
конжаковая камедь	—	—	—	24,2
гуаровая камедь	18,6	18,6	14,0	—
каррагинан (каппа)	2,8	1,4	—	—
каррагинан (йота)	—	1,4	—	2,8

При обосновании компонентного состава экспериментальных образцов мороженого учитывали технологически функциональную роль белков молока. Молочные белки вносят в мороженое для имитации более высокого содержания жира, а также для формирования структуры продукта [27]. В данном исследовании микропартикулят сывороточных белков (МПСБ) вносили с целью повышения массовой доли белка при сниженном содержании СОМО, а также для создания структуры молокосодержащего мороженого при возможном взаимодействии белков и полисахаридов.

На основе представленных выше композиций эмульгатора и стабилизаторов были выработаны смеси молокосодержащего мороженого с микропартикулятом сывороточного белка.

Было установлено, что различия в составах стабилизаторов сказались на динамической вязкости смесей для мороженого, что обуславливается различной водосвязывающей способностью гидроколлоидов. В смесях для мороженого были определены значения динамической вязкости смеси до и после созревания при градиенте сдвига $0,17 \text{ c}^{-1}$ (Рисунок 2).

Как следует из представленных выше данных, смеси молокосодержащего мороженого с композициями гидроколлоидов № 1 — № 4 характеризовались высоким уровнем вязкости. На динамическую вязкость смеси оказали влияние водосвязывающие свойства гидроколлоидов, достигнутый синергетический эффект по показателю «динамическая вязкость» и взаимодействие микропартикулята сывороточного белка с водой. Различия в свойствах гидроколлоидов и их композиций отразились и на значении динамической вязкости в образцах [28,29,30]. Наибольшим значением вязкости

² ГОСТ 31457–2012. «Мороженое молочное, сливочное и пломбир. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2014. — 27 с.

³ ГОСТ Р ИСО 22935–2–2011. «Молоко и молочные продукты. Органолептический анализ. Часть 2. Рекомендуемые методы органолептической оценки». Москва: Стандартинформ, 2012. — 20 с.

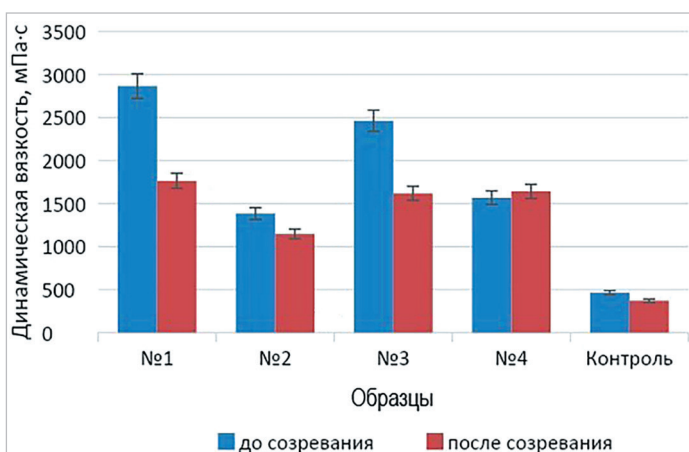


Рисунок 2. Показатели динамической вязкости смесей для молокосодержащего мороженого

Figure 2. Indicators of dynamic viscosity of mixtures for milk-containing ice cream

характеризовался образец смеси с композицией № 1, а наименьшим — образец с композицией № 2. При этом важно принимать во внимание, что образцы № 1 и № 2 отличаются только соотношением фракций каппа- и йота-каррагинанов в стабилизационной системе. Замена 50% каппа-каррагинана на йота-каррагинан привела к понижению вязкости на 35%. Вероятно, что йота-каррагинан при взаимодействии с ионами Ca^{2+} образует менее прочные гели, а каппа-каррагинан — более прочные [31]. Прочность гелей, образуемых йота-каррагинаном, возрастает в процессе созревания смесей, что можно предположить, учитывая меньшее изменение вязкости смеси в образце № 2 после проведения этого процесса. Образец № 4 характеризовался стабильной вязкостью до и после созревания смесей. Это подтверждает то, что конжаковая камедь характеризуется высокой влагоудерживающей способностью и образует гели с ксантановой камедью [32]. При использовании композиций № 1 и № 3 вязкость после созревания снизилась в 1,6 и 1,5 раза, что, возможно, обусловлено невысокой концентрацией ксантановой камеди в образце № 1 и отсутствием каппа-каррагинана в образце № 3. Стоит отметить, что все опытные образцы характеризовались более высокой вязкостью по сравнению с контрольным образцом с Cremodan 334, что важно для обеспечения качества мороженого с низким содержанием молочной составляющей.

Со всеми разработанными композициями были выработаны образцы мороженого и исследованы показатели их качества.

При изучении показателей качества определяли вязкоупругие характеристики образцов (Таблица 2).

Во всех опытных образцах мороженого с различным составом гидроколлоидов вязкоупругие характеристики отличались более низкими значениями показателей по сравнению с контролем (Cremodan 334). Данные свойства важно учитывать при решении вопросов фасовки мороженого в крупногабаритную упаковку при последующем

Таблица 2. Показатели смеси и образцов мороженого

Table 2. Indicators of the mixture and samples of ice cream

Наименование показателя	Образцы				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	Контроль
Условная твердость, Н	2,49±0,73 ^a	2,53±0,61 ^a	2,60±0,47 ^a	1,77±0,29	5,72±1,20
Адгезионная сила, Н	0,16±0,03 ^a	0,17±0,02 ^a	0,16±0,01 ^a	0,14±0,01	0,26±0,04
Условная клейкость, Н·с	0,60±0,13 ^{ab}	0,70±0,12 ^a	0,59±0,17 ^{ab}	0,49±0,08 ^b	0,97±0,27

* Значения с одинаковой буквой в одной строке существенно не различаются ($p > 0,05$).

Таблица 3. Показатели дисперсности воздушной фазы

Table 3. Indicators of dispersity of the air phase

Показатель	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	Контроль
Закаливание					
Средний диаметр воздушных шариков, мкм	35,8±3,9 ^a	30,4±3,0 ^a	32,9±2,9 ^a	32,1±2,2 ^a	35,4±2,12 ^a
Доля размером до 50 мкм, %	78	86	81	83	79
Через 4 месяца хранения					
Средний диаметр воздушных шариков, мкм	38,2±2,6 ^a	36,9±2,5 ^a	37,3±1,6 ^a	49,4±3,0	38,7±0,5 ^a
Доля размером до 50 мкм, %	74	77	74	59	69

* Значения с одинаковой буквой в одной строке существенно не различаются ($p > 0,05$)

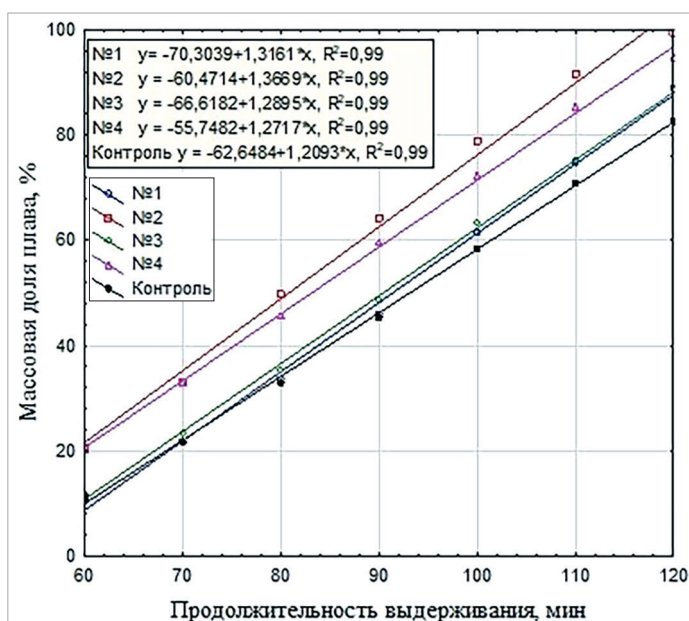


Рисунок 3. Зависимость массовой доли плава от продолжительности выдерживания

Figure 3. Dependence of the mass fraction of melt on duration of holding

дозировании в виде порций незначительной массы. Для таких целей в наибольшей степени пригоден образец № 4 с наименьшей твердостью и клейкостью, свидетельствующей о «мягкости» образца. Полученный результат коррелирует с данными об образовании мягких гелей при взаимодействии конжаковой и ксантановой камедей [33].

При исследовании термоустойчивости было установлено, что образцы молокосодержащего мороженого № 2 и № 4 по этому показателю уступают контрольному образцу. На Рисунке 3 представлен график зависимости массовой доли плава от продолжительности выдерживания образцов молокосодержащего мороженого в термостате.

Установлено, что при использовании разработанных композиций гидроколлоидов наибольшее количество плава после 60 мин термостатирования (20%) образуется в образцах № 2 и № 4. Обе эти композиции характеризуются присутствием йота-каррагинана, который образует термообратимые гели, в отличие от каппа-каррагинана [34]. Скорость таяния образцов мороженого со смесями гидроколлоидов № 1 и № 3 значительно не отличалась от этого показателя в контрольном образце.

При исследовании дисперсности воздушной фазы учитывали, что на пенообразующие свойства белков оказывают влияние как внутренние, так и внешние факторы [35], а также их взаимодействие с гидроколлоидами [36].

Во всех образцах мороженого было изучено влияние состава стабилизационных систем на дисперсность воздушных пузырьков (Таблица 3).

Таблица 4. Показатели дисперсности кристаллов льда
Table 4. Indicators of dispersity of ice crystals

Показатель	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	Контроль
Закаливание					
Средний размер кристаллов льда, мкм	38,1±0,5	35,6±1,0 ^a	35,1±1,4 ^a	35,9±0,2 ^a	34,2±1,75 ^a
Доля размером до 50 мкм, %	85	87	89	85	92
Через 4 месяца хранения					
Средний размер кристаллов льда, мкм	41,2±2,1 ^a	41,1±2,2 ^a	43,1±0,9 ^b	43,1±0,3 ^b	39,0±2,50
Доля размером до 50 мкм, %	80	80	77	77	83

* Значения с одинаковой буквой в одной строке существенно не различаются (p > 0,05).

Было установлено, что после закаливания средний размер воздушных пузырьков во всех образцах мороженого различался незначительно. В образце № 2 образовалось наибольшее количество пузырьков размером до 50 мкм — 86%, что в 1,1 раза больше, чем у контроля. Наименьшее количество пузырьков размером до 50 мкм образовалось в образце № 1, который характеризовался наибольшей вязкостью. Однако стоит отметить, что для данного образца изменение дисперсности воздушной фазы было наименьшим, доля пузырьков с размером до 50 мкм через 4 месяца хранения снизилась всего на 5%. Наибольшие изменения были отмечены в образце № 4, в котором наблюдалось снижение доли воздушных пузырьков на 29%. Остальные образцы характеризовались изменениями в течение 4 месяцев: в образце № 2 доля воздушных пузырьков снизилась на 10%, в образце № 3 — на 9% и в контрольном образце — на 12%.

Стоит отметить, что при оценке стабильности воздушной фазы важно учитывать влияние количества дестабилизированной жировой фазы и ее распределение возле воздушных ячеек [37]. Однако все образцы характеризовались невысоким содержанием жира (4%), следовательно, можно предположить, что определенную роль в стабилизации воздушной фазы сыграло взаимодействие МПСБ с гидроколлоидами и непосредственное его влияние на оболочку воздушного пузырька вследствие адсорбции. Можно предположить, что при сниженном содержании ксантановой камеди образовались нестабильные пены, появление которых приводит к диспропорционированию воздушных пузырьков.

Отмечена корреляция между долей воздушных пузырьков и скоростью таяния мороженого: образцы, в которых доля воздушных пузырьков до 50 мкм была выше, таяли быстрее, что, возможно, также обусловлено невысокой массовой долей жира.

Установлено, что по показателю «дисперсность кристаллов льда» образцы молокосодержащего мороженого существенно не отличались (Таблица 4).

На рост и размер кристаллов льда оказывают влияние следующие факторы: доля вымороженной воды при фризировании, температура хранения образцов, наличие или отсутствие температурных колебаний, а также состав гидроколлоидов, поскольку они являются

криопротекторами и ингибируют рост кристаллов [38]. Все образцы хранились в одинаковых условиях при температуре (20±2)°C при отсутствии температурных колебаний. При использовании композиций гидроколлоидов № 3 и № 4 кристаллы льда достигали наибольшего размера через 4 месяца хранения образцов. Количество кристаллов льда с размером до 50 мкм было снижено на 4% по сравнению с образцами № 1 и № 2 и на 7% относительно контроля. Стоит отметить, что в обоих образцах отсутствовал каррагинан.

В результате сенсорной оценки было установлено, что по сравнению с другими образцами образец № 1 характеризовался наиболее кремообразной консистенцией. В образцах № 2 и № 3 была отмечена плотная консистенция, а в образце № 4 — вязкая.

4. Выводы

В результате исследований теоретически и экспериментально обоснована целесообразность применения ксантановой камеди в составе стабилизационных систем, обеспечивающих высокий уровень динамической вязкости в смесях для мороженого. При использовании комплексных стабилизационных систем с ксантановой камедью в производстве молокосодержащего мороженого с микропартикулятом сывороточных белков установлено, что по сравнению с контролем со стабилизационной системой Cremodan 334 достигается более высокий уровень динамической вязкости смеси и более низкие значения вязкоупругих характеристик (твердость, адгезионная сила, клейкость), что оказывает положительное влияние на консистенцию готового продукта. Замена 50% каппа-каррагинана на йота-каррагинан в композиции гидроколлоидов приводит к заметному снижению динамической вязкости смеси и термоустойчивости мороженого, при полной замене — к снижению стабильности воздушной фазы в процессе хранения. Отсутствие каррагинана или замена каппа-каррагинана на йота-каррагинан вызывает снижение дисперсности кристаллов льда в процессе хранения мороженого. На основании исследований установлено, что наиболее эффективной композицией гидроколлоидов для производства молокосодержащего мороженого с микропартикулятом сывороточных белков является разновидность с содержанием ксантановой камеди 8,6%, гуаровой камеди и каппа-каррагинана 21,4%.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Goff, H. D. (2018). The Structure and Properties of Ice Cream and Frozen Desserts. Chapter in a book: Encyclopedia of Food Chemistry. Academic Press, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21703-4>

2. Regand, A., Goff, H. D. (2003). Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 95–102. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(02\)00042-5](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00042-5)

3. Manzoor, A., Dar, A. H., Pandey, V. K., Shams, R., Khan, S., Panesar, P. S. et al. (2022). Recent insights into polysaccharide-based hydrogels and their potential applications in food sector: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 213, 987–1006. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.044>

4. 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>

5. Cofelice, M., Messina, M. C., Marconi, E., Cuomo, F., Lopez, F. (2023). Effect of the xanthan gum on the rheological properties of alginate hydrogels. *Food Hydrocolloids*, 142, Article 108768. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108768>

6. Kamińska-Dwórznińska, A., Łaba, S., Jakubczyk, E. (2022). The effects of selected stabilizers addition on physical properties and changes in crystal structure of whey ice cream. *LWT*, 154, Article 112841. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112841>

7. Udo, T., Mummaleti, G., Mohan, A., Singh, R. K., Kong, F. (2023). Current and emerging applications of carrageenan in the food industry. *Food Research International*, 173(2), Article 113369. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113369>

8. Xu, H., Gao, Z., Huang, M., Fan, Q., Cui, L., Xie, P. et al. (2024). Static stability of partially crystalline emulsions stabilized by milk proteins: Effects of κ-carrageenan, λ-carrageenan, ι-carrageenan, and their blends. *Food Hydrocolloids*, 147(A), Article 109387. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109387>

9. Huang, J.-Y., Jones, O. G., Zhang, B. Y. (2022). Interactions of casein and carrageenan with whey during pasteurization and their effects on protein deposition. *Food and Bioprocess Technology*, 15, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.06.002>

10. Seo, C. W., Oh, N. S. (2022). Functional application of Maillard conjugate derived from a κ-carrageenan/milk protein isolate mixture as a stabilizer in ice cream. *LWT*, 161, Article 113406. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113406>

11. Liu, W., Foster, T. (2022). Phase separation of a milk protein and guar gum: The effect of guar gum molecular weight and oil addition on the phase diagram. *Food Hydrocolloids for Health*, 2, Article 100048. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2021.100048>

12. Thombare, N., Jha, U., Mishra, S., Siddiqui, M. Z. (2016). Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 361–372. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.001>

13. Bhat, I. M., Wani S. M., Mir, S. A., Masoodi, F. A. (2022). Advances in xanthan gum production, modifications and its applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, Article 102328. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102328>

14. Brunchi, C.-E., Morariu, S., Iftime, M.-M., Stoica, I. (2023). Xanthan gum in solution and solid-like state: Effect of temperature and polymer concentration. *Journal of Molecular Liquids*, 387, Article 122600. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122600>

15. Wu, G., Liu, X., Hu, Z., Wang, K., Zhao, L. (2022). Impact of xanthan gum on gluten microstructure and bread quality during the freeze-thaw storage. *LWT*, 162, Article 113450. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113450>

16. BeMiller, J. N. (2019). Polysaccharides: Properties. Chapter in a book: Carbohydrate Chemistry for Food Scientists (Third edition). Woodhead Publishing and

- AACC International Press, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00005-4>
17. Patil, U., Patel, A. R. (2021). Polysaccharide-based functional colloids for food applications. Chapter in a book: Food, Medical, and Environmental Applications of Polysaccharides. Elsevier, 2021. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819239-9.00004-X>
 18. Chuah, A. M., Kuroiwa, T., Kobayashi, I., Nakajima, M. (2014). The influence of polysaccharide on the stability of protein stabilized oil-in-water emulsion prepared by microchannel emulsification technique. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 440, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.09.051>
 19. Wijaya, W., Patel, A. R., Setiowati A. D., Van der Meeren, P. (2017). Functional colloids from proteins and polysaccharides for food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 68, 56–69. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.003>
 20. Balivo, A., d'Errico, G., Genovese, A. (2024). Sensory properties of foods functionalised with milk proteins. *Food Hydrocolloids*, 147(A), Article 109301. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109301>
 21. Singh, R., Rothod, G., Meletharail, G. N., Kapoor, R., Sankaral, V. M., Amamcharla, J. K. (2022). Invited review: Shelf-stable dairy protein beverages — Scientific and technological aspects. *Journal of Dairy Science*, 105(12), 9327–9346. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22208>
 22. Patmore, J. V., Goff, H. D., Fernandes, S. (2003). Cryo-gelation of galactomannans in ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, 17(2), 161–169. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(02\)00048-6](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(02)00048-6)
 23. Мельникова, Е. И., Станиславская Е. Б., Фёдорова, А. Р. (2021). Белково-полисахаридный имитатор жира для ферментированного молочного продукта. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 188–199. [Melnikova, E. I., Stanislavskaya, E. B., Fedorova, A. R. (2021). Protein-polysaccharide fat imitator for fermented dairy. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 188–199. (In Russian)] <https://doi.org/10.36107/spfp.2021.220>
 24. Ландиховская, А. В., Творогова, А. А. (2023). Показатели качества молочного мороженого с цитрусовыми волокнами и камедями. *Пищевые системы*, 6(2), 261–268. [Landikhovskaya, A. V., Tvorogova, A. A. (2023). Quality characteristics of milk ice cream with citrus fibers and gum. *Food Systems*, 6(2), 261–268. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-261-268>
 25. Ren, Z., Li, X., Ma, F., Zhang, Y., Hu, W., Khan, Z. H. et al. (2022). Oil-in-water emulsions prepared using high-pressure homogenisation with Dioscorea opposita mucilage and food-grade polysaccharides: Guar gum, xanthan gum, and pectin. *LWT*, 162, Article 113468. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113468>
 26. Agoub, A. A., Smith, A. M., Giannouli, P., Richardson R. K., Morris E. R. (2007). «Melt-in-the-mouth» gels from mixtures of xanthan and konjac glucomannan under acidic conditions: A rheological and calorimetric study of the mechanism of synergistic gelation. *Carbohydrate Polymers*, 69(4), 713–724. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.02.014>
 27. Творогова, А. А., Ландиховская, А. В., Казакова, Н. В. (2022). Структура молокообразующего мороженого при использовании концентратов молочного и сывороточного белков. *Пищевая промышленность*, 6, 66–69. [Tvorogova, A. A., Landikhovskaya, A. V., Kazakova, N. V. (2022). The structure of milk-containing ice cream using milk and whey protein concentrates. *Food Industry*, 6, 66–69. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.6.6.015>
 28. Nooshkam, M., Varidi, M., Zareie, Z., Alkobeisi, F. (2023). Behavior of protein-polysaccharide conjugate-stabilized food emulsions under various destabilization conditions. *Food Chemistry: X*, 18, Article 100725. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100725>
 29. Мельникова, Е. И., Станиславская, Е. Б. (2021). Получение и применение микропарткулята сывороточных белков в технологии производства сметаны. *Пищевые системы*, 4(2), 117–125. [Melnikova, E. I., Stanislavskaya, E. B. (2021). Preparation and use of the whey protein microparticulate in the sour cream production technology. *Food Systems*, 4(2), 117–125. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-4-2-117-125>
 30. Kew, B., Holmes, M., Stieger, M., Sarkar, A. (2020). Review on fat replacement using protein-based microparticulated powders or microgels: A textural perspective. *Trends in Food Science and Technology*, 106, 457–468. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.032>
 31. Černíková, M., Buňka, F., Pavlínek, V., Březina, P., Hrabě, P., Valášek, P. (2008). Effect of carrageenan type on viscoelastic properties of processed cheese. *Food Hydrocolloids*, 22(6), 1054–1061. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.05.020>
 32. Zhu, J., Eid, M., Li, J., Geng, F., Li, B. (2022). Synergistic interactions between konjac glucomannan and welan gum mixtures. *LWT*, 162, Article 113425. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113425>
 33. Brenner, T., Tuvikene, R., Fang, Y., Matsukawa, S., Nishinari, K. (2015). Rheology of highly elastic iota-carrageenan/kappa-carrageenan/xanthan/konjac glucomannan gels. *Food Hydrocolloids*, 44, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.016>
 34. Bhattacharyya, T., Palla, C. S., Dethle, D. H., Joshi, Y. M. (2024). Rheological investigation of the network structure in mixed gels of Kappa and Iota Carrageenan. *Food Hydrocolloids*, 146(B), Article 109298. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109298>
 35. Иванова, С. А. (2018). Пенообразующие свойства концентратов белков обезжиренного молока. *Техника и технология пищевых производств*, 49(4), 12–21. [Ivanova, S. A. (2018). The foaming properties of skim milk protein concentrate. *Food Processing Techniques and Technology*, 49(4), 12–21. (In Russian)] <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-12-21>
 36. Martinez-Padilla, L. P., Garsia-Rivera, J. L., Romero-Arreola, V., Casas-Alencaster, N. B. (2015). Effects of xanthan gum rheology on the foaming properties of whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 156, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.01.018>
 37. 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>
 38. Tsevdou, M., Cogou, E., Dermesonluoglu, E., Taoukis, P. (2015). Modelling the effect of storage temperature on the viscoelastic properties and quality of ice cream. *Journal of Food Engineering*, 148, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.002>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Ландиховская Анна Валентиновна — кандидат технических наук, научный сотрудник, лаборатория технологии мороженого, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костяков, 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, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-495-610-83-85 E-mail: antvorogova@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7293-9162 Кочнева Светлана Евгеньевна — инженер, лаборатория технологии мороженого, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-495-610-83-85 E-mail: skochneva01@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6599-1744	Anna V. Landikhovskaya, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Ice Cream Technology Laboratory, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostykova 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, Kostykova str, Moscow, 127422, Russia Tel.: +7-495-610-83-85 E-mail: antvorogova@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7293-9162 Svetlana E. Kochneva, Engineer, Ice Cream Technology Laboratory, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostykova str, Moscow, 127422, Russia Tel.: +7-495-610-83-85 E-mail: skochneva01@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6599-1744
Критерии авторства	Contribution
Ландиховская А. В. — обзор литературы, проведение и обработка результатов экспериментальных исследований. Творогова А. А. — научное руководство исследованиями, анализ и обобщение результатов исследований. Кочнева С. Е. — проведение экспериментальных исследований.	Landikhovskaya A.V. — Literature review, conducting and processing the results of experimental studies. Tvorogova A. A. — scientific advisor of research, analysis and synthesis of research results. Kochneva S. E. — conducting experimental studies.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-188-197>

Поступила 03.03.2024

Поступила после рецензирования 11.04.2024

Принята в печать 19.04.2024

© Алексаночкин Д. И., Фоменко И. А., Алексеева Е. А., Чернуха И. М., Машенцева Н. Г., 2024



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

Обзорная статья

Open access

ПОЛУЧЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА ИЗ СЕМЯН И ЖМЫХА ПРОМЫШЛЕННОЙ КОНОПЛИ: ОБЗОР СПОСОБОВ ПЕРЕРАБОТКИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Алексаночкин Д. И.^{1*}, Фоменко И. А.¹, Алексеева Е. А.¹,
Чернуха И. М.^{1,2}, Машенцева Н. Г.¹

¹ Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Россия

² Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

промышленная конопля, жмых конопли, масло, клетчатка, изолят белка, гидролизаты белка, биологически активные пептиды

Промышленная конопля (*Cannabis sativa* L.) является многофункциональным сырьем с широким спектром применений. Большой интерес к конопле в пищевой промышленности возник сравнительно недавно. Семена и жмых конопли обладают высоким содержанием белка, 20,00–38,70% и 27,90–40,70% соответственно, что делает их перспективным сырьем для получения концентратов, изолятов и гидролизатов для пищевой промышленности. Жмых конопли отличается высоким содержанием клетчатки (17,41–60,38%) и может применяться в качестве пребиотического компонента пищи. Аминокислотный состав семян конопли отличается тем, что по содержанию аминокислот он превышает аналогичные показатели эталонного белка, рекомендованного ВОЗ. Содержание лизина — единственный показатель, по которому белок конопли уступает «идеальному» белку. Усвояемость белка очищенных семян конопли колеблется от 90,8% до 97,5%, что сопоставимо с усвояемостью казеина. Усвояемость изолята конопли составляет 88–91%, что на 21,9% выше, чем у изолята белка сои. Пептиды и аминокислоты, содержащиеся в гидролизатах белка конопли, способны проявлять высокую биологическую активность. Гидролизаты вызывают интерес исследователей не только своей биоактивностью, но и высокой усвояемостью и пищевой ценностью. Направленный протеолиз — это инструмент, способствующий улучшению функционально-технологических свойств белка. Семена и жмых являются перспективным сырьем для использования в технологиях пищевых продуктов для получения растительного масла, пищевых волокон, белковых препаратов и функциональных продуктов. Цель данной статьи — проанализировать основные способы переработки промышленной конопли и перспективные направления применения белковых продуктов из отходов масложирового производства конопли в пищевой промышленности.

Received 03.03.2024

Accepted in revised 11.04.2024

Accepted for publication 19.04.2024

© Aleksanochkin D. I., Fomenko I. A., Alekseeva E. A., Chernukha I. M., Mashentseva N. G., 2024

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

Review article

Open access

PRODUCTION OF PLANT PROTEIN FROM SEEDS AND CAKE OF INDUSTRIAL HEMP: OVERVIEW OF PROCESSING METHODS FOR FOOD INDUSTRY

Denis I. Aleksanochkin^{1*}, Ivan A. Fomenko¹, Ekaterina A. Alekseeva¹,
Irina M. Chernukha², Natalya G. Mashentseva¹

¹ Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH), Moscow, Russia

² V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

industrial hemp, hemp cake, oil, fiber, protein isolate, protein hydrolysates, biologically active peptides

ABSTRACT

Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) is a multifunctional raw material with a wide spectrum of applications. A huge interest in hemp has arisen in the food industry comparatively recently. Seeds and cake of hemp have the high protein content (20.00–38.70% and 27.90–40.70%, respectively), which makes them a promising raw material for production of concentrates, isolates, and hydrolysates for the food industry. Hemp cake is distinguished by the high content of fiber (17.41–60.38%) and can be used as a prebiotic component of food. In terms of the amino acid content, the amino acid composition of hemp exceeds the corresponding indicators of the reference protein recommended by WHO. The content of lysine is the only indicator, in which hemp protein is inferior to the “ideal” protein. Digestibility of protein of hulled hemp seeds is in a range from 90.8% to 97.5%, which is comparable to digestibility of casein. Digestibility of hemp isolate is 88–91%, which is 21.9% higher than that of soy protein isolate. Peptides and amino acids contained in hydrolysates of hemp protein can show the high biological activity. Hydrolysates attract interest among researchers not only because of their bioactivity but also because of their high digestibility and nutritional value. Targeted proteolysis is a tool that facilitates an improvement in the functional-technological properties of protein. Seeds and cake are a promising raw material for using in food technologies to produce vegetable oil, dietary fiber, protein preparations and functional products. The aim of this paper is to analyze the main methods for industrial hemp processing and promising directions of using protein products from waste of hemp oil production in the food industry.

1. Введение

По данным Организации объединенных наций (ООН), в середине ноября 2022 г. численность населения мира достигла 8 млрд человек [1]. Согласно статистике ООН, к 2050 году мировое население составит 9,7 млрд человек, а еще через 30 лет достигнет 10,4 млрд чело-

век. Это означает, что потребность населения в пищевом белке будет увеличиваться [2]. Проблема дефицита белка и ухудшение рациона питания являются серьезным вызовом для здоровья и благополучия человечества. Белок — один из основных компонентов в рационе питания человека, он необходим для обеспечения нормального функ-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Алексаночкин, Д. И., Фоменко, И. А., Алексеева, Е. А., Чернуха, И. М., Машенцева, Н. Г. (2024). Получение растительного белка из семян и жмыха промышленной конопли: обзор способов переработки для использования в пищевой промышленности. *Пищевые системы*, 7(2), 188–197. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-188-197>

FOR CITATION: Aleksanochkin, D. I., Fomenko, I. A., Alekseeva, E. A., Chernukha, I. M., Mashentseva, N. G. (2024). Production of plant protein from seeds and cake of industrial hemp: Overview of processing methods for food industry. *Food Systems*, 7(2), 188–197. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-188-197>

ционирования организма. Несмотря на то, что в мире существует разнообразие пищевых источников протеина, многие люди страдают от его недостатка в пище. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), дефицит белка в мире оценивается в десятки миллионов тонн. Эта проблема особенно актуальна в развивающихся странах, в которых остро стоят вопросы качества и доступности пищи [3]. Ежегодный дефицит пищевого белка к 2050 году может достичь 30 млн т [4]. По данным ВНИИПБТ — филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», на 2022 г. в России формируется около 1 млн т дефицита пищевого белка, который увеличивается с каждым годом [5,6].

В мире существует более 50 видов масличных культур, которые представлены большим разнообразием. Многие виды масличных культур являются не только сырьем для производства растительных масел, но и источником растительного белка, клетчатки и биологически активных веществ [7]. Цельные семена, масла, шрот и жмых содержат биологически активные компоненты, и знания об их положительном действии широко пропагандируются диетологами и производителями продуктов питания. В связи с этим растет интерес потребителей к новым полезным для здоровья ингредиентам по всему миру [8]. Концепция преобразования отходов производства в белковый продукт с добавленной стоимостью также становится все более востребованной [9]. Большую популярность набирает промышленная конопля. Данное растение представляет собой универсальную масличную культуру, которая является источником растительного масла и белка, и обеспечивает широкий спектр технологических возможностей.

Промышленная конопля (*Cannabis sativa* L.) — это растение, которое используется для производства бумаги, продуктов питания, биотоплива, косметических средств и кормов [10,11]. Культура является одним из наиболее доступных источников лубяных волокон с высоким содержанием целлюлозы [12]. Из-за наличия в растении дельта-9-тетрагидроканнабинола (ТГК), психоактивного соединения, культивирование всех сортов каннабиса, включая медицинскую коноплю, запрещено в большинстве стран мира, в том числе и в России [13]. Марихуана, так называемый медицинский каннабис, содержит около 10–30% ТГК, в то время как промышленная конопля не относится к психоактивным разновидностям или изготовлением наркотических средств и психотропных веществ, разрешаются сорта конопли с содержанием в сухой массе листьев и соцветий верхних частей одного растения массовой доли ТГК в размере, не превышающем 0,1% [16].

Большой интерес производителей к использованию конопли в пищевой промышленности возник сравнительно недавно. В прошлые столетия данное растение было востребовано в основном в производстве текстильных материалов, а семена в небольших количествах применялись только для получения масла. На данный момент в мире около 60% семян используются для пищевых целей (производство хлеба, соусов, конфет, продуктов быстрого приготовления, диетических напитков). Высокая пищевая ценность семян конопли может удовлетворить потребности рынка продовольственных продуктов [17].

Из семян промышленной конопли после получения масла в среднем образуется 65% жмыха [18]. Жмых и шрот масличных культур являются основными побочными продуктами при извлечении масла. Отходы масложировой промышленности представляют собой сырьевые ресурсы, богатые ценными компонентами, белком, клетчаткой, макро- и микроэлементами, а также биологически активными соединениями [19]. Таким образом, данные побочные продукты могут стать сырьем для последующего получения пищевых ингредиентов.

2. Объекты и методы

Анализ литературы проводился с использованием поисковых систем научной литературы: Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, а также отечественных научных библиотек eLIBRARY и «КиберЛенинка». Поиск литературы осуществлялся по ключевым словам:

- на русском языке: использование промышленной конопли, жмых конопли, масло семян конопли, изолят белка конопли, гидролизаты белка конопли, аминокислотный состав белка конопли, биологически активные пептиды;
- на английском языке: the use of industrial hemp, hemp cake, hemp seed oil, hemp protein isolate, hemp protein hydrolysates, amino acid composition of hemp protein, biologically active peptides.

В работе было проанализировано 103 научных публикации.

Критерии включения:

- опубликованные научные статьи;
- период выхода публикаций — 2005–2024 гг.;
- публикации на русском и английском языках.

Критерии исключения:

- тезисы докладов конференций, работы без полных текстов публикаций;
- публикации на других языках;
- публикации, вышедшие ранее 2005 г.

Тематика данной статьи связана со способами получения пищевых ингредиентов из семян и жмыха промышленной конопли с последующим использованием в пищевой промышленности.

3. Объемы выращивания промышленной конопли

Мировой рынок промышленной конопли составил примерно 4 млрд долларов США в 2018 г., а к 2025 г. предполагается его рост до 11 млрд долларов США [20]. По данным ФАО, посевная площадь культуры во всем мире составляет 300–400 тыс. га. Лидерами по выращиванию данной культуры являются США (120 тыс. га), Китай (100 тыс. га), Канада (60 тыс. га), Франция (20 тыс. га), Южная Корея (15 тыс. га) [21]. В СССР в 30-е годы посевы конопли занимали порядка 700 тыс. га, что составляло 4/5 всей мировой площади, выделенной под этот вид культуры [22]. По данным Агропромышленной ассоциации коноплеводов (АПАК), на территории Российской Федерации в 2010 г. площадь, занятая культурой, была около 1,1 тыс. га, а к 2022 г. она достигла 14,3 тыс. га. В России к 2030 г. поставлена задача увеличения площадей промышленной конопли в 4 раза, до 60 тыс. га [23,24]. В Таблице 1 представлены данные о посевной площади промышленной конопли в России.

Таблица 1. Посевная площадь промышленной конопли в России с 1970 по 2022 гг. [22,25,26]

Table 1. Area of industrial hemp cultivation in Russia from 1970 to 2022 [22,25,26]

Год возделывания	1970	1980	1990	2000	2010	2018	2019	2020	2021	2022
Площадь возделывания, тыс. га	200,0	100,0	10,5	2,0	1,1	8,0	10,0	10,5	13,2	14,3

По данным исследовательской компании NeoAnalytics, сбор семян на территории РФ в 2022 г. составил 3,5 тыс. т/год. Основными регионами коноплеводства являются Пензенская (17%), Ивановская (16%) области, республика Мордовия (12%), Челябинская (11%), Нижегородская (9%), Курская (9%) и Оренбургская (4%) области [26,27]. Приволжский федеральный округ является самым крупным регионом по возделыванию конопли. На него приходится 54,6% от всех площадей сбора культуры [26]. Основными сельскохозяйственными предприятиями по переработке и производству семян являются ООО «Коноплекс» (Пензенская обл.), ООО «Виктория» (Новгородская обл.), ООО «ПК Конопель», ООО «Нижегородские волокна конопли» (Нижегородская обл.), ООО «НОВ-АГРО» (Калининградская обл.) [28].



(а) растение (б) пестичный цветок с семенами

Рисунок 1. Промышленная конопля *Cannabis sativa* L.

Figure 1. Industrial hemp *Cannabis sativa* L.

Растение конопли представлено двудомными (мужскими и женскими цветками на отдельных растениях) и однодомными (мужскими и женскими цветками на одном растении) сортами. Однодомные сорта более однородны, чем двудомные. Однодомные растения используются как для получения волокна, так и для посева семян, тогда как двудомные сорта применяются для производства только волокон [29]. На Рисунке 1 представлено изображение промышленной конопли *Cannabis sativa* L. и ее семян. Государственный реестр селекционных достижений включает в себя 31 единицу сортов и гибридов конопли, допущенных для культивирования в промышленных целях на территории РФ [24,30]. Наиболее популярными сортами на данный момент являются сорта конопли «Вера» (35%), «Надежда» (18%) и «Сурская» (15% от общей площади засева) селекции ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур» [31]. Они характеризуются низким содержанием ТГК в период максимального их накопления (0,03–0,08%), стабильно высокой урожайностью семян (0,8–1,2 т/га) с масличностью 30–33% [24]. Вместе с тем данные сорта обладают высокой устойчивостью к болезням и вредителям, а также приспособлены к различным климатическим условиям в России.

4. Конкурентное преимущество конопли как источника питательных веществ

Конопля является многоцелевой культурой, дающей стебли, костру (одревесневшие части стеблей), семена и листья. Использование конопли разнообразно: в производстве строительных материалов, текстиля, бумаги, продуктов питания и напитков, косметики и предметов личной гигиены и т. д. Из промышленной конопли изготавливается около 25000 товаров [34,35]. На Рисунке 2 представлена схема использования промышленной конопли в различных отраслях промышленности.

Биохимический состав промышленной конопли складывается из липидов (от 30% до 42%), углеводов (от 27% до 36%) и белка (от 20% до 43%) [36]. В Таблице 2 представлен биохимический анализ семян

масличных культур и отхода их холодного отжима в сравнении с другими масличными культурами.

Химический состав семян и жмыха конопли уступает по содержанию «сырого» протеина сое, однако находится наравне с другими масличными культурами. У конопли среди представленных культур наибольший показатель по содержанию «сырой» клетчатки. Жмых как побочный продукт производства является перспективным сырьем с содержанием белка, приближенным по значению к жмыху сои и подсолнечника. В качестве альтернативы, благодаря высокому содержанию белка, жмых можно использовать для производства белковых препаратов.

5. Конопляное масло

Масло семян конопли является наиболее коммерциализированным продуктом во всем мире из-за своей высокой питательной ценности. Оно на 80% и более состоит из полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) от общего количества жирных кислот [48]. Конопляное масло традиционно получают двумя методами: путем холодного отжима и экстракцией органическими растворителями (н-гексаном, ацетоном). В процессе механического извлечения масла образуется отход производства — жмых. Данный метод относится к менее эффективному с точки зрения выхода масла: в жмыхе его остается до 35%. Использование шнекового прессования способно снизить количество продукта в жмыхе до 8–14%. Метод экстракции н-гексаном является более эффективным, так как выход масла составляет 95%, отходом производства является шрот. Однако данный метод требует более длительного времени экстракции и дополнительной стадии рафинации из-за остатков растворителя в конечном продукте [49,50]. Негативные факторы промышленного использования н-гексана, который оказывает отрицательное влияние на здоровье человека и на окружающую среду, вызывают необходимость поиска замены растворителя без ущерба для пищевой промышленности [51,52]. Таким образом, в последние несколько лет предпочтение отдается механическому прессованию, несмотря на более низкий выход целевого продукта [53].



Рисунок 2. Направления использования посевной конопли [32,33]
Figure 2. Directions of using hemp [32,33]

Таблица 2. Биохимический состав высокобелкового растительного сырья [37–47]
Table 2. Biochemical composition of high-protein plant raw materials [37–47]

Растительное сырье	Содержание «сырого» протеина, %	Содержание «сырой» клетчатки, %	Содержание «сырого» жира, %	Содержание «сырого» протеина, %	Содержание «сырой» клетчатки, %	Содержание «сырого» жира, %
		Семена			Жмых	
Конопля	20,00–38,70	20,00–30,00	25,00–35,00	27,90–40,70	17,41–60,38	10,10–13,60
Соя	38,00–42,00	1,80–4,90	15,00–25,00	43,30–45,50	4,95–11,28	9,30–15,55
Подсолнечник	17,50–32,20	19,40–23,60	42,20–54,30	19,93–44,90	17,40–33,40	7,00–16,60
Рапс	21,00–32,40	6,10–8,90	40,10–48,00	30,20–37,80	11,60–16,80	10,30–15,10
Лен	21,00–28,00	8,10–13,00	35,00–48,00	26,00–30,00	7,00–9,30	10,00–25,00
Горох	21,60–24,90	0,90–1,40	7,30–10,60		Не получают	

В масле семян конопли содержатся такие ПНЖК, как линолевая кислота (18:2 n-6, присутствует в количестве 55%) и альфа-линоленовая кислота (18:3 n-3, содержится в количестве 20%). Также в его составе были обнаружены гамма-линоленовая кислота (18:3 n-6, содержится 1–4%) и стеарионовая кислота (18:4 n-3; содержится 0,5–2%) [54]. В Таблице 3 представлена сравнительная характеристика содержания жирных кислот в масле конопли и подсолнечника.

Конопляное масло уступает подсолнечному по содержанию олеиновой и линолевой кислот, но значительно превосходит по содержанию гамма-линоленовой, альфа-линоленовой и стеарионовой кислот и находится наравне с пальмитиновой и стеариновой кислотами. Масло семян имеет сбалансированное соотношение ω -6 и ω -3 жирных кислот (3:1), которое считается оптимальным [57]. Именно такое соотношение жирных кислот оказывает высокое иммунологическое воздействие благодаря участию в синтезе эйкозаноидов (многочисленные типы эйкозаноидов, такие как простагландины и лейкотриены, позволяют клеткам врожденного иммунитета быстро реагировать на чужеродные бактериальные агенты) [58,59]. В процессе холодного отжима извлекаются минорные соединения, естественным образом присутствующие в конопле: антиоксиданты, фенолы, токоферолы, фитостеролы, каротиноиды, витамины (А, В1, В6, С, D, Е) [60,61].

Небольшое количество конопляного масла (2 г в день) способно оказывать положительное влияние на уровень холестерина в плазме крови [62]. Повышенное потребление ω -3 жирных кислот способствует снижению риска развития рака и опухолей, понижению артериального давления и уровня холестерина. Масло также обладает многочисленными преимуществами: регулирует липидный обмен, поддерживает здоровье сердечно-сосудистой системы и используется в лечении дерматопатии [63].

6. Клетчатка конопли

Углеводы составляют от 20% до 30% от состава семян конопли [64]. Около 98% этих углеводов относятся к пищевым волокнам, в основном нерастворимым. Остальные 2% растворимых волокон представлены крахмалом. Семена конопли являются растительным сырьем с низким содержанием крахмала [55]. Основная фракция волокон, находящаяся в оболочке семян — «сырая» клетчатка. Соотношение растворимой и нерастворимой клетчатки в семенах конопли составляет 1:4. Среди нерастворимых волокон целлюлоза составляет 46%, лигнин — 31% и гемицеллюлоза — 22%.

Пищевые волокна способны оказывать положительное воздействие на организм человека. Они снижают уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) при гиперхолестеринемии; контролируют уровень сахара в крови: волокна растительного происхождения замедляют всасывание глюкозы после приема пищи, поэтому нерастворимая клетчатка снижает риск развития ожирения и уменьшает выраженность симптомов сахарного диабета [65,66]. Клетчатка не переваривается в желудке и в тонком кишечнике, но проходит через пищеварительный тракт, стимулируя перистальтику кишечника. Пищевые волокна семян конопли могут стать эффективной диетической добавкой для ежедневного здорового питания. Ввиду высокого содержания клетчатки в составе семян *Cannabis sativa* L. коноплю можно применять в качестве пищевого ингредиента для обогащения пищевых продуктов [67]. Также она может использоваться в составе пребиотических и синбиотических комплексных препаратов с высокой пищевой ценностью.

7. Белок конопли

Белок конопли используется как добавка для повышения пищевой ценности конечного продукта. Он обладает низкой аллергенностью по сравнению с большинством растительных белков (сои, льна, кунжута и подсолнечника), что позволяет заменять им другие протеиновые компоненты [8,68].

Белок конопли состоит из трех основных фракций: глобулинов, альбуминов и небольших протеиновых цепей, богатых серой [17].

В семенах конопли был идентифицирован 181 белок, причем основные белки-накопители, эдестин и глобулин, содержались в концентрации от 67% до 75%, а альбумин — в диапазоне от 25% до 37%. Глобулины конопли представлены преимущественно 11S эдестинами, составляющими около 65% от общего количества белков, и в меньшей степени 7S глобулинами, составляющими около 5% от общего количества протеина [69]. Третья белковая фракция глобулинов характеризуется присутствием вицилиноподобного протеина — бета-конглицининового белка, который составляет около 5%.

Эдестин является гомогексамером, как и большинство 11S глобулинов, и имеет массу около 320 кДа. Каждый мономер массой приблизительно 54 кДа состоит из кислотной α -субъединицы массой 34 кДа и из более гетерогенной основной β -субъединицы [69]. Аминокислотный анализ свидетельствует, что эдестин богат метионином и цистеином (что составляет 20% от общего количества аминокислот). Белок имеет две субъединицы, состоящие из 27 и 61 аминокислотного остатка соответственно [70]. Эдестин может проявлять биологическую активность при расщеплении в ЖКТ, образуя пептиды различной молекулярной массы [71].

Альбуминовый компонент составляет примерно 25–37% от общего количества белков семян. По сравнению с глобулиновым компонентом, альбуминовый компонент в семенах конопли обладает большей гибкостью, но менее компактной структурой, поскольку содержит мало белков, связанных дисульфидными связями [72]. Альбумины состоят в основном из 7 полипептидов массой 6–35 кДа [69].

Фракция глобулина белка семян конопли имеет высокое содержание сульфаминокислот, особенно метионина, а также более высокое содержание гидрофобных, ароматических аминокислот и аминокислот с разветвленной цепью по сравнению с альбуминовой фракцией [73]. Белок семян конопли является укрепляющим здоровье растительным компонентом, поскольку он содержит все незаменимые аминокислоты, необходимые человеческому организму в сбалансированном соотношении. Он содержит 12% аргинина, это значительно выше, чем в других растительных белках, в которых аргинин обычно составляет менее 7%. Кроме того, семена конопли содержат высокий уровень метионина и цистина, диапазон которых колеблется от 3,5 до 5,9% [72]. В Таблице 4 представлены данные аминокислотного состава высокобелкового растительного сырья.

Аминокислотный состав конопли характеризуется тем, что по содержанию 6 из 7 аминокислот он превышает аналогичные показатели эталонного белка. Лизин — единственная аминокислота, по содержанию которой белок конопли уступает «идеальному» белку по рекомендациям ВОЗ. Содержание незаменимых аминокислот в семенах (30,7 г/100 г) и жмыхе (31,8) конопли выше, чем в подсолнечнике (29,0 и 33,8) и рапсе (25,4 и 25,0), но уступает аналогичному показателю у сои (41,6 и 35,7). Суммарное содержание заменимых аминокислот семян (69,3) и жмыха (68,3) конопли превосходит данный показатель состава у всех культур. Исключение составляет жмых рапса (71,6), который содержит наибольшее количество этих соединений — 4,8%. Соотношение незаменимых и заменимых аминокислот в семенах и жмыхе конопли составляет 1:2,3 и 1:2,2 соответственно.

Белок конопли по усвояемости и количеству аминокислот находится наравне или превышает показатели злаков, орехов и некоторых бобовых культур [78]. В отличие от других растительных белков, белок семян конопли содержит очень низкое количество антипитательных факторов (ингибиторов трипсина, фитиновой кислоты, конденсированных дубильных веществ) [13,79]. Усвояемость белка очищенных семян конопли колеблется от 90,8 до 97,5%, что сопоставимо с усвояемостью казеина, которая составляет 97,6% [71]. Усвояемость изолята белка конопли составляет (88–91%) по сравнению с соевым изолятом, усвояемость которого 71% [80]. Конопляные мука и изолят показали высокую степень усвояемости в модели ЖКТ переваривания *in vitro* [72].

Таблица 3. Профиль жирных кислот масла семян конопли и подсолнечника после холодного отжима [55,56]

Table 3. Fatty acid profile of hemp seed oil and sunflower oil after cold pressing

Название	Пальмитиновая кислота (16:0)	Стеариновая кислота (18:0)	Олеиновая кислота (18:2, n-9)	Линолевая кислота (18:2, n-6)	Гамма-линоленовая кислота (18:3, n-6)	Альфа-линоленовая кислота (18:3, n-3)	Стеарионовая кислота (18:4, n-3)
Содержание кислоты в конопле, %	5,6–9,1	2,1–4,0	9,0–18,8	51,6–59,0	0,6–5,0	10,5–22,0	0,2–2,0
Содержание кислоты в подсолнечнике, %	4,3–6,8	2,1–5,0	14,0–43,0	44,0–75,0		Менее 0,5	

Таблица 4. Аминокислотный состав белка конопли, сои, подсолнечника, рапса и эталонного белка [69,74,75,76,77]
Table 4. Amino acid composition of protein of hemp, soya, sunflower, rape and reference protein [69,74,75,76,77]

	Конопля		Соя		Подсолнечник		Рапс		Эталонный белок ВОЗ	
	Семена	Жмых	Семена	Жмых	Семена	Жмых	Семена	Жмых	Для детей	Для взрослых
Ала	4,6±0,3	4,4±0,2	3,6±0,0	—	4,1±0,1	—	5,8±0,1	6,5±0,1	—	—
Арг	12,6±0,8	12,4±2,8	6,2±0,0	7,4±0,0	7,0±0,3	9,1±0,0	5,7±0,1	9,2±1,4	—	—
Асп	10,9±0,5	10,7±1,4	7,1±0,0	—	10,3±2,1	—	4,1±0,1	15,2±1,0	—	—
Цис	1,1±1,1	1,8±0,2	2,1±0,0	1,6±0,0	1,5±0,6	1,8±0,0	1,5±0,2	—	—	—
Глу	19,8±2,6	18,1±2,8	9,1±0,0	—	14,0±0,9	—	15,1±0,1	17,7±0,3	—	—
Гли	4,7±0,1	4,8±0,5	3,7±0,0	4,5±0,0	4,1±0,3	5,6±0,0	4,5±0,1	5,5±0,2	—	—
Гис	2,9±0,2	3,0±0,7	3,0±0,0	2,4±0,0	2,5±0,1	2,8±0,0	2,7±0,1	3,7±0,1	1,8	1,5
Иле	3,9±0,2	3,9±0,0	5,3±0,0	4,6±0,0	4,0±0,1	4,2±0,0	3,8±0,1	5,8±0,2	3,1	3,0
Лей	6,6±0,6	6,9±0,8	7,1±0,0	7,8±0,0	6,9±0,4	6,9±0,0	0,8±0,1	—	6,3	5,9
Лиз	3,6±0,0	3,9±0,5	6,1±0,0	6,1±0,0	4,9±0,7	3,5±0,0	6,0±0,1	2,6±0,5	5,2	4,5
Мет	2,2±0,8	2,4±0,1	2,7±0,0	1,4±0,0	1,2±0,4	3,5±0,0	0,6±0,1	3,1±0,4	—	—
Фен	4,4±0,4	4,7±0,5	3,9±0,0	5,5±0,0	5,1±0,1	5,1±0,0	5,1±0,2	6,0±0,2	—	—
Про	4,5±0,3	4,5±0,4	3,6±0,0	—	3,1±0,6	—	5,1±0,2	6,5±0,1	—	—
Сер	5,2±0,4	5,4±1,1	6,4±0,0	—	4,0±0,2	—	6,6±0,2	7,3±0,1	—	—
Тре	3,8±0,1	3,8±0,3	3,7±0,0	3,8±0,0	2,5±0,5	3,4±0,0	5,3±0,1	3,0±0,5	2,7	2,3
Три	1,1±0,0	1,1±0,1	7,6±0,0	1,3±0,0	—	1,4±0,0	—	0,4±0,1	0,7	0,6
Тир	3,0±0,9	3,2±0,2	4,1±0,0	3,5±0,0	3,0±0,3	1,4±0,0	4,3±0,1	—	—	—
Вал	5,1±0,1	5,1±0,1	5,2±0,0	5,2±0,0	4,4±0,3	5,8±0,0	3,8±0,1	4,1±0,1	4,2	3,9

Существует три основных типа продуктов на основе конопляного белка: мука, концентрат и изолят. Изолят белка конопли — это новый и уникальный пищевой ингредиент на рынке белковых препаратов. Он может быть получен путем ферментативной биоконверсии и щелочной экстракции с последующим изoeлектрическим осаждением [81]. Растущий интерес исследователей к белкам из семян и жмыха конопли объясняется их особыми свойствами, например, содержанием биоактивных пептидов и низкой аллергенностью по сравнению с другими растительными белками, а также стабильными функционально-технологическими свойствами, такими как эмульгирующая, жиросвязывающая и пенообразующая способности [82]. Изолят конопли характеризуется высоким содержанием незаменимых аминокислот по сравнению с соевым изолятом [83]. В Таблице 5 представлена сравнительная характеристика аминокислотного состава изолятов конопли и сои.

Таблица 5. Аминокислотный состав изолята белка конопли и сои [80,84,85]

	Изолят белка конопли	Изолят белка сои	Эталонный белок ВОЗ
Аланин	4,50±0,36	3,60±0,10	—
Аргинин	9,91±0,91	6,60±0,10	—
Аспарагиновая кислота	9,41±0,39	10,21±0,10	—
Цистеин	0,17±0,01	1,10±0,20	—
Глутаминовая кислота	16,14±0,26	17,50±0,30	—
Глицин	3,99±0,06	3,60±0,10	—
Гистидин	2,81±0,47	2,20±0,10	1,90
Изолейцин	3,99±0,08	2,80±0,30	2,80
Лейцин	6,63±0,23	2,20±0,20	6,60
Лизин	4,16±0,87	5,30±0,10	5,80
Метионин	1,39±0,06	1,10±0,10	2,00
Фенилаланин	4,57±0,11	4,50±0,10	3,80
Пролин	4,53±0,39	2,90±0,10	—
Серин	5,18±0,02	4,60±0,20	—
Треонин	—	3,10±0,10	1,10
Триптофан	4,57±0,35	1,10±0,10	3,40
Тирозин	3,67±0,23	3,20±0,30	—
Валин	4,98±0,13	4,10±0,10	3,50

При сравнении профиля аминокислот показано, что содержание 6 аминокислот конопли из 8 выше, чем у сои. Аминокислотный профиль изолята конопли не уступает соевому, а в суммарном количестве аминокислот превосходит его. Конопляный изолят в целом соответствует стандарту ВОЗ, за исключением показателя лизина. Тем самым конопляный белок характеризуется сбалансированным аминокислотным профилем, близким к эталонному.

8. Гидролизаты белка конопли

Гидролизаты белка состоят из полипептидов, олигопептидов и свободных аминокислот [86]. Их получают путем ферментативного и/или химического гидролиза белков [87]. Несмотря на то, что кислоты и щелочи могут быть использованы для расщепления пептидных связей, этот гидролиз трудно контролировать, и он может привести к получению продуктов с низким питательным качеством. Поэтому предпочтительным методом является ферментативный гидролиз с использованием протеаз [88]. Во время гидролиза происходит разрыв пептидных связей белков, что приводит к образованию пептидов и аминокислот.

В пищевых продуктах белковые гидролизаты встречаются во многих формах, они могут регулировать функционально-технологические свойства пищевых систем [89]. В настоящее время гидролизаты используются в производстве колбасных изделий, мясных полуфабрикатов, напитков, кондитерских и хлебопекарных изделий. Они могут присутствовать в составе продукта с целью увеличения срока годности за счет антиоксидантных свойств, способствующих замедлению окисления липидов [90,91].

Гидролизаты белка содержат биологически активные пептиды, которые можно использовать для лечения или профилактики ряда заболеваний, включая диабет, тромбоз, воспалительные процессы и т. д. [92]. Гидролизаты белка конопли обладают различной биологической активностью:

- антиоксидантной. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* показали, что гидролизаты белка семян конопли проявляют сильное антиоксидантное действие [93]. Антиоксидантные свойства в значительной степени зависели от типа и специфичности протеаз, условий и степени гидролиза [94]. Пептиды также обладают высоким потенциалом для снижения окислительного стресса у крыс со спонтанной гипертензией (модель исследования, используемая для изучения). Потребление крысами гидролизата белка конопли приводило к заметному увеличению активности супероксиддисмутазы и каталазы в плазме крови [13,72]. Среди идентифицированных короткоцепочечных пептидов наиболее активными антиоксидантными пептидами с поглощением 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (вещества, необходимого для

- анализа антиоксидантной активности) и хелатирующей активностью металлов были последовательности Три-Вал-Тир-Тир (WVYY) и Про-Сер-Лей-Про-Ала (PSLPA) соответственно [95];
- антигипертензивной. Артериальная гипертензия (АГ) определяется как систолическое артериальное давление и диастолическое артериальное давление выше 140 и 90 мм рт. ст. соответственно. Это глобальная проблема здравоохранения, которая затрагивает 20–45% населения (до 50% среди пожилого населения), являясь причиной 7,1 млн смертей в год по данным ВОЗ [15,96]. В настоящее время наиболее эффективным подходом к лечению АГ является инактивация ренина и/или ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), которые отвечают за регуляцию АГ [97]. Пептиды с последовательностями Три-Тир-Тре (WYT) и Сер-Вал-Тир-Тре (SVYT) обладают самым высоким ингибирующим эффектом АПФ и ренина среди 23 идентифицированных пептидов из гидролизата белка конопли. Кроме того, пептиды с последовательностями SVYT, Иле-Про-Ала-Глу-Вал (IPAGV) и Про-Сер-Лей-Про-Ала (PSLPA) также демонстрируют способность снижать артериальное давление [98,99];
- способностью к ингибированию ацетилхолинэстеразы. Гидролизаты белка конопли участвуют в профилактике и лечении нейродегенеративных заболеваний. Болезнь Альцгеймера является глобальной проблемой здравоохранения, затрагивающей миллионы пожилых людей во всем мире [100]. Ацетилхолинэстераза (АХЭ) — фермент, гидролизующий нейромедиатор ацетилхолин в холин и уксусную кислоту. Более высокие уровни экспрессии АХЭ в головном мозге человека приводят к нарушениям метаболизма ацетилхолина и являются характерной чертой пациентов с болезнью Альцгеймера [101]. Белок конопли, гидролизованный 1% пепсином, проявляет сильную ингибирующую активность АХЭ с концентрацией полумаксимального ингибирования (IC₅₀), равной 5,95±0,10 мкг/мл. Гидролизаты белка конопли, обработанные другими ферментами, проявляют себя менее активно: 3% пепсина (8,04±0,33 мкг/мл), 3% папаина (8,97±0,41 мкг/мл) и 4% Alcalase (11,62±0,32 мкг/мл). Пептидная фракция белка, обработанного 1% пепсином, обладает молекулярной массой менее 1000 Да. Небольшой размер пептидов гидролизата белка конопли может повысить их способность проникать в мозг с целью подавления чрезмерной активности АХЭ [102];
- способностью к ингибированию α-глюкозидазы. Сахарный диабет — это хроническое метаболическое заболевание. Более 90% пациентов страдают сахарным диабетом 2 типа. Это заболевание остается важной медицинской проблемой во всем мире. Фермент α-глюкозидаза, в основном обнаруженный в эпителиальных клетках тонкой кишки, необходим для метаболизма глюкозы в клетках. Ингибирование активности α-глюкозидазы может замедлить выработку, всасывание глюкозы и регулировать уровень глюкозы в крови [103]. Гидролизаты белка семян конопли проявляют высокую

ингибирующую активность α-глюкозидазы, что может быть связано с двумя пептидными последовательностями Лей-Арг (LR) (287,2 Да) и Про-Лей-Мет-Лей-Про (PLMLP) (568,4 Да) [72]. Это свидетельствует о высоком потенциале конопляного белка в регуляции гипогликемической активности;

- другими биологическими действиями. Гидролизаты/пептиды белка конопли также обладают несколькими регуляторными эффектами, включая иммуномодулирующее действие, противовоспалительные эффекты и влияние на нарушение липидного обмена (уменьшение накопления липидов в стенках кровеносных сосудов) [72]. В Таблице 6 представлено разнообразие пептидов, обладающих биологической активностью.

В целом, использование гидролизата белка конопли представляет собой перспективное направление, которое открывает новые возможности для производителей продуктов питания. Гидролизаты позволяют создавать инновационные продукты благодаря своей высокой биологической ценности.

9. Заключение

Промышленная конопля является одной из немногих масличных культур, продукты переработки которой используются в различных отраслях пищевой промышленности. Конопляное масло характеризуется высоким содержанием омега-3 и омега-6 жирных кислот в сбалансированном соотношении для организма человека. Химический состав семян и жмыха характеризуется высоким содержанием углеводов, 98% из которых представлены пищевыми волокнами — важными компонентами в пищевом рационе человека, так как физиологическая потребность в пищевых волокнах для взрослого человека составляет 20–25 г/сут. Высокое содержание белка в конопляном жмыхе делает его ценным компонентом для производства пищевых продуктов. Аминокислотный состав изолята белка соответствует всем стандартам, предъявляемым к эталонному белку. Профиль незаменимых аминокислот превышает соевый белок, 6 из 8 показателей содержания аминокислот конопли выше. Содержание лизина — единственный показатель, по которому изолят белка конопли уступает стандарту ВОЗ. Гидролизаты белка конопли являются перспективным исследовательским объектом в области пищевой промышленности. Они обладают хорошей усвояемостью организмом, высокой биологической активностью. Биопептиды, содержащиеся в гидролизатах конопли, обладают потенциалом для использования в функциональных пищевых продуктах.

В связи с этим комплексная переработка жмыха промышленной конопли для получения концентрата, изолята и гидролизата белка является актуальной. Для получения белкового продукта существует необходимость: 1) в подборе режимов, параметров и вещества при обезжиривании; 2) в определении эффективности ферментативного гидролиза (подборе ферментов); 3) в подборе режимов экстракции и осаждения.

Таблица 6. Профиль биологической активности пептидов в гидролизатах белка конопли [13,15,72]

Table 6. Profile of biological activity of peptides in hemp protein hysrolsates [13,15,72]

Пептидная последовательность	Молекулярная масса пептидов, кДа	Используемый ферментный препарат или способ гидролиза	Биологическая активность	Механизм действия
WVYY	0,62971	Alcalase Novozymes	Антиоксидантная активность	Высокая активность поглощения 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила
PSLPA	0,48357			
NHAV	0,43947			
HVRETALV	0,92407			
WVSPLAGRT	0,98614			
IGFLHWV	0,96023	Пепсин	Перекисное окисление липидов	
WYT	0,46851			
SVYT	0,46851			
IPAGV	0,45556			
PSLPA	0,48357			
GVLV	0,45054	Пепсин + панкреатин	Антигипертензивная активность	Ингибирование активности АПФ и ренина
IEE	0,38941			
LGV	0,28736			
RVR	0,42952			
LYV	0,39348			
LR	0,28736	Кислотный химический гидролиз	Ингибирование активности АПФ	
PLMLP	0,56976			
		Alcalase Novozymes	Иммуномодулирующее действие	Ингибирование α-глюкозидаз

Необходимо активизировать поиск новых и альтернативных источников пищевого белка, для чего требуется проведение дополнительных исследований, направленных на расширение знаний и применение технологий для производства продуктов больших переделов, таких как изоляты и биологически активные

пептиды, с целью расширения ассортимента растительных белковых добавок. На основании всего изложенного, промышленная конопля (*Cannabis sativa* L.), без сомнения, представляется одним из таких перспективных источников полноценного пищевого белка.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Pison, G. (2022). World population: 8 billion today, how many tomorrow? *Population and Societies*, 604(9), 1–4. <https://doi.org/10.3917/popsoc.604.0001>
- Berners-Lee, M., Kennelly, C., Watson, R., Hewitt, C. N. (2018). Current global food production is sufficient to meet human nutritional needs in 2050 provided there is radical societal adaptation. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 6, Article 52. <https://doi.org/10.1525/elementa.310>
- Bozsik, N., Cubillos T., J. P., Stalbek, B., Vasa, L., Magda, R. (2022). Food security management in developing countries: Influence of economic factors on their food availability and access. *PLoS One*, 17(7), Article e0271696. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271696>
- Колпакова, В. В., Уланова, Р. В., Куликов, Д. С., Гулакова, В. А., Семенов, Г. В., Шевякова, Л. В. (2022). Показатели качества гороховых и нуттовых белковых концентратов. *Техника и технология пищевых производств*, 52(4), 650–664. [Kolpakova, V. V., Ulanova, R. V., Kulikov, D. S., Gulakova, V. A., Semenov, G. V., Shevjakova, L. V. (2022). Pea and chickpea protein concentrates: Quality indicators. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(4), 649–664. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394>
- Дериглазова, Г. М. (2022). Современные тенденции возделывания сои в России. *Агро360Техника*, 5(3), статья 1. [Deriglazova, G. M. (2022). Current trends in soybean cultivation in Russia. *Agricultural and Livestock Technology*, 5(3), Article 1. (In Russian)] <https://doi.org/10.15858/alt.2022.5.3.1>
- Рождественская, Л. Н., Бычкова, Е. С., Бычков, А. Л. (2018). Анализ вызовов и современных тенденций развития технологий на рынке белков. *Пищевая промышленность*, 5, 42–47. [Rozhdestvenskaya, L. N., Bychkova, E. S., Bychkov, A. L. (2018). Analysis of challenges and current trends in the development of technologies in the protein market. *Food Industry*, 5, 42–47. (In Russian)]
- Доморошченкова, М. Л., Демьяненко, Т. Ф., Крылова, И. В., Камышева, И. М. (2020). Белковый потенциал семян подсолнечника. Исследования процессов получения пищевых белков из подсолнечного шрота. *Вестник Всероссийского научно-исследовательского института жиров*, 1–2, 24–29. [Domoroshchenkova, M. L., Demyanenko, T. F., Krilova, I. V., Kamisheva, I. M. (2020). Protein opportunities of sunflower seeds. research of processes of food protein production from sunflower oil meal. *Vestnik of the All-Russian Scientific Research Institute of Fats*, 1–2, 24–29. (In Russian)]
- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., Montowska, M. (2020). Oilseed proteins — Properties and application as a food ingredient. *Trends in Food Science and Technology*, 106, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.004>
- Singh, R., Langyan, S., Sangwan, S., Rohtagi, B., Khandelwal, A., Shrivastava, M. (2022). Protein for human consumption from oilseed cakes: A review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, Article 856401. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.856401>
- Salami, S. A., Martinelli, F., Giovino, A., Bachari, A., Arad, N., Mantri, N. (2020). It is our turn to get cannabis high: Put cannabinoids in food and health baskets. *Molecules*, 25(18), Article 4036. <https://doi.org/10.3390/molecules25184036>
- Rathi, V., Singh, G., Kumar, P., Chaudhary, M., Singh, P., Mishra, M. (2022). Legality of worldwide cannabis use and associated economic benefits. Chapter in a book: *Revolutionizing the Potential of Hemp and Its Products in Changing the Global Economy*. Springer Cham, 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-031-05144-9_3
- Manaia, J. P., Manaia, A. T., Rodrigues, L. (2019). Industrial hemp fibers: An overview. *Fibers*, 7(12), Article 106. <https://doi.org/10.3390/fib7120106>
- Shen, P., Gao, Z., Fang, B., Rao, J., Chen, B. (2021). Ferretting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 112, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.022>
- Crini, G., Lichtfouse, E., Chaneet, G., Morin-Crini, N. (2020). Traditional and new applications of hemp. Chapter in a book: *Sustainable Agriculture Reviews 42: Hemp Production and Applications*. Springer Cham, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41384-2_2
- Santos-Sánchez, G., Álvarez-López, A. I., Ponce-España, E., Carrillo-Vico, A., Bollati, C., Bartolomei, M. et al. (2022). Hempseed (*Cannabis sativa*) protein hydrolysates: A valuable source of bioactive peptides with pleiotropic health-promoting effects. *Trends in Food Science and Technology*, 127, 303–318. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.005>
- Серков, В. А., Кабунина, И. В. (2022). К аспекту нормативно-правового регулирования выращивания и переработки конопли посевной в России. *Международный сельскохозяйственный журнал*, 1(385), 99–102. [Serkov, V. A., Kabunina, I. V. (2022). To the aspect of legal and regulatory framework for cultivation and processing of common hemp in Russia. *Mezhdunarodnyi Sel'skokhozyaistvennyi Zhurnal*, 1(385), 99–102. (In Russian)] https://doi.org/10.55186/25876740.2022_65_1_99
- Rizzo, G., Storz, M. A., Calapai, G. (2023). The Role of Hemp (*Cannabis sativa* L.) as a Functional Food in Vegetarian Nutrition. *Foods*, 12(18), Article 3505. <https://doi.org/10.3390/foods12183505>
- Лиходеевский, А. В. (2021). К вопросу о возрождении незаслуженно забытых технологий: техническая конопля. *Теория и практика мировой науки*, 3, 29–38. [Likhodeevskiy, A.V. (2021). On the question of the revival of underservedly forgotten technologies: Technical hemp. *Theory and Practice of World Science*, 3, 29–38. (In Russian)]
- Kotecka-Majchrzak, K., Kasańska-Czarna, N., Szychaj, A., Mikołajczak, B., Montowska, M. (2021). The effect of hemp cake (*Cannabis sativa* L.) on the characteristics of meatballs stored in refrigerated conditions. *Molecules*, 26(17), Article 5284. <https://doi.org/10.3390/molecules26175284>
- Karabulut, G., Feng, H., Yemiş, O. (2022). Physicochemical and antioxidant properties of industrial hemp seed protein isolate treated by high-intensity ultrasound. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(4), 577–583. <https://doi.org/10.1007/s11130-022-01017-7>
- Кабунина, И. В. (2021). Современная структура мирового рынка производства конопли. *Международный сельскохозяйственный журнал*, 4, 40–44. [Kabunina, I. V. (2021). Modern world market structure hemp production. *Mezhdunarodnyi Sel'skokhozyaistvennyi Zhurnal*, 4, 40–44. (In Russian)] <https://doi.org/10.24412/2587-6740-2021-4-40-44>
- Попов, Р. А. (2019). Состояние, проблемы и возможности для развития отечественного коноплеводства. *Агротехника и энергообеспечение*, 4(25), 42–52. [Popov, R. A. (2019). State, problems and opportunities of development of domestic hemp farming. *Agrotehnika i Energoobespechenie*, 4(25), 42–52. (In Russian)]
- Бакулова, И. В. (2023). Влияние способа уборки конопли посевной на урожайность и качество семян в условиях Среднего Поволжья. *Аграрный научный журнал*, 8, 17–23. [Bakulova, I. V. (2023). The influence of the method of harvesting seeded hemp on the yield and quality of seeds in the conditions of the Middle Volga region. *The Agrarian Scientific Journal*, 8, 17–23. (In Russian)] <https://doi.org/10.28983/asj.y202318pp17-23>
- Серков, В. А., Кабунина, И. В. (2023). Конопля посевная — перспективный сырьевой ресурс для масложировой промышленности России. *Международный сельскохозяйственный журнал*, 2(392), 188–191. [Serkov, V. A., Kabunina, I. V. (2023). Seed hemp is a promising raw material resource for the fat and oil industry in Russia. *Mezhdunarodnyi Sel'skokhozyaistvennyi Zhurnal*, 2(392), 188–191. (In Russian)]
- Великанова, И. В., Пучков, Е. М. (2023). Формирование системы машин нового поколения для возделывания технической конопли в условиях модернизации отрасли. *Вестник АПК Верхневолжья*, 3(63), 78–84. [Velikanova, I. V., Puchkov, E. M. (2023). Formation of a system of new generation machines for the cultivation of industrial hemp in the conditions of modernization of the industry. *Agroindustrial Complex of Upper Volga Region Herald*, 3(63), 78–84. (In Russian)] <https://doi.org/10.35694/YARCX.2023.63.5.010>
- Федеральная служба государственной статистики (РОССТАТ) (2023). Сельское хозяйство в России 2023. Электронный ресурс: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13226>. Дата обращения: 28 декабря 2023 г. [Federal State Statistics Service (ROSSTAT) (2023). Agriculture in Russia 2023. Retrieved from <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13226>. Accessed December 28, 2023 (In Russian)]
- Бакулова, И. В., Кабунина, И. В. (2022). Основные приемы семеноводства конопли посевной среднерусского экотипа. *Международный сельскохозяйственный журнал*, 6(390), 632–635. [Bakulova, I. V., Kabunina, I. V. (2022). Basic techniques of seed farming of middle russian ecotype cannabis sativa. *Mezhdunarodnyi Sel'skokhozyaistvennyi Zhurnal*, 6(390), 632–635. (In Russian)] https://doi.org/10.55186/25876740.2022_65_6_632
- Давыдова, С. А., Чаплыгин, М. Е., Попов, Р. А. (2021). Техническая оснащенность селекции и семеноводства при возделывании льна-долгунца и конопли посевной. *Аграрный научный журнал*, 4, 72–78. [Davydova, S. A., Chaplygin, M. E., Popov, R. A. (2021). Fiber flax and hemp cultivation, seed breeding and seed production technical equipment. *The Agrarian Scientific Journal*, 4, 72–78. (In Russian)] <https://doi.org/10.28983/asj.y20214pp72-78>
- Yazici, L. (2023). Optimizing plant density for fiber and seed production in industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Journal of King Saud University-Science*, 35(1), Article 102419. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102419>
- Serkov V. A., Belousov R. O., Alexandrov R. M., Davydova O. K. (2019). Latest directions of common hemp selection for solving modern problems of domestic economy and import substitution. *Volga Region Farmland*, 3, 24–30. <https://doi.org/10.26177/VRF.2019.3.3.005>
- Базанов, Т. А., Ушаповский, И. В., Логинова, Н. Н., Смирнова, Е. В., Михайлова, П. Д. (2021). Изучение генетического полиморфизма сортов конопли посевной российской селекции с применением ISSR-маркеров. *Таврический вестник аграрной науки*, 3(27), 9–19. [Baranov, T. A., Uschapovsky, I. V., Loginova, N. N., Smirnova, E. V., Mikhailova, P. D. (2021). Study of genetic polymorphism of Russian origin hemp cultivars with the use of ISSR-markers. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*, 3(27), 9–19. (In Russian)] <https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-3-27-9-19>
- Karche, T. (2019). The application of hemp (*Cannabis sativa* L.) for a green economy: A review. *Turkish Journal of Botany*, 43(6), 710–723. <https://doi.org/10.3906/bot-1907-15>
- Rehman, M., Fahad, S., Du, G., Cheng, X., Yang, Y., Tang, K. et al. (2021). Evaluation of hemp (*Cannabis sativa* L.) as an industrial crop: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(38), 52832–52843. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16264-5>
- Crini, G., Lichtfouse, E., Chaneet, G., Morin-Crini, N. (2020). Applications of hemp in textiles, paper industry, insulation and building materials, horticulture, animal nutrition, food and beverages, nutraceuticals, cosmetics and hygiene, medicine, agrochemistry, energy production and environment: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 18, 1451–1476. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01029-2>

35. Дубровин, М. С. (2022). Развитие современного производства продукции из технической конопли. *Международный научно-исследовательский журнал*, 4–4(118), 120–124. [Dubrovinn, M. S. (2022). Development of modern production of technical hemp products. *International Research Journal*, 4–4(118), 120–124. (In Russian)] <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.118.4.001>
36. Dawadi, P., Syangtan, G., Siddiqui, M. A., Lama, B., Nepal, K., Joshi, D. R. et al. (2022). Nutritional value and antioxidant properties of Cannabis seeds from Makwanpur district of central Nepal. *Scientific World*, 15(15), 103–112. <https://doi.org/10.3126/sw.v15i15.45657>
37. Sharma, S., Kaur, M., Goyal, R., Gill, B. S. (2014). Physical characteristics and nutritional composition of some new soybean (Glycine max (L.) Merrill) genotypes. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 551–557. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0517-7>
38. Морозова, И. М., Мазурова, Н. Н., Морозов, И. М. (2022). Биохимический состав семян масличных культур, используемых при производстве кормовой продукции. *Вестник Вітебського державного університету*, 1(114), 48–53. [Morozova, I. M., Mazurova, N. N., Morozov, I. M. (2022). Biochemical composition of oil-bearing plant seeds used in fodder product manufacture. *Bulletin of Vitebsk State Technological University*, 1(114), 48–53. (In Russian)]
39. Курдюков, Е. Е., Семенова, Е. Ф., Гаврилова, Н. А., Пономарева, Т. А., Шелудякова, Ю. Б. (2019). Особенности химического состава льна семян. *Вестник Пензенского государственного университета*, 4(28), 81–84. [Kurdyukov, E. E., Semenova, E. F., Gavrilova, N. A., Ponomareva, T. A., Sheludyakova, Yu. B. (2019). Features of the chemical composition of flax seeds. *Vestnik of Penza State University*, 4(28), 81–84. (In Russian)]
40. Савченко, И. В., Медведев, А. М., Лукомец, В. М., Зотиков, В. И., Карпачев, В. В., Косолапов, В. М. (2009). Пути увеличения производства растительного белка в России. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*, 1, 11–13. [Savchenko, I. V., Medvedev, A. M., Lukomets, V. M., Zotikov, V. I., Karpachev, V. V., Kosolapov, V. M. (2009). Ways for increasing plant protein production in Russia. *Vestnik of the Russian Agricultural Sciences*, 1, 11–13. (In Russian)]
41. Leming, R., Lember, A. (2005). Chemical composition of expeller-extracted and cold-pressed rapeseed cake. *Agrarte adus*, 16(2), 103–109.
42. Снегирева, Н. В., Янова, М. А. (2022). Пищевая ценность льняной обезжиренной муки как функционального ингредиента для кондитерской промышленности. *Агропродовольственная политика России*, 2–3, 25–28. [Snegireva, N. V., Yanova, M. A. (2022). Nutritional value of skimmed flax flour as a functional ingredient for the confectionery industry. *Agro-food Policy in Russia*, 2–3, 25–28. (In Russian)]
43. Пономарева, С. В., Селехов, В. В. (2022). Влияние метеоусловий на качество зерна и корреляционная взаимосвязь между компонентами химического состава гороха полевого (*Pisum arvense* L.) в Нижегородской области. *Международный сельскохозяйственный журнал*, 6(390), 669–672. [Ponomareva, S. V., Selekhov, V. V. (2022). Weather conditions concerning their effect on quality of field pea (*Pisum arvense* L.) seeds, and correlation between chemical constituents of pea seeds grown in Nizhny Novgorod region. *Mezhdunarodnyi Sel'skokhozyaistvennyi Zhurnal*, 6(390), 669–672. (In Russian)] <https://doi.org/10.55186/25876740.2022.65.6.669>
44. Виноградов, Д. В., Кунцевич, А. А., Поляков, А. В. (2012). Жирнокислотный состав семян льна масличного сорта Санлин. *Международный технико-экономический журнал*, 3, 71–75. [Vinogradov, D. V., Kuntsevich, A. A., Polyakov, A. V. (2012). Fatty-acid composition of oil flax seed (Sanlin kind) *International Technical and Economic Journal*, (3), 71–75. (In Russian)]
45. Rabrenović, B. B., Vujanović, V. B. (2022). Industrial hempseed oil and lipids: Processing and properties. Chapter in a book: *Industrial Hemp*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90910-5.00003-8>
46. 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>
47. Burton, R. A., Andres, M., Cole, M., Cowley, J. M., Augustin, M. A. (2022). Industrial hemp seed: From the field to value-added food ingredients. *Journal of Cannabis Research*, 4, Article 45. <https://doi.org/10.1186/s42238-022-00156-7>
48. Risoluti, R., Gullifa, G., Battistini, A., Materazzi, S. (2020). Development of a “single-click” analytical platform for the detection of cannabinoids in hemp seed oil. *RSC Advances*, 10(71), 43394–43399. <https://doi.org/10.1039/D0RA07142K>
49. Esposito, M., Piazza, L. (2022). Ultrasound-assisted extraction of oil from hempseed (*Cannabis sativa* L.): Part 1. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(2), 732–739. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11404>
50. Baldino, N., Carnevale, I., Mileti, O., Aiello, D., Lupi, F. R., Napoli, A. et al. (2022). Hemp seed oil extraction and stable emulsion formulation with hemp protein isolates. *Applied Sciences*, 12(23), Article 11921. <https://doi.org/10.3390/app122311921>
51. Oliveira, É. R., Silva, R. F., Santos, P. R., Queiroz, F. (2019). Potential of alternative solvents to extract biologically active compounds from green coffee beans and its residue from the oil industry. *Food and Bioproducts Processing*, 115, 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.02.005>
52. Cravotto, C., Fabiano-Tixier, A.-S., Claux, O., Abert-Vian, M., Tabasso, S., Cravotto, G. et al. (2022). Towards substitution of hexane as extraction solvent of food products and ingredients with no regrets. *Foods*, 11(21), Article 3412. <https://doi.org/10.3390/foods11213412>
53. Valizadehderakhshan, M., Shahbazi, A., Kazem-Rostami, M., Todd, M. S., Bhowmik, A., Wang, L. (2021). Extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L. (Hemp) – Review. *Agriculture*, 11(5), Article 384. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050384>
54. Tura, M., Ansorena, D., Astiasarán, I., Mandrioli, M., Toschi, T. G. (2022). Evaluation of hemp seed oils stability under accelerated storage test. *Antioxidants*, 11(3), Article 490. <https://doi.org/10.3390/antiox11030490>
55. Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., Merendino, N. (2020). The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients*, 12(7), Article 1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>
56. Akkaya, M. R. (2018). Prediction of fatty acid composition of sunflower seeds by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 2318–2325. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3150-x>
57. Izzo, L., Pacifico, S., Piccolella, S., Castaldo, L., Narváez, A., Grosso, M. et al. (2020). Chemical analysis of minor bioactive components and cannabidiolic acid in commercial hemp seed oil. *Molecules*, 25(16), Article 3710. <https://doi.org/10.3390/molecules25163710>
58. Vodolazska, D., Lauridsen, C. (2020). Effects of dietary hemp seed oil to sows on fatty acid profiles, nutritional and immune status of piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11, Article 28. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-0429-3>
59. Sheppe, A. E. F., Edelmann, M. J. (2021). Roles of eicosanoids in regulating inflammation and neutrophil migration as an innate host response to bacterial infections. *Infection and Immunity*, 89(8), Article e0009521. <https://doi.org/10.1128/iai.00095-21>
60. Nigro, E., Pecoraro, M. T., Formato, M., Piccolella, S., Ragucci, S., Mallardo, M. et al. (2022). Cannabidiolic acid in hemp seed oil table spoon and beyond. *Molecules*, 27(8), Article 2566. <https://doi.org/10.3390/molecules27082566>
61. Fagnou, S., Piccolella, S., Sannino, M., Principio, L., Crescente, G., Baldi, G. M. et al. (2019). Can agronomic practices and cold-pressing extraction parameters affect phenols and polyphenols content in hempseed oils? *Industrial Crops and Products*, 130, 511–519. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.084>
62. Cerino, P., Buonerba, C., Cannazza, G., D'Auria, J., Ottoni, E., Fulgione, A. et al. (2021). A review of hemp as food and nutritional supplement. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 6(1), 19–27. <https://doi.org/10.1089/can.2020.0001>
63. Xu, J., Bai, M., Song, H., Yang, L., Zhu, D., Liu, H. (2022). Hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) Chemical composition and the application of hempseeds in food formulations. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(4), 504–513. <https://doi.org/10.1007/s11150-022-01013-x>
64. Irakli, M., Tsaliki, E., Kalivas, A., Kleisiaris, F., Sarrou, E., Cook, C. M. (2019). Effect of genotype and growing year on the nutritional, phytochemical, and antioxidant properties of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Antioxidants*, 8(10), Article 491. <https://doi.org/10.3390/antiox8100491>
65. Montero, L., Ballesteros-Vivas, D., Gonzalez-Barrios, A. F., Sánchez-Camargo, A. D. P. (2023). Hemp seeds: Nutritional value, associated bioactivities and the potential food applications in the Colombian context. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 1039180. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1039180>
66. He, Y., Wang, B., Wen, L., Wang, F., Yu, H., Chen, D. et al. (2022). Effects of dietary fiber on human health. *Food Science and Human Wellness*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.07.001>
67. Visković, J., Zheljazzkov, V. D., Sikora, V., Noller, J., Latković, D., Ocamb, C. M. et al. (2023). Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) agronomy and utilization: A review. *Agronomy*, 13(3), Article 931. <https://doi.org/10.3390/agronomy13030931>
68. Ушаповский, В. И., Гончарова, А. А., Миневиц, И. Э. (2022). Влияние переработки на белковый комплекс семян конопли. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 84(1), 66–72. [Ushchapovsky, V. I., Goncharova, A. A., Minevich, I. E. (2022). The impact of processing on hemp seeds protein complex. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 84(1), 66–72. (In Russian)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2022-1-66-72>
69. Potin, F., Saurer, R. (2020). Hemp seed as a source of food proteins. Chapter in a book: *Sustainable Agriculture Reviews 42: Hemp Production and Applications*. Springer Cham, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41384-2_9
70. Yano, H., Fu, W. (2023). Hemp: A sustainable plant with high industrial value in food processing. *Foods*, 12(3), Article 651. <https://doi.org/10.3390/foods12030651>
71. Wang, Q., Xiong, Y. L. (2019). Processing, nutrition, and functionality of hempseed protein: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 936–952. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12450>
72. Chen, H., Xu, B., Wang, Y., Li, W., He, D., Zhang, Y. et al. (2023). Emerging natural hemp seed proteins and their functions for nutraceutical applications. *Food Science and Human Wellness*, 12(4), 929–941. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.10.016>
73. Oseyko, M., Sova, N., Lutsenko, M., Kalya, V. (2019). Chemical aspects of the composition of industrial hemp seed products. *Ukrainian Food Journal*, 8(3), 544–559.
74. Kalaydzhev, H., Ivanova, P., Stoyanova, M., Pavlov, A., Rustad, T., Silva, C. L. et al. (2020). Valorization of rapeseed meal: Influence of ethanol antinutrients removal on protein extractability, amino acid composition and fractional profile. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 2709–2719. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0553-1>
75. Смольникова, Я. В., Бопп, В. Л., Коломейцев, А. В., Стутко, О. В., Ханипова, В. А., Брошко, Д. В. (2022). Применение ферментативного гидролиза для получения белковых концентратов из жмыха *Camelina sativa*. *Техника и технология пищевых производств*, 52(1), 199–209. [Smolnikova, Ya. V., Bopp, V. L., Kolomeyts, A. V., Stutko, O. V., Khanipova, V. A., Broshko, D. V. (2022). Aqueous enzymatic extraction of protein concentrates from camelina sativa oil cake. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(1), 199–209. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-199-209>
76. Akande, K. E. (2011). Proximate and amino acid analyses of full-fat sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed meal. *Singapore Journal of Scientific Research*, 1(2), 179–183. <http://dx.doi.org/10.3923/sjsres.2011.179.183>
77. 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 and Technology*, 100, 88–102. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.044>
78. Nasrollahzadeh, F., Roman, L., Swaraj, V. J. S., Ragavan, K. V., Vidal, N. P., Dutcher, J. R. et al. (2022). Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein concentrates from wet and dry industrial fractionation: Molecular properties, nutritional composition, and anisotropic structuring. *Food Hydrocolloids*, 131, Article 107755. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107755>
79. Mamone, G., Picariello, G., Ramondo, A., Nicolai, M. A., Ferranti, P. (2019). Production, digestibility and allergenicity of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolates. *Food Research International*, 115, 562–571. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.017>

80. Wang, X.-S., Tang, C.-H., Yang, X.-Q., Gao, W.-R. (2008). Characterization, amino acid composition and *in vitro* digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins. *Food Chemistry*, 107(1), 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.064>
81. Hadnadev, M., Dapčević-Hadnadev, T., Lazaridou, A., Moschakis, T., Michaelidou, A.-M., Popović, S. et al. (2018). Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part I. Physicochemical properties. *Food Hydrocolloids*, 79, 526–533. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.015>
82. Dapčević-Hadnadev, T., Hadnadev, M., Dizdar, M., Lješević, N. J. (2020). Functional and bioactive properties of hemp proteins. Chapter in a book: Sustainable Agriculture Reviews 42: Hemp Production and Applications. Springer Cham, 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41384-2_8
83. Plati, F., Ritzoulis, C., Pavlidou, E., Paraskevopoulou, A. (2021). Complex coacervate formation between hemp protein isolate and gum Arabic: Formulation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.003>
84. Красильников, В. Н., Мехтиев, В. С., Доморощенкова, М. Л., Демьяненко, Т. Ф., Гаврилюк, И. П., Кузнецова, Л. И. (2010). Перспективы использования белков из семян люпина узколистного. *Пищевая промышленность*, 2, 40–43. [Krasilnikov, V. N., Mekhtiev, V. S., Domoroshchenkova, M. L., Demjanenko, T. F., Gavriljuk, I. P., Kuznetsova, L. I. (2010). Prospect of use of fibers from seeds lupine *angustifolius*. *Food Industry*, 2, 40–43. (In Russian)]
85. Kalman, D. S. (2014). Amino acid composition of an organic brown rice protein concentrate and isolate compared to soy and whey concentrates and isolates. *Foods*, 3(3), 394–402. <https://doi.org/10.3390/foods3030394>
86. Rodriguez-Martin, N. M., Toscano, R., Villanueva, A., Pedroche, J., Millan, F., Montserrat-de la Paz, S. et al. (2019). Neuropeptide protein hydrolysates from hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Food and Function*, 10(10), 6732–6739. <https://doi.org/10.1039/C9FO01904A>
87. Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R. et al. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.037>
88. Liceaga, A. M. (2019). Approaches for utilizing insect protein for human consumption: Effect of enzymatic hydrolysis on protein quality and functionality. *Annals of the Entomological Society of America*, 112(6), 529–532. <https://doi.org/10.1093/aesa/saz010>
89. Tang, T., Wu, N., Tang, S., Xiao, N., Jiang, Y., Tu, Y. et al. (2023). Industrial application of protein hydrolysates in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(4), 1788–1801. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06957>
90. Jeewanthi, R. K. C., Lee, N.-K., Paik, H.-D. (2015). Improved functional characteristics of whey protein hydrolysates in food industry. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(3), 350–359. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.3.350>
91. Tultabayeva, T., Tokysheva, G., Zhakupova, G., Konysbaeva, D., Mukhtarkhanova, R., Matibayeva, A. et al. (2023). Enhancing nutrition and palatability: The development of cooked sausages with protein hydrolysate from secondary raw materials for the elderly. *Applied Sciences*, 13(18), Article 10462. <https://doi.org/10.3390/app131810462>
92. Montserrat-de la Paz, S., Carrillo-Berdasco, G., Rivero-Pino, F., Villanueva-Lazo, A., Millan-Linares, M. C. (2022). Hemp protein hydrolysates modulate inflammasome-related genes in microglial cells. *Biology*, 12(1), Article 49. <https://doi.org/10.3390/biology12010049>
93. Tang, C.-H., Wang, X.-S., Yang, X.-Q. (2009). Enzymatic hydrolysis of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate by various proteases and antioxidant properties of the resulting hydrolysates. *Food Chemistry*, 114(4), 1484–1490. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.049>
94. Xu, Y., Zhao, J., Hu, R., Wang, W., Griffin, J., Li, Y. et al. (2021). Effect of genotype on the physicochemical, nutritional, and antioxidant properties of hempseed. *Journal of Agriculture and Food Research*, 3, Article 100119. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100119>
95. Girgih, A. T., Alashi, A. M., Offengenden, M., Wu, J., Aluko, R. E. (2014). Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides. *Journal of Functional Foods*, 6, 384–394. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.11.005>
96. Mills, K. T., Stefanescu, A., He, J. (2020). The global epidemiology of hypertension. *Nature Reviews Nephrology*, 16(4), 225–237. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0244-2>
97. Ames, M. K., Atkins, C. E., Pitt, B. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 363–382. <https://doi.org/10.1111/jvim.15454>
98. Girgih, A. T., Alashi, A. M., He, R., Malomo, S. A., Raj, P., Netticadan, T. et al. (2014). A novel hemp seed meal protein hydrolysate reduces oxidative stress factors in spontaneously hypertensive rats. *Nutrients*, 6(12), 5652–5666. <https://doi.org/10.3390/nu6125652>
99. Kaushal, N., Dhadwal, S., Kaur, P. (2020). Ameliorative effects of hempseed (*Cannabis sativa*) against hypercholesterolemia associated cardiovascular changes. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 30(2), 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.09.006>
100. Malomo, S. A., Aluko, R. E. (2019). Kinetics of acetylcholinesterase inhibition by hemp seed protein-derived peptides. *Journal of Food Biochemistry*, 43(7), Article e12897. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12897>
101. Garmidolova, A., Desseva, I., Mihaylova, D., Fidan, H., Terziyska, M., Pavlov, A. (2022). Papain hydrolysates of lupin proteins with antioxidant, antimicrobial, and acetylcholinesterase inhibitory activities. *Applied Sciences*, 12(23), Article 12370. <https://doi.org/10.3390/app122312370>
102. Aluko, R. E. (2021). Food-derived acetylcholinesterase inhibitors as potential agents against Alzheimer's Disease. *eFood*, 2(2), 49–58. <https://doi.org/10.2991/efood.k.210318.001>
103. Cai, L., Wu, S., Jia, C., Cui, C. (2023). Hydrolysates of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed meal: Characterization and their inhibitory effect on α -glucosidase activity and glucose transport in Caco-2 cells. *Industrial Crops and Products*, 205, Article 117559. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117559>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Алексаночкин Денис Игоревич — магистрант, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-977-369-93-86 E-mail: aleksanochkindi@list.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0000-7677-6583 * автор для контактов	Denis I. Aleksanochkin, Master Student, Department “Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-977-369-93-86 E-mail: aleksanochkindi@list.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0000-7677-6583 * corresponding author
Фоменко Иван Андреевич — кандидат технических наук, старший преподаватель, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-906-036-06-05 E-mail: iv.fomenko@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2478-1705	Ivan A. Fomenko, 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: https://orcid.org/0000-0003-2478-1705
Алексеева Екатерина Александровна — магистрант, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-915-609-16-08 E-mail: katrin_ea@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0002-0632-1262	Ekaterina A. Alekseeva, Master Student, Department “Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products”, Russian Biotechnological University 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-915-609-16-08 E-mail: katrin_ea@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0002-0632-1262
Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, Руководитель Отдела координации инициативных и международных проектов, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (109) E-mail: i.chernuha@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927	Irina M. Chernukha, Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Principal Researcher, Head of the Department for Coordination of Initiative and International Projects, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (109) E-mail: i.chernuha@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927

Машенцева Наталья Геннадьевна — доктор технических наук, профессор, профессор РАН, профессор кафедры «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза», Российский биотехнологический университет
125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11
Тел.: +7–916–812–76–59
E-mail: natali-mng@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9287-0585>

Natalya G. Mashentseva, 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: <https://orcid.org/0000-0002-9287-0585>

Критерии авторства

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

Contribution

The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-198-205>

Поступила 29.01.2024

Поступила после рецензирования 22.04.2024

Принята в печать 25.04.2024

© Творогова А. А., Гурский И. А., Богданова Ю. И., 2024



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

Научная статья

Open access

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА НИЗКОЛАКТОЗНОГО МОРОЖЕНОГО С КОНЦЕНТРАТАМИ МОЛОЧНЫХ И СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ

Творогова А. А.¹, Гурский И. А.^{1*}, Богданова Ю. И.²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности, Москва, Россия

² Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

вязкость, окисление, твердость, цвет, пузырьки воздуха, кристаллы льда

Концентраты белков обладают высокой биологической ценностью и по сравнению с сухим обезжиренным молоком содержат значительно меньше лактозы. Применение концентратов белков в мороженом без содержания сухого обезжиренного молочного остатка позволяет не только восполнить белковый состав, но и разработать компонентный состав продукта с низким содержанием лактозы. В связи с этим изучение технологически значимых показателей качества мороженого с низким содержанием лактозы без сухого обезжиренного молочного остатка при использовании концентратов молочных и сывороточных белков является актуальной задачей. При проведении исследований были определены реологические, микроструктурные, цветовые и термостатические характеристики опытных образцов, а также окислительная стабильность жира. Было выявлено снижение вязкости при использовании сывороточных белков в 1,8–2,6 раза. Применение белковых концентратов привело к повышению твердости в 2,2–4,1 раза и клейкости в 1,6–5,0 раз, но заметно не отразилось на показателях термоустойчивости. Наибольшее влияние на данные характеристики оказала массовая доля жира. Оценка цветовых характеристик мороженого позволила выявить снижение индекса желтизны при использовании концентрата молочных белков. Было установлено, что цветовые различия у большинства образцов не распознаются человеческим глазом. Индукционный период характеризовался наименьшим значением в образцах с сывороточными белками, что указывает на более быструю вероятность протекания в них процессов окисления. Применение белковых концентратов не оказало существенного влияния на кристаллы льда. При использовании сывороточных белков стабильность воздушной фазы была значительно снижена. Проведенный многофакторный анализ исследуемых образцов разделил их на контрольные и содержащие белковые концентраты. По совокупности технологически значимых показателей качества применение концентратов молочных белков в производстве низколактозного мороженого более предпочтительно, чем использование концентратов сывороточных белков.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию No FGUS-2022-0013 ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 29.01.2024

Accepted in revised 22.04.2024

Accepted for publication 25.04.2024

© Tvorogova A. A., Gurskiy I. A., Bogdanova Y. I., 2024

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

Original scientific article

Open access

TECHNOLOGICALLY IMPORTANT QUALITY INDICATORS OF LOW-LACTOSE ICE CREAM WITH MILK AND WHEY PROTEIN CONCENTRATES

Antonina A. Tvorogova¹, Igor A. Gurskiy^{1*}, Yuliya I. Bogdanova²

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry, Moscow, Russia

² V. M. Gorbатов Federal Research Centre for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

KEY WORDS:

viscosity, oxidation, hardness, color, air bubbles, ice crystals

ABSTRACT

Protein concentrates have a high biological value and contain significantly less lactose in comparison with dry skimmed milk. The use of protein concentrates in ice cream without the content of non-fat milk solids allows not only making up for protein but also developing the component composition of a product with the low content of lactose. In this regard, the study of technologically significant quality indicators of ice cream with the low content of lactose without non-fat milk solids when using milk and whey protein concentrates is an urgent task. The rheological, microstructural, color and thermostatic characteristics, as well as the oxidative stability of fat of the test samples were determined in the research. It has been found that viscosity decreased by 1.8–2.6 times when using whey proteins. The use of protein concentrates led to an increase in hardness and adhesiveness by 2.2–4.1 and 1.6–5.0 times, respectively, but did not significantly affect the thermal stability. The mass fraction of fat had the greatest influence on these characteristics. The study of color characteristics of ice cream made it possible to reveal a decrease in the yellowness index when using milk protein concentrate. It has been established that color differences in most of the samples were not recognizable to the human eye. The induction period was characterized by the lowest value in the samples with whey proteins, thus indicating a probability of a faster oxidation process in them. The use of protein concentrates did not have a significant effect on ice crystals. The stability of the air phase was significantly reduced when using the whey proteins. A multivariate analysis of the studied samples divided them into the control and the samples containing protein concentrates. Based on the technologically significant quality indicators, the use of milk protein concentrates in the production of low-lactose ice cream is more preferable than the use of whey protein concentrates.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2022-0013 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Творогова, А. А., Гурский, И. А., Богданова, Ю. И. (2024). Технологически значимые показатели качества низколактозного мороженого с концентратами молочных и сывороточных белков. *Пищевые системы*, 7(2), 198–205. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-198-205>

FOR CITATION: Tvorogova, A. A., Gurskiy, I. A., Bogdanova, Yu. I. (2024). Technologically important quality indicators of low-lactose ice cream with milk and whey protein concentrates. *Food Systems*, 7(2), 198–205. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-198-205>

1. Введение

Приоритетными направлениями в производстве пищевой продукции экономически развитых стран, включая Российскую Федерацию, являются профилактика заболеваний и улучшение качества жизни. Повышение осведомленности потребителя о показателях качества пищевой продукции обязывает предприятия осознанно подходить к выбору компонентов для ее производства. Концентраты белков за счет своей биологической ценности и технологической функциональности представляют особый интерес для изготовителей. В молочной промышленности используют концентраты молочных (КМБ) и сывороточных (КСБ) белков. КСБ содержат фракции β -лактоглобулина, α -лактальбумина и сывороточные белки [1]. В КМБ помимо сывороточных белков входят фракции казеина, а общее соотношение казеина к сывороточным белкам, как и в натуральном коровьем молоке, находится в соотношении 80:20 соответственно [2]. Белковые концентраты не только являются источником высококачественного белка, но и улучшают показатели качества готовых продуктов, включая мороженое.

Мороженое — один из самых распространенных замороженных десертов, в котором содержится от 1,7 до 4,7% белка [3]. Его структура представляет собой комплекс взаимосвязанных фаз (кристаллы льда, пузырьки воздуха, жировые глобулы), распределенных в плазме. Устойчивое состояние структуры мороженого в значительной степени определяется нутриентным составом, в частности количественным и качественным составом белков. Белковые концентраты позволяют заметно повысить массовую долю белка в мороженом. Их используют дополнительно с сухим обезжиренным молочным остатком (СОМО) [4] или для замены белков СОМО [5]. Проведенные исследования различных специалистов в данной области позволили установить влияние физико-химических показателей белковых компонентов на показатели качества мороженого. Было выявлено, что наиболее значимыми свойствами белков молока для обеспечения качества мороженого являются их пенообразующие, поверхностно-активные и влагоудерживающие способности. Способность к образованию пен белками связана с их адсорбцией на границе раздела фаз воздух–жидкость с образованием эластичных пленок на поверхности пузырьков воздуха. В своей работе Xiong др. подтвердили большее влияние казеина на стабильность воздушной фазы в сравнении с сывороточными белками [6]. Удержание воды белками происходит за счет взаимодействия их полярных гидрофильных групп, содержание которых может отличаться в различных видах белковых концентратов [7]. Способность белков взаимодействовать с водой (связывать ее) влияет на характеристики готовых продуктов, таких как вязкость [8], термоустойчивость [9] и размеры кристаллов льда [10].

При использовании белковых концентратов также важно учитывать их влияние на жировые глобулы. На стадии гомогенизации на жировой частице формируется новая оболочка, которая в дальнейшем изменяется при созревании и фризеровании [11]. В своей работе Sharma и др. [12] выявили, что на поверхности жировых глобул преимущественно осаждается около 7 мг/см² белка, при этом казеина в 4–6 раз больше, чем сывороточных белков, следовательно, меньшее содержание казеина ведет к формированию менее прочной оболочки. При формировании оболочки важно знать ее прочность, поскольку от этого показателя зависит устойчивость жировой фазы к окислению. Это особенно важно учитывать при изготовлении взбитых продуктов, где жир находится в постоянном контакте с воздухом. Учитывая различные свойства казеиновых и сывороточных

белков, при изменении их соотношения на поверхности жировой частицы прочность оболочки будет отличаться.

При использовании концентратов сывороточных и молочных белков в мороженом важно принимать во внимание, что более низкое содержание в их составе лактозы и высокое содержание белка при полной замене СОМО позволит производить низколактозное мороженое, не прибегая к ферментативному гидролизу. Ферментативный гидролиз лактозы в производстве низколактозного мороженого с содержанием жира использован на стадии созревания [13]. Осуществление этого способа вызывает необходимость учета присутствия фермента лактазы в активной форме в готовом продукте.

В некоторых работах, посвященных изучению влияния белковых компонентов на качество мороженого, рассматривалась не только замена ими СОМО, но и частичная замена жира [14]. Однако работы, посвященные разработке низколактозного мороженого с концентратами молочных и сывороточных белков в случае замены СОМО при различной массовой доле жира в мороженом, отсутствуют. Учитывая большое влияние жира на показатели качества мороженого за счет теплофизических, органолептических и структурирующих свойств, его количество при использовании КСБ или КМБ может в различной степени повлиять на показатели готового продукта.

Популярность мороженого среди потребителей и возможность улучшения его потребительских свойств за счет низкого содержания лактозы и изменения состава белков определяют актуальность исследований по изучению показателей качества этого продукта с концентратами молочных и сывороточных белков. Таким образом, целью данной работы являлось исследование влияния замены СОМО при использовании КСБ и КМБ на показатели качества низколактозного мороженого с различной массовой долей жира.

2. Объекты и методы

2.1. Объекты

Объектами исследования в данной работе являлись образцы мороженого с различной массовой долей жира, в которых СОМО было частично заменено на КСБ и КМБ в количестве 5%. Для восполнения СОМО дополнительно применяли инулин (3%) и мальтодекстрин (2%). Массовая доля жира составляла 5% в образцах № 1–3, 10% — в образцах № 4–6 и 15% — в образцах № 7–9. Содержание СОМО в контрольных образцах (№ 1, № 4 и № 7) составляло 10%. Компонентный состав на 1 кг исследуемых образцов представлен в Таблице 1.

Образцы мороженого были изготовлены по традиционной схеме: в первую очередь осуществлялось смешивание компонентов, после чего смесь подогревали до 65 °С. Затем проводилась гомогенизация на первой ступени: для образцов с 5% жира — при давлении 180 бар; с 10% жира — при давлении 160 бар; с 15% жира — при давлении 100 бар. Гомогенизация на второй ступени осуществлялась при давлении 40 бар. Пастеризация проводилась при температуре 75 °С в течение 20 мин. Образцы охлаждали до температуры 4 °С, после чего отправляли на созревание в течение 20 ч. Температура фризирования составила до минус 5 °С, закалывание проводилось при минус 30 °С в течение 24 ч. Образцы хранились при температуре минус 18 °С.

2.2. Методы

Динамическую вязкость смесей определяли до и после их созревания согласно методу, описанному Akalin и др. [15], на вискозиметре DV2 + Pro (BrookField, США) с программным обеспечением Rheocalc V3 1–1 (BrookField, США) и с применением шпинделя SC4–31 с частотой вращения 30 об/мин.

Таблица 1. Состав исследуемых образцов мороженого

Table 1. Composition of the tested ice cream samples

Компоненты мороженого	Количество компонента в образце на 1 кг, г								
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9
Масло сливочное (м. д. ж. 82,5%)	60,7	60,7	60,7	121,3	121,3	121,3	181,9	181,9	181,9
СОМ*	105,3	x	x	105,3	x	x	105,3	x	x
Сахар	150	150	150	150	150	150	150	150	150
Стабилизатор эмульгатор (Cremodan SE334 VEG)	6,5	6,5	6,5	5,5	5,5	5,5	4,5	4,5	4,5
КСБ	x	52,7	x	x	52,7	x	x	52,7	x
КМБ	x	x	52,7	x	x	52,7	x	x	52,7
Инулин	x	30	30	x	30	30	x	30	30
Мальтодекстрин	x	20	20	x	20	20	x	20	20
Вода	677,5	680,1	680,1	617,9	620,5	620,5	558,3	560,9	560,9

Примечание: * сухое обезжиренное молоко.

Титруемую кислотность смесей выявляли по ГОСТ 3624–92¹.

Для определения криоскопической температуры смесей применяли осмометр-криоскоп ОСКР-1 («КИВИ осмометрия», Россия).

Взбитость мороженого определяли согласно ГОСТ 31457–2012² по формуле (1):

$$\text{Взбитость, \%} = \frac{\text{масса смеси} - \text{масса мороженого}}{\text{масса мороженого}} \times 100 \quad (1)$$

Показатели текстуры (твердость и клейкость) определяли при погружении зонда на глубину 5 мм со скоростью 1 мм/с. Для этого использовали Texture Analyzer (Brookfield, США) с зондом TA28 и с программным обеспечением TexturePro Lite v1.1 Bld 4 (Brookfield, США).

Термостойчивость образцов мороженого оценивали по скорости таяния и по времени падения первой капли. Исследование проводили согласно методике Muse M. и Hartel R. W. [16]. Скорость таяния была определена по графической зависимости массовой доли плава от продолжительности выдерживания образца как угловой коэффициент основного этапа плавления образца.

Цветовые характеристики (L^* , a^* , b^*) исследуемых образцов были определены с помощью спектрофотометра CM-2300d (Konica Minolta, Япония). Значение L^* изменяется от темного оттенка (0) до светлого (100), a^* отображает оттенки от зеленого ($a^* < 0$) до красного ($a^* > 0$), b^* — от синего ($b^* < 0$) до желтого ($b^* > 0$).

Индексы белизны (WI) и желтизны (YI) были определены согласно формулам (2) и (3):

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

$$YI = 142,86 \times b^* \times L^{*-1} \quad (3)$$

Для расчета интенсивности цвета (C^*) и угла тональности (h°) использовали формулы (4) и (5):

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

$$h^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (5)$$

При расчете общей цветовой разницы (ΔE^*) применяли формулу (6):

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (6)$$

Согласно [17], при $\Delta E^* < 1$ цветовые различия не распознаются глазом человека, при $1 \leq \Delta E^* \leq 3$ наблюдаются незначительные цветовые различия, которые могут быть заметными, при $3 < \Delta E^*$ цветовые различия являются очевидными.

Способность образцов к окислению была определена по показателю индукционного периода (IP) с использованием анализатора окислительной стабильности OXITEST (Velp Scientifica, Италия) при давлении в реакторе 6 бар и при температуре 90 °C. Масса пробы для анализа составляла 30 г.

Анализ микроструктуры мороженого (кристаллы льда и пузырьки воздуха) был проведен на световом микроскопе CX41 (OLYMPUS, Япония) с системой Пельтье PE120 (Linkam Scientific Instruments Ltd., Великобритания) согласно [18]. Структурные элементы были распределены по размерам с шагом 5 мкм, на графике также отображались кумулятивы и квантили (D10, D50 и D90).

Обработку полученных результатов проводили в среде анализа данных RStudio (RStudio PBC, США). Уровень статистической значимости $P = 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

При исследовании динамической вязкости, титруемой кислотности и криоскопической температуры смесей для мороженого установлены существенные различия в образцах с традиционным составом и в низколактозных образцах, не содержащих СОМО. Полученные результаты исследования образцов представлены в Таблице 2.

Установленное увеличение вязкости (Таблица 2) при повышении массовой доли жира в образцах связано с ростом количества жировых глобул после гомогенизации при незначительном различии в размерах частиц, влияющих на площадь соприкосновения измерительного устройства. Эти факторы определяют напряжение сдвига и вязкость среды. Наименьшие значения вязкости были выявлены в образцах с КСБ. Образцы с КМБ имели схожую вязкость с контрольными образцами. Различия вязкости между данными белками можно объяснить разницей их влагосвязывающих способностей, проде-

монстрированной в работе Ziarno и др. на примере образцов кефира [19]. Полученные результаты коррелируют с данными Hossain и др. [20] и Mostafavi и др. [21].

Таблица 2. Физико-химические показатели смесей

Table 2. Physico-chemical indicators of mixtures

Образец №	Динамическая вязкость, мПа·с		Титруемая кислотность, °Т	Криоскопическая температура, °С
	до созревания	после созревания		
1	502 ± 32 ^a	587 ± 34 ^a	23 ± 1 ^a	–2,4 ± 0,02
2	278 ± 21 ^b	245 ± 23 ^b	16 ± 1 ^b	–1,8 ± 0,01 ^c
3	395 ± 26 ^{ac}	415 ± 29	14 ± 1 ^{cd}	–1,8 ± 0,01 ^c
4	898 ± 64 ^d	858 ± 66 ^d	24 ± 1 ^a	–2,7 ± 0,01
5	406 ± 30 ^{acc}	290 ± 18 ^{be}	16 ± 1 ^{bc}	–1,9 ± 0,01 ^a
6	657 ± 36	568 ± 35 ^{af}	15 ± 1 ^{bc}	–1,9 ± 0,01 ^a
7	961 ± 58 ^{dg}	855 ± 42 ^d	23 ± 1 ^a	–2,9 ± 0,01
8	364 ± 19 ^{bce}	273 ± 17 ^{be}	14 ± 1 ^d	–2,1 ± 0,00 ^b
9	939 ± 51 ^{dg}	642 ± 37 ^{af}	15 ± 1 ^{cd}	–2,1 ± 0,01 ^b

Примечание: значения с одинаковой буквой значимых различий не имеют ($P > 0,05$).

После созревания наибольшие значения вязкости также наблюдались в контрольных образцах. В образцах с 10% и 15% жира с концентратами белков вязкость после созревания снизилась. Снижение вязкости связано с разделением фаз между стабилизатором и молочными белками, что коррелирует с результатами, полученными Thaiudom и др. [22].

Установлено снижение титруемой кислотности (Таблица 2) в образцах с КСБ и КМБ, что связано с сокращением количества в них минеральных солей.

Повышение криоскопической температуры (Таблица 2) обусловлено меньшим содержанием лактозы в образцах с КСБ и КМБ, что коррелирует с результатами более ранних исследований Moschouroulou и др. [23] и El-Zeini Hoda и др. [24]. Понижение криоскопической температуры при увеличении массовой доли жира в образцах было вызвано повышением концентрации растворенных низкомолекулярных веществ из-за снижения влаги.

Для объективной оценки структуры и консистенции мороженого установлены значения физических показателей, таких как взбитость, твердость, клейкость, скорость таяния и время падения первой капли. Результаты представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Физические показатели качества мороженого

Table 3. Physical indicators of ice cream quality

Образец №	Взбитость, %	Твердость, Н	Клейкость, Н	Скорость таяния, %/мин	Падение первой капли, мин
1	93 ± 7 ^{ab}	5,2 ± 0,8 ^c	0,3 ± 0,08 ^f	1,18 ± 0,05 ^a	26 ± 6 ^a
2	60 ± 5 ^c	18,2 ± 3,2 ^a	1,0 ± 0,2 ^c	1,12 ± 0,03 ^a	36 ± 4 ^a
3	67 ± 3 ^c	11,9 ± 3,7 ^b	0,7 ± 0,3 ^{de}	1,21 ± 0,05 ^a	32 ± 3 ^a
4	106 ± 5 ^a	4,8 ± 1,2 ^c	0,6 ± 0,2 ^{de}	0,75 ± 0,06 ^b	52 ± 3 ^b
5	62 ± 6 ^c	20,1 ± 2,4 ^a	1,5 ± 0,3 ^b	0,85 ± 0,06 ^b	62 ± 5 ^{bd}
6	67 ± 6 ^c	12,5 ± 2,5 ^b	1,0 ± 0,1 ^{cd}	0,76 ± 0,04 ^b	52 ± 4 ^b
7	87 ± 8 ^b	4,5 ± 0,7 ^c	0,4 ± 0,1 ^{ef}	0,12 ± 0,05 ^c	78 ± 8 ^c
8	56 ± 7 ^c	11,1 ± 2,8 ^b	2,0 ± 0,3 ^a	0,13 ± 0,05 ^c	66 ± 5 ^{cd}
9	65 ± 8 ^c	12,1 ± 2,8 ^b	1,8 ± 0,2 ^{ab}	0,20 ± 0,04 ^c	93 ± 6 ^c

Примечание: значения с одинаковой буквой значимых различий не имеют ($P > 0,05$).

Было установлено снижение взбитости при замене СОМО на белковые концентраты, что свидетельствует о снижении способности смеси к насыщению воздухом. Среднее значение взбитости данных образцов находилось в диапазоне от 56% до 67%, независимо от массовой доли жира. Средние значения взбитости контрольных образцов составляли 87–106%. Полученные различия связаны с аддитивностью ряда свойств белков и смеси. Во-первых, низкая вязкость смесей с белковыми концентратами усложняет сохранение включенного воздуха в толще продукта на этапе фризирования. В работе Stanley и др. было показано, что при увеличении вязкости повышается стабильность воздушной фазы [25]. Во-вторых, сказываются стабилизирующие и пенообразующие свойства фракций белков. В частности, несмотря на то, что КСБ обладают большей пенообра-

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

² ГОСТ 31457–2012 «Мороженое молочное, сливочное и пломбир. Технические условия». — Москва: Стандартинформ, 2014. — 28 с.

зующей способностью в сравнении с КМБ, пена, образованная сывороточными белками, менее стабильна, что было определено в работе Xiong и др. [6]. Кроме того, КСБ оказывают меньшее влияние на стабильность жировой фазы, участвующей в стабилизации воздушных пузырьков. Полученные результаты коррелируют с данными исследований Danesh и др. [26] и Roy и др. [27].

Показатели термоустойчивости (скорость таяния и падение первой капли), приведенные в Таблице 3, указывают на большее влияние массовой доли жира, чем замены части СОМО белковыми концентратами. При увеличении массовой доли жира с 5% до 15% скорость таяния была снижена в 6,1–9,8 раза, а время падения первой капли увеличилось в среднем на 34–61 минуту. Полученные результаты сопоставимы с данными зарубежных авторов Roland и др. [28] о прямо пропорциональной зависимости термоустойчивости и массовой доли жира в мороженом, что связано с влиянием количества жира на прочность жировой сети и на содержание дестабилизированного жира. Значимых различий скорости таяния между образцами с одинаковой массовой долей жира установлено не было. Существенно отличался по времени падения первой капли образец с 15% жира и КМБ в составе.

Оценка текстурных характеристик исследуемых образцов показала большее влияние используемых компонентов (СОМ, КСБ и КМБ), чем массовой доли жира. Наибольшие значения твердости были получены в образцах с КСБ при 5% и 10% жира, что связано с более высокой криоскопической температурой и с низкой взбитостью. Несмотря на схожие значения данных показателей, в образцах с КМБ значения твердости были существенно ниже, что может быть связано с образованием коллоидных растворов белков различной прочности и с более высокой взбитостью. Полученные значения твердости при использовании белковых концентратов сопоставимы с результатами, полученными Moschopoulou и др. [23].

Установленные значения клейкости также были выше в образцах с белковыми концентратами, что могло быть связано с их низкой молекулярной массой и с влиянием свойств коллоидных растворов, в частности с компактной глобулярной структурой и со способностью более прочно удерживать воду в структуре геля [29,30]. Полученные результаты коррелируют с данными Paglia и др. [31]. Массовая доля жира не оказала столь значимого воздействия на данный показатель.

Оценка цвета образцов мороженого позволила установить влияние замены СОМО на КСБ и КМБ в образцах мороженого с разным количеством жира на исследуемые цветовые характеристики, представленные в Таблице 4.

Образцы, содержащие КСБ, были наиболее темными, при этом количество жира не оказало влияния на цветовую характеристику. Контрольные образцы с 5% и 10% жира были значительно светлее по сравнению с контролем с 15% жира. Образцы с содержанием 10% и 15% жира, в состав которых был включен КМБ, были темнее образца с 5% жира.

Контрольные образцы имели низкое значение показателя a^* , интенсивность которого снижалась по мере увеличения массовой доли жира. Образцы с концентратами белков имели более высокое значение показателя a^* , интенсивность которого также увеличивалась по мере увеличения содержания жира. Увеличение показателя a^* связано с присутствием каротина в молоке, который имеет оттенки от желтого до оранжевого и вермилионового [32].

Образцы с КМБ имели более низкое значение показателя b^* по сравнению с остальными образцами, при этом интенсивность желтого оттенка увеличивалась при повышении количества жира, что подтверждается значениями b^* и YI. Увеличение показателя b^* в образцах при увеличении количества жира связано с содержанием в нем пигментов, как каротина, так и ксантофиллов и рибофлавина, имеющих желтые оттенки, что было сообщено в работе Doan [33].

Индекс белизны показал, что образцы с КМБ были более белыми. Большие значения WI в данных образцах связаны с большим количеством казеина в составе образцов с КМБ и с его свойством рассеивать падающий свет [34].

В исследуемых образцах было установлено значимое отличие угла тональности, который представляет доминирующий цвет образцов № 1 и № 4, от остальных образцов. Наименьшая интенсивность цвета наблюдалась у образцов с КМБ, что может быть связано с большим содержанием казеина. При увеличении количества жира увеличивалась интенсивность цвета, что связано с сильным влиянием содержащихся в нем пигментов, имеющих желто-красный оттенок.

Оценка общей цветовой разницы показала, что в образцах с 5% жира очевидные различия в цвете для глаза человека будут между образцами с КСБ и КМБ ($\Delta E^* = 3,7$), в образцах с 10% и 15% жировые различия будут слабыми ($1,4 \leq \Delta E^* \leq 3,0$). Среди контрольных образцов слабые различия будут наблюдаться между образцами с 5% и 10% жира ($\Delta E^* = 1,4$), при этом между образцами с 5% и 15%, а также с 10% и 15% жира цвет будет явно отличаться ($\Delta E^* = 4,9$ и $3,7$ соответственно). В образцах с КСБ разница по оттенку не будет видна между образцами с 5% и 10% жира ($\Delta E^* = 0,9$), однако будут слабые различия между образцами с 5% и 15% и 10% и 15% ($\Delta E^* = 2,5$ и $2,6$ соответственно). В образцах с КМБ очевидная разница цвета между образцами с 5% и 10% ($\Delta E^* = 4$).

Полученные цветовые различия указывают на доминирующую роль жира в формировании цвета мороженого, а не белковых концентратов, используемых в качестве замены СОМО.

Из-за небольшого количества жира в образцах № 1–3 исследование способности к окислению в них не проводили. В образцах с 10% и 15% жира способность жира к окислению была определена по величине индукционного периода. Результаты представлены на Рисунке 1.

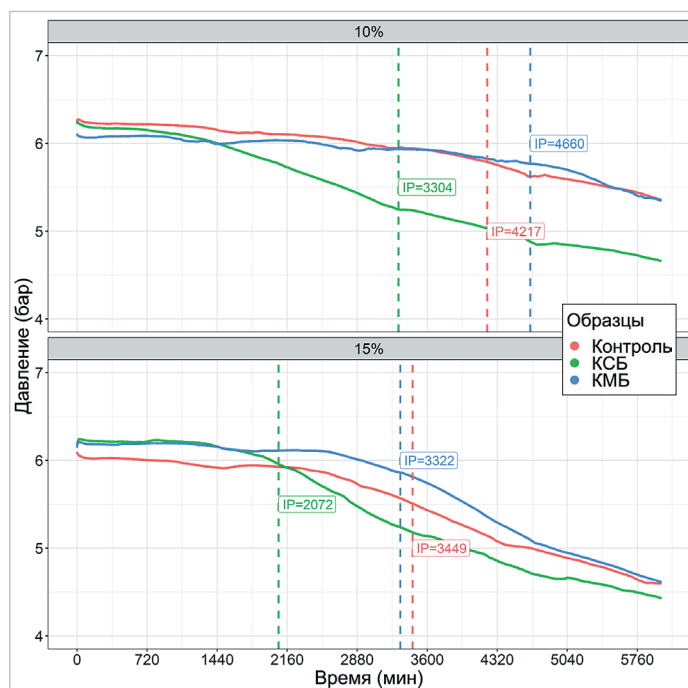


Рисунок 1. Способность к окислению исследуемых образцов мороженого

Figure 1. Oxidizing capacity of the tested ice cream samples

Таблица 4. Цветовые характеристики мороженого

Table 4. Color indicators of ice cream

Образец №	L^*	a^*	b^*	C^*	h°	WI	YI
1	96,6 ± 0,2 ^a	-0,6 ± 0,1	7,3 ± 0,5 ^b	7,4 ± 0,5 ^a	178,5 ± 0 ^a	91,9 ± 0,5 ^a	10,9 ± 0,7 ^b
2	94,0 ± 0,3 ^c	0,0 ± 0,0 ^{de}	8,3 ± 0,1 ^a	8,3 ± 0,1 ^b	181,6 ± 0 ^b	89,8 ± 0,2 ^c	12,6 ± 0,2 ^a
3	96,1 ± 0,5 ^a	0,1 ± 0,0 ^d	5,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1	181,6 ± 0 ^b	93,5 ± 0,3	7,8 ± 0,1
4	95,9 ± 0,4 ^{ab}	-0,3 ± 0,0	8,4 ± 0,3 ^a	8,4 ± 0,3 ^b	178,5 ± 0 ^a	90,6 ± 0,4 ^b	12,5 ± 0,5 ^a
5	94,7 ± 0,7 ^{cde}	0,3 ± 0,0	8,3 ± 0,1 ^a	8,3 ± 0,1 ^b	181,5 ± 0 ^b	90,1 ± 0,4 ^{bc}	12,5 ± 0,2 ^a
6	95,3 ± 0,4 ^{bc}	0,4 ± 0,01	7,2 ± 0,1 ^b	7,2 ± 0,1 ^a	181,5 ± 0 ^b	91,4 ± 0,2 ^a	10,7 ± 0,1 ^b
7	94,9 ± 0,6 ^{cd}	0,01 ± 0,0 ^c	11,9 ± 0,5	11,9 ± 0,5	181,1 ± 1,2	87,0 ± 0,7	17,9 ± 0,9
8	94,1 ± 0,5 ^{de}	0,7 ± 0,1 ^a	10,6 ± 0,1	10,7 ± 0,1	181,5 ± 0,0 ^b	87,8 ± 0,3	16,2 ± 0,2
9	95,1 ± 0,2 ^c	0,7 ± 0,0 ^a	9,0 ± 0,2	9,0 ± 0,2	181,5 ± 0 ^b	89,7 ± 0,2 ^c	13,5 ± 0,3

Примечание: значения с одинаковой буквой значимых различий не имеют ($P > 0,05$)

Было установлено, что при замене части СОМО на КСБ сокращается индукционный период по сравнению с другими образцами на 900–1300 мин, что указывает на более быстрый процесс окисления. Снижение данного показателя могло быть вызвано снижением стабильности оболочки жировых шариков на стадии их формирования при гомогенизации и их изменения при созревании смеси. При гомогенизации общая площадь поверхности глобул увеличивается в 4–10 раз [35]. При этом на границе раздела фаз жир–вода преимущественно адсорбируется казеин, повышающий стабильность жировых глобул. Следовательно, при изменении количества казеина при замене СОМО на КСБ происходит снижение стабильности жировых шариков в связи с формированием оболочки преимущественно за счет сывороточных белков. Кроме того, в процессе созревания происходит частичная десорбция сывороточных белков с поверхности жировых частиц в связи с отвердеванием жира, что и стало результатом более быстрого окисления.

Результаты определения способности к окислению показали, что увеличение количества жира ведет к сокращению индукционного периода на 800–1300 мин, что связано с увеличением общей площади поверхности жировых глобул и с уменьшением количества казеина на их поверхностях.

Исследование дисперсности воздушной фазы позволило установить влияние разновидностей белков на ее стабильность. График распределения пузырьков воздуха представлен на Рисунке 2.

Установлено, что в образцах (кроме образца № 8) показатель D10 имел схожие значения, варьирующиеся в диапазоне от 10,5 до 13,3 мкм. Наибольшие значения D50 и D90 установлены в образцах с КСБ. Показатель D50 в контрольных образцах и в образцах с КМБ

отличался при массовой доле жира 15%. Различия квантилей между образцами с КСБ и КМБ подтверждают большую роль казеина в стабилизации воздушной фазы. Большая стабильность воздушной фазы образцов контрольных и с КМБ связана со способностью мицеллярного казеина стабилизировать пены за счет адсорбции на границе фаз и формировать более жесткие пленки, что установили Danesh и др. [6].

Наибольшее увеличение показателя D90 было установлено в образцах с массовой долей жира 15%. Большой размер пузырьков воздуха в этих образцах может быть обусловлен меньшим количеством эмульгатора и большим количеством жира. В работе Ludvigsen [36] было описано, что под влиянием эмульгаторов снижается прочность оболочки жировых шариков на стадии созревания, при фризировании они агломерируют и формируют жировую сеть, стабилизирующую воздушную фазу. Высокое содержание жира при одинаковом количестве белка привело к формированию более тонкой, а следовательно, и менее прочной оболочки на жировых частицах. Полученные результаты схожи с данными Liu и др., установленными при исследовании количества жира вокруг пузырьков воздуха при его различной массовой доле [37].

В отличие от воздушной фазы, использование КСБ и КМБ не отразилось на дисперсности кристаллов льда (Рисунок 3).

Замена части СОМО на белковые концентраты не оказала значимого влияния на распределение кристаллов льда в образцах с различной массовой долей жира. Все квантили находились в узких диапазонах значений: D10 — от 12,59 до 18,05; D50 — от 25,9 до 33,2; D90 — от 49,53 до 60,2. Полученные результаты сопоставимы с результатами Patel и др. [38] и Lomolino и др. [39].

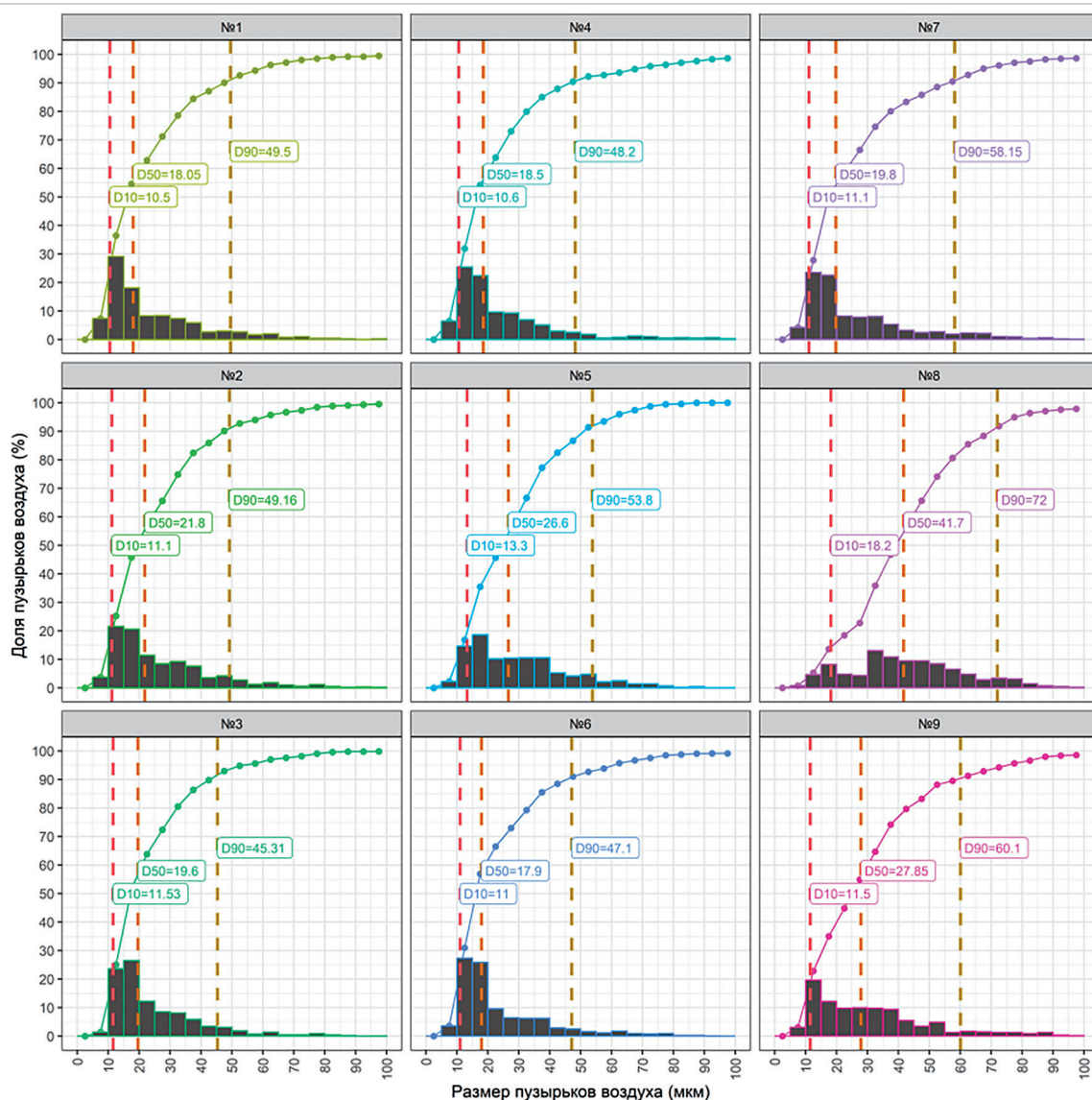


Рисунок 2. Распределение пузырьков воздуха в образцах мороженого

Figure 2. Distribution of air bubbles in the ice cream samples

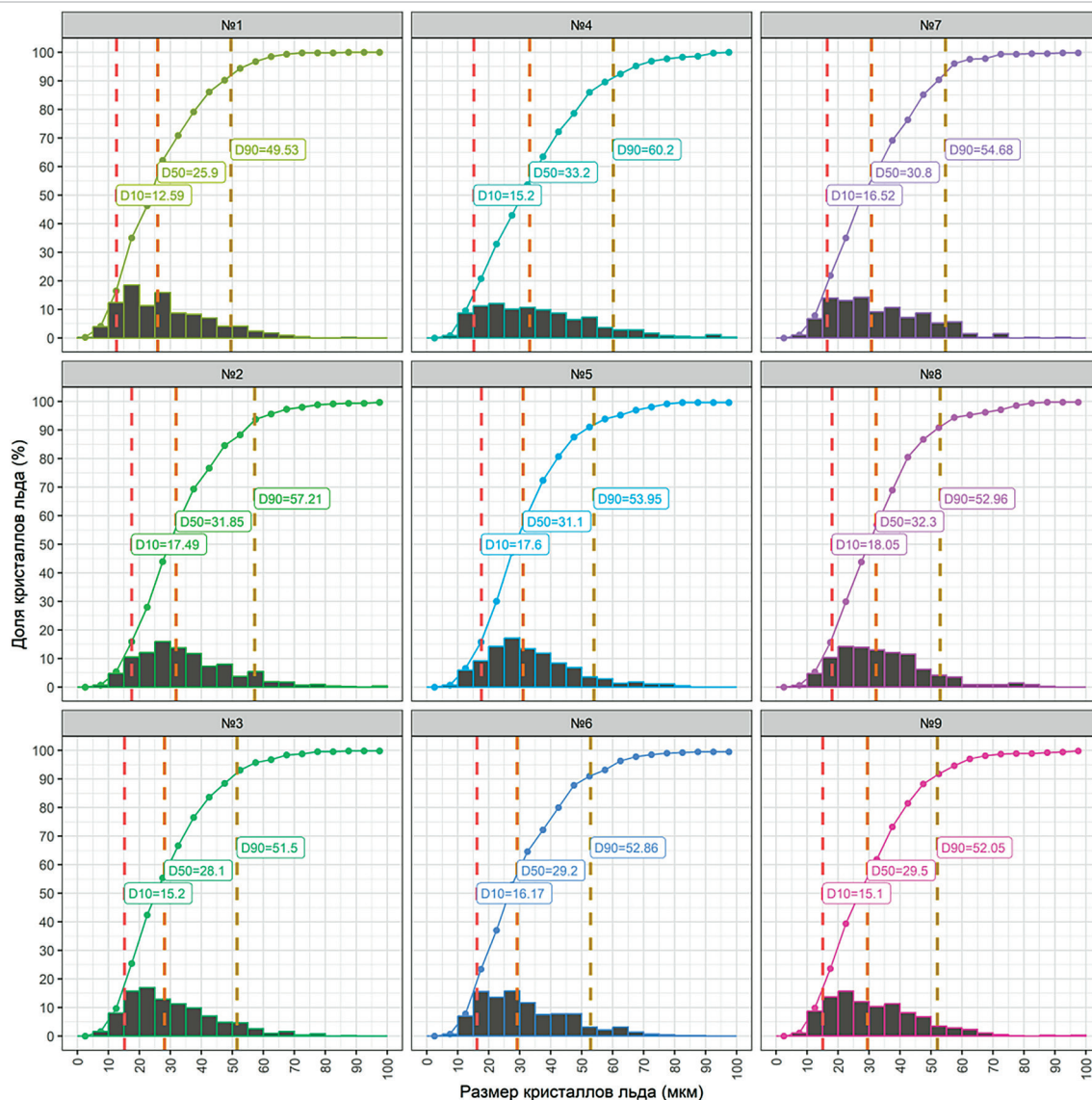


Рисунок 3. Распределение кристаллов льда в образцах мороженого

Figure 3. Distribution of ice crystals in the ice cream samples

Был проведен многофакторный анализ исследуемых образцов, представленный на Рисунке 4. Данные образцы прошли тесты на сферичность Бартлетта ($P < 0,05$) и на адекватность выборки Кайзера — Мейера — Олкина (0,71), что показало их пригодность к анализу методом главных компонент. Количество главных компонент было выбрано согласно правилу Кайзера — Гутмана. Матрица нагрузки главных компонент представлена в Таблице 5.

Таблица 5. Матрица нагрузки главных компонент

Table 5. Loading matrix of principal components

Показатель	PC1	PC2	PC3
L*	-0,279	-0,177	0,439
a*	0,329	0,194	0,304
b*	0,013	0,407	-0,298
Вязкость до созревания	-0,214	0,319	0,326
В после созревания	-0,323	0,223	0,218
Взбитость	-0,373	0,057	-0,103
Титруемая кислотность	-0,366	0,091	-0,282
Криоскопическая температура	0,307	-0,272	0,172
Твердость	0,322	-0,148	-0,126
Клейкость	0,333	0,152	0,119
Скорость таяния	-0,076	-0,447	-0,119
Падение первой капли	0,103	0,407	0,260
Средний размер пузырьков воздуха	0,229	0,259	-0,081
Средний размер кристаллов льда	0,092	0,225	-0,484

Изменение модели PCA (Рисунок 4) объяснялось PC1 (44,3%), PC2 (32,8%) и PC3 (8,6%). На данном рисунке прослеживается детерминация образцов. В PC1 высокие положительные значения нагрузки имели цветность (a^*), криоскопическую температуру, твердость и клейкость. Наименьшие значения нагрузки были у показателя титруемой кислотности, вязкости после созревания и взбитости, что говорит о существенной роли влияния белковых компонентов вместо части СОМО. PC2 имела высокие значения нагрузки по показателю «первой капли» и цветности (b^*); наименьшее значение имел показатель скорости таяния. Это подтверждает более существенную роль жира в способности мороженого сохранять свою форму. В PC3 наибольшее значение нагрузки было у показателя яркости, а наименьшее — у показателя среднего размера кристаллов льда. Доверительные эллипсы, представленные на Рисунке 4, подтверждают разделение образцов главными компонентами по массовой доле жира и на контрольные (№ 1, № 4, № 7) и с белковыми концентратами (№ 2, № 3, № 5, № 6, № 8, № 9).

4. Выводы

Согласно результатам физико-химического, микроструктурного и многофакторного анализов образцов мороженого, обоснована целесообразность замены белков СОМО белковыми концентратами при разработке низколактозных разновидностей данного продукта. В качестве замены предпочтительно использование концентратов молочных белков. Внесение КМБ в состав мороженого способствует получению продукта с более мягкой текстурой и стабильной воздушной фазой, а также с более высокой устойчивостью жира к окислению по сравнению с образцами с КСБ.

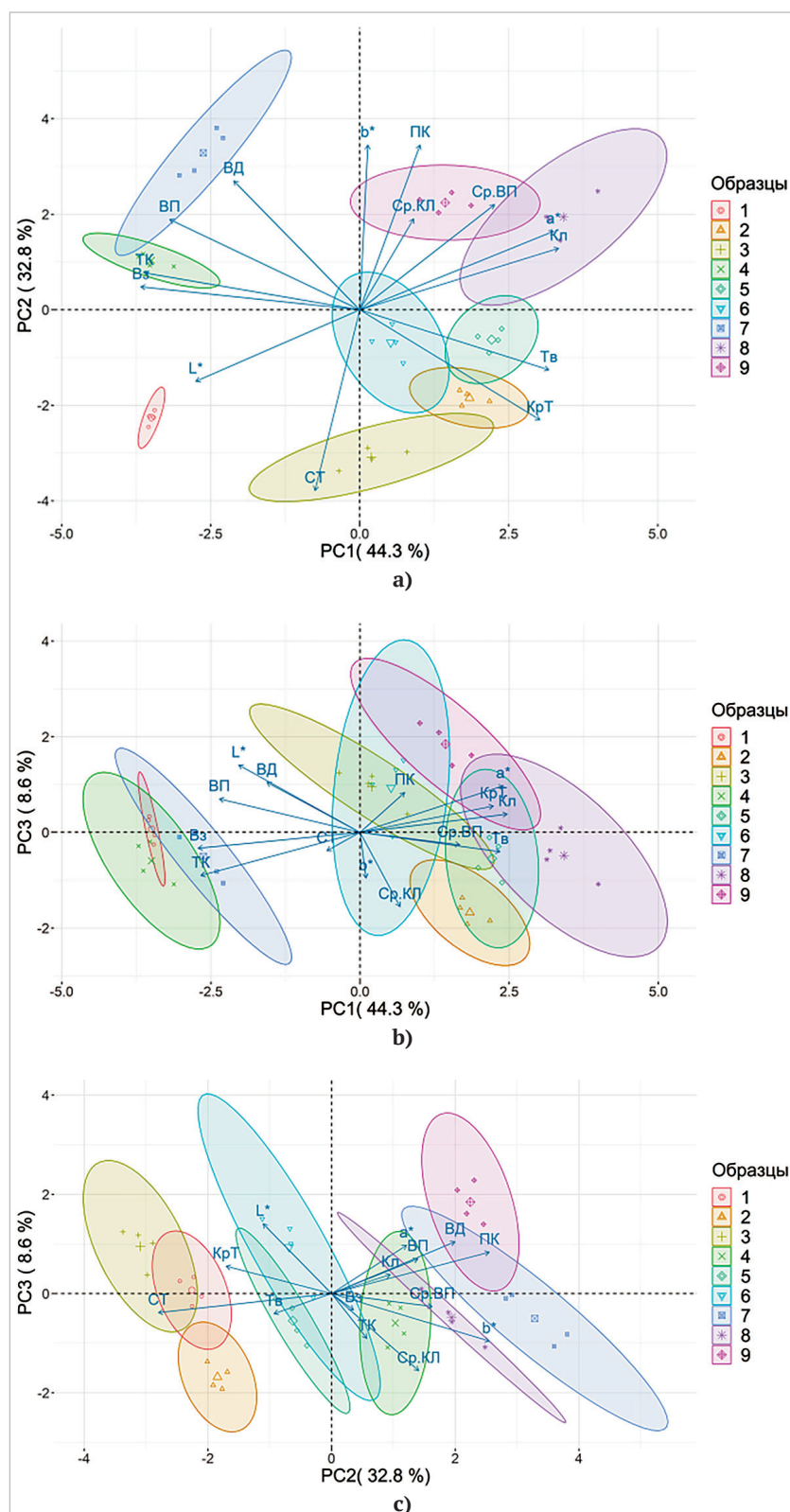


Рисунок 4. Многофакторный статистический и обобщающий анализы показателей качества: анализ главных компонент (PCA); ВП — вязкость после созревания; ВД — вязкость до созревания; ВЗ — взбитость; ПК — падение первой капли; Тв — твердость; ТК — титруемая кислотность; КЛ — клейкость; СТ — скорость таяния; КрТ — криоскопическая температура; Ср.ВП и Ср.КЛ — средний размер пузырьков воздуха и кристаллов льда

Figure 4. Multiple factor statistical and generalization analyses of quality indicators: principal component analysis (PCA); ВП — viscosity after maturation; ВД — viscosity before maturation; ВЗ — overrun; ПК — fall of the first drop; Тв — hardness; ТК — titratable acidity; КЛ — adhesiveness; СТ — melting rate; КрТ — cryoscopic temperature; Ср.ВП and Ср.КЛ — average size of air bubbles and ice crystals

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Delaney, R. A. M. (1976). Composition, properties and uses of whey protein concentrates. *International Journal of Dairy Technology*, 29(2), 91–101. <http://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1976.tb00406.x>
- Lara-Villoslada, F., Olivares, M., Xaus, J. (2005). The balance between caseins and whey proteins in cow's milk determines its allergenicity. *Journal of Dairy Science*, 88(5), 1654–1660. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2805%2972837-X>
- Shafique, B., Mahmood, S., Alam, M. Q., Saeed, W. (2019). Dynamic Concerns of Protein Ice-Cream: An Analysis. *Acta Scientifci Nutritional Health*, 3(11), 73–78. <https://doi.org/10.31080/asnh.2019.03.0490>
- Danesh, E., Goudarzi, M., Jooyandeh, H. (2017). Short communication: Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5206–5211. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12537>
- Pandiyan, C., Kumaresan, G., Villi, R. A., Rajarajan, G. (2010). Incorporation of whey protein concentrate in ice cream. *International Journal of Chemical Sciences*, 8(5), S563–S567.
- Xiong, X., Ho, M. T., Bhandari, B., Bansal, N. (2020). Foaming properties of milk protein dispersions at different protein content and casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 109, Article 104758. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104758>
- Zayas, J. F. (1997). Water Holding Capacity of Proteins. Chapter in a book: *Functionality of Proteins in Food*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1997.
- Alvarez, V. B., Wolters, C. L., Vodovotz, Y., Ji, T. (2005). Physical properties of ice cream containing milk protein concentrates. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 862–71. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2805%2972752-1>
- Daw, E., Hartel, R. W. (2015). Fat destabilization and melt-down of ice creams with increased protein content. *International Dairy Journal*, 43, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.IDAIRYJ.2014.12.001>
- Liu, Y., Liu, A., Liu, L., Kan, Z., Wang, W. (2021). The relationship between water-holding capacities of soybean–whey mixed protein and ice crystal size for ice cream. *Journal of Food Process Engineering*, 44(7), Article e13723. <https://doi.org/10.1111/JFPE.13723>
- Koxholt, M. M. R., Eisenmann, B., Hinrichs, J. (2001). Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 84(1), 31–37. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2801%2974448-7>
- Sharma, R., Singh, H., Taylor, M. W. (1996). Composition and structure of fat globule surface layers in recombined milk. *Journal of Food Science*, 61, 28–32. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1996.TB14719.X>
- Творогова, А. А., Шобанова, Т. В., Гурский, И. А., Казакова, Н. В. (2023). Показатели качества мороженого при проведении ферментативного гидролиза лактозы. *Пищевые системы*, 6(3), 308–316. [Tvorogova, A. A., Shobanova, T. V., Gurskiy, I. A., Kazakova, N. V. (2023). The quality indicators of ice cream upon the enzymatic hydrolysis of lactose. *Food Systems*, 6(3), 308–316. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-308-316>
- Yilsay, T. Ö., Yilmaz, L., Bayazit, A. A. (2006). The effect of using a whey protein fat replacer on textural and sensory characteristics of low-fat vanilla ice cream. *European Food Research and Technology*, 222, 171–175. <https://doi.org/10.1007/S00217-005-0018-X>
- Akalin, A. S., Karagözlü, C., Ünal, G. (2008). Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. *European Food Research and Technology*, 227, 889–895. <https://doi.org/10.1007/S00217-007-0800-Z>
- Muse, M., 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%2804%2973135-5>
- Quintanilla, P., Beltrán, M., Molina, A. I., Escriche, I., Molina, M. (2019). Characteristics of ripened Tronchón cheese from raw goat milk containing legally admissible amounts of antibiotics. *Journal of Dairy Science*, 102(4), 2941–2953. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15532>
- Tvorogova, A. A., Gurskiy, I. A., Shobanova, T. V., Smykov, I. T. (2023). Effect of protein concentrates and isolates on the rheological, structural, thermal and sensory properties of ice cream. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 11(1), 294–306. <https://doi.org/10.12944/crnfsj.11.1.22>
- Ziarno, M., Hasalliu, R., Cwalina, A. (2021). Effect of the addition of milk protein preparations on selected quality parameters and nutritional characteristics of kefir. *Applied Sciences*, 11(3), Article 966. <https://doi.org/10.3390/APP11030966>
- Hossain, M. K., Petrov, M., Hensel, O., Diakit, M. (2021). Microstructure and physicochemical properties of light ice cream: Effects of extruded microparticulated whey proteins and process design. *Foods*, 10(6), Article 1433. <https://doi.org/10.3390/foods10061433>

- [org/10.3390/foods10061433](https://doi.org/10.3390/foods10061433)
21. Mostafavi, F. S., Tehrani, M. M., Mohebbi, M. (2017). Rheological and sensory properties of fat reduced vanilla ice creams containing milk protein concentrate (MPC). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 567–575. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9424-y>
 22. Thaiudom, S., Singchan, K., Saeli, T. (2008). Comparison of commercial stabilizers with modified tapioca starches on foam stability and overrun of ice cream. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 1(01), 51–61.
 23. Moschopoulou, E., Dernikos, D., Zoidou, E. (2021). Ovine ice cream made with addition of whey protein concentrates of ovine-caprine origin. *International Dairy Journal*, 122, Article 105146. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105146>
 24. El-Zeini Hoda, M, Moneir El-Abd, M, Mostafa, A. Z., Yasser El-Ghany, F. H. (2016). Effect of incorporating whey protein concentrate on chemical, rheological and textural properties of ice cream. *Journal of Food Processing and Technology*, 7(2), Article 546. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000546>
 25. Stanley, D. W., Goff, H. D., Smith, A. K. (1996). Texture-structure relationships in foamed dairy emulsions. *Food Research International*, 29(10), 1–13. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(96\)2895%2900063-1](https://doi.org/10.1016/0963-9969(96)2895%2900063-1)
 26. Danesh, E., Goudarzi, M., Jooyandeh, H. (2017). Short communication: Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5206–5211. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12537>
 27. Roy, S., Hussain, S. A., Prasad, W. G., Khetra, Y. (2021). Quality attributes of high protein ice cream prepared by incorporation of whey protein isolate. *Applied Food Research*, 2(1), Article 100029. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100029>
 28. Roland, A. M., Phillips, L. G., Boor, K. J. (1999). Effects of fat content on the sensory properties, melting, color, and hardness of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 82(1), 32–38. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2899%2975205-7>
 29. Guo, M., Wang, G. (2016). Whey protein polymerisation and its applications in environmentally safe adhesives. *International Journal of Dairy Technology*, 69(4), 481–488. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12303>
 30. Guo, M., Wang, G. (2016). Milk protein polymer and its application in environmentally safe adhesives. *Polymers*, 8(9), Article 324. <https://doi.org/10.3390/polym8090324>
 31. Paglia, J., Fung, C., Yeung, C. K. (2023). Milk protein concentrate and reduced-calcium milk protein concentrate as natural emulsifiers in clean label high-protein ice cream manufacture. *Journal of Future Foods*, 3(2), 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.12.009>
 32. Chudy, S., Bilska, A., Kowalski, R., Teichert, J. (2020). Colour of milk and milk products in CIE L*a*b* space. *Medycyna Weterynaryjna*, 76(2), 77–81. <https://doi.org/10.21521/mw.6327>
 33. Doan, F. J. (1924). The color of cow's milk and its value. *Journal of Dairy Science*, 7(2), 147–153. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2824%2994004-5>
 34. Grigioni, G., Biolatto, A., Langman, L., Descalzo, A. M., Irurueta, M., Paez, R. et al. (2011). Colour and pigments in Milk and Dairy. Chapter in a book: Practical Food Research. Portugal: Nova Science Publisher, 2011.
 35. Titapiccolo, G. I., Alexander, M., Corredig, M. (2010). Rennet-induced aggregation of homogenized milk: Impact of the presence of fat globules on the structure of casein gels. *Dairy Science and Technology*, 90, 623–639. <https://doi.org/10.1051/DST%2F2010023>
 36. Ludvigsen, H. K. (2014). Application of Emulsifiers in Dairy and Ice Cream Products. Chapter in a book: Emulsifiers in Food Technology. John Wiley and Sons, Ltd. 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118921265.CH13>
 37. 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>
 38. Patel, M. R., Baer, R. J., Acharya, M. R. (2006). Increasing the protein content of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 1400–1406. <https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302%2806%2972208-1>
 39. Lomolino, G., Zannoni, S., Zabara, A., Da Lio, M., De Iseppi, A. (2020). Ice recrystallisation and melting in ice cream with different proteins levels and subjected to thermal fluctuation. *International Dairy Journal*, 100, Article 104557. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104557>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Творогова Антонина Анатольевна — доктор технических наук, главный научный сотрудник, Лаборатория технологии мороженого, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-495-610-83-85 E-mail: antvorogova@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7293-9162	Antonina A. Tvorogova , Doctor of Technical Sciences, Chief Researcher, Laboratory of Ice Cream Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostyakova Str., 127422, Moscow, Russia Tel.: +7-495-610-83-85 E-mail: antvorogova@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7293-9162
Гурский Игорь Алексеевич — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, Лаборатория технологии мороженого, Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности 127422, Москва, ул. Костякова, 12 Тел.: +7-495-610-83-85 E-mail: iixrug@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8177-3472 * автор для контактов	Igor A. Gurskiy , Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Laboratory of Ice Cream Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry 12, Kostyakova Str., 127422, Moscow, Russia Tel.: +7-495-610-83-85 E-mail: iixrug@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8177-3472 * corresponding author
Богданова Юлия Игорьевна — младший научный сотрудник, отдел Научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 E-mail: yu.bogdanova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7403-6714	Yuliya I. Bogdanova , Junior Researcher, Department of Scientific, Applied and Technological Developments, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 26, Talalikhina Str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 E-mail: yu.bogdanova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7403-6714
Критерии авторства	Contribution
А. А. Творогова — постановка, научное руководство и анализ результатов исследований; И. А. Гурский, Ю. И. Богданова — обзор литературы, проведение и обработка результатов экспериментальных исследований.	A. A. Tvorogova — formulation, scientific guidance and analysis of the research results; I. A. Gurskiy, Y. I. Bogdanova — a review of the scientific literature, conducting and processing of the experimental studies and results.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-206-212>

Поступила 31.01.2024

Поступила после рецензирования 25.04.2024

Принята в печать 03.05.2024

© Утьянов Д. А., Куликовский А. В., Хвостов Д. В., Курзова А. А., 2024



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

Научная статья

Open access

ОБРАЗОВАНИЕ MeIQx И PhIP В МОДЕЛЬНЫХ МАТРИЦАХ ИЗ АМИНОКИСЛОТ, УГЛЕВОДОВ И КРЕАТИНА

Утьянов Д. А.*, Куликовский А. В., Хвостов Д. В., Курзова А. А.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

гетероциклические ароматические амины, ГАА, углеводы, аминокислоты, реакция Майяра

Понимание реакции образования ГАА в пищевой продукции — ключ к поиску способов снижения количества их образования. Все больше экспериментальных работ в последнее время посвящается вопросу образования ГАА в модельных матрицах, чтобы установить основные прекурсоры, промежуточные продукты, катализаторы и ингибиторы в реакции их образования. Считается, что ГАА образуются в пищевой продукции в ходе реакции Майяра. К основными прекурсорами в реакции их образования относят аминокислоты, углеводы и креатин(ин). В связи с этим в настоящей работе были проведены исследования экспериментальных матриц, состоящих из аминокислот (8 незаменимых, глутаминовая кислота и аспарагиновая кислота), углеводов (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза) и креатина. Проведенные исследования показали, что углеводы в реакции образования ГАА могут вести себя по-разному — и как катализаторы, и как ингибиторы. Из всех исследованных матриц в образцах с фенилаланином отмечено наибольшее количество PhIP, его содержание варьировалось в диапазоне от 7159,79 до 27837,79 нг/г, на основании чего справедливо предположить, что из всех аминокислот именно фенилаланин является основным прекурсором в реакции образования PhIP. Большие концентрации PhIP были также отмечены и в образцах с триптофаном, содержащимся в диапазоне от 1791,19 до 4891,36 нг/г. Полученные результаты показывают, что использование некоторых источников углеводов при термической обработке мяса в теории может приводить к уменьшению количества образующихся ГАА.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследования проводились в рамках государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН FGOS-2024-0002.

Received 31.01.2024

Accepted in revised 25.04.2024

Accepted for publication 03.05.2024

© Utyanov D. A., Kulikovskii A. V., Khvostov D. A., Kurzova A. A., 2024

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

Original scientific article

Open access

FORMATION OF MeIQx AND PhIP IN MODEL MATRICES FROM AMINO ACIDS, CARBOHYDRATES, AND CREATINE

Dmitry A. Utyanov*, Andrey V. Kulikovskii, Daniil V. Khvostov, Anastasiya A. Kurzova

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

KEY WORDS:

heterocyclic aromatic amines, HAA, carbohydrates, amino acids, Maillard reaction

ABSTRACT

The understanding of the reaction of HAA formation in foods is a key for finding methods for reduction of their quantity. Currently, more and more experimental works are dedicated to the question of HAA formation in model matrices to establish the main precursors, intermediate products, catalysts and inhibitors in the reaction of their formation. It is believed that HAAs are formed in foods in the course of the Maillard reaction. Amino acids, carbohydrates and creatin(in)e are assigned to the main precursors in the reaction of their formation. In this work, therefore, investigations of experimental matrices were carried out. The experimental matrices consisted of amino acids (eight essential, glutamic acid and aspartic acid), carbohydrates (glucose, fructose, saccharose, lactose) and creatine. The performed investigations have shown that carbohydrates can behave differently (both as catalysts and inhibitors) in the reaction of HAA formation. Among all studied matrices, the highest quantity of PhIP was found in the samples with phenylalanine; its content varied in a range from 7,159.79 to 27,837.79 ng/g. Based on this result, it is reasonable to suggest that among all amino acids, phenylalanine is the main precursor in the reaction of PhIP formation. High concentrations of PhIP were also observed in the samples with tryptophan in a range from 1,791.19 to 4,891.36 ng/g. The results obtained show that the use of certain sources of carbohydrates upon thermal processing of meat can theoretically lead to a reduction in the quantity of formed HAA.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGOS-2024-0002 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Термическая обработка продукции необходима для улучшения питательных качеств продукта, и для повышения его перевариваемости. Термическая обработка увеличивает биодоступность нутриентов продукта и срок его хранения, улучшает вкусоароматические свойства, а также способствует уничтожению большей части микроорганизмов, возможно, присутствующих в продукте. Одновременно с этим термическая обработка, особенно высокотемпературная, приводит к образованию в продукте различного рода химических соединений, которые являются результатом химических реакций компонентов, входящих в состав продукта. К таким соединениям относятся ГАА. В настоящее время ГАА класси-

фицируются как 2a и 2b соединения, т. е. вероятные и возможные канцерогены [1,2].

Исследования вопроса образования ГАА начались с работ Т. Сугимур в 70-х годах прошлого столетия [3]. С тех пор теме содержания ГАА в пищевой продукции было посвящено немало работ. Из них преобладающее большинство посвящено вопросам снижения ГАА в мясных продуктах путем добавления немясных ингредиентов или изменения режимов термической обработки, таких как продолжительность и температура обработки. Но немало работ было посвящено и самому химизму образования ГАА [4].

Так, например, в работе [5] изучали реакцию образования PhIP, его прекурсоры и промежуточные продукты реакции его образования.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Утьянов, Д. А., Куликовский, А. В., Хвостов Д. В., Курзова, А. А. (2024). Образование MeIQx и PhIP в модельных матрицах из аминокислот, углеводов и креатина. *Пищевые системы*, 7(2), 206–212. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-206-212>

FOR CITATION: Utyanov, D. A., Kulikovskii, A. V., Khvostov, D. V., Kurzova, A. A. (2024). Formation of MeIQx and PhIP in model matrices from amino acids, carbohydrates, and creatine. *Food Systems*, 7(2), 206–212. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-206-212>

В ходе выполнения работы было установлено, что фенилаланин — основной прекурсор в реакции образования PhIP. В результате такие продукты термической деградации фенилаланина, как фенилэтилен, фенилацетальдегид, 2-фенилэтиламин, 2-фенилэтанол и фенилуксусная кислота были определены как промежуточные соединения в реакции образования PhIP из фенилаланина. Также в этой работе было установлено, что PhIP образуется только из продуктов термической деградации фенилаланина, т. е. эксперимент с модельными матрицами, в которых креатинин и фенилаланин оставили при комнатной температуре на 2 недели, показал, что PhIP в таком случае не образуется.

Реакции образования ГАА подробно описаны в работе [6], где приведен обзор работ конца 1990-х — начала 2000-х, посвященных этому вопросу. В целом реакции образования ГАА происходят в результате пиролиза аминокислот и белков. Именно продукты пиролиза аминокислот образуют мутагенные соединения, в то время как из продуктов пиролиза тех же нуклеиновых кислот, крахмала или масел не образуются соединения, обладающие мутагенными свойствами. Стоит отметить, что образование ГАА может происходить в результате пиролиза аминокислот, то есть даже не в результате реакции продуктов с другими их компонентами. Такие ГАА, как правило, относятся к неполярному классу. А вот уже большинство полярных ГАА — это результат реакции аминокислот, креатина или креатинина и углеводов в ходе реакции Майяра. Под реакцией Майяра подразумевается не какой-то единственный путь образования химических соединений, а комплекс разнообразных химических реакций. Изучение реакции Майяра со временем показало, что в ходе нее образуются пиразины, хиноксалины и пиридоимидазолы, которые в дальнейшем уже участвуют в реакциях образования ГАА [7].

Сильное влияние разных аминокислот было показано в работе [8], в которой исследовали приготовленные на гриле говяжьи стейки и котлеты. Результаты показали, что при таком способе термической обработки образуются как ГАА, относящиеся к аминоимидазоаренам, так и пиролитические ГАА. Среди аминоимидазоаренов в наибольшем количестве был обнаружен 4,8-DiMeIQx в диапазоне от 4,50 до 7,55 нг/г, далее был установлен MeIQx в диапазоне от 1,10 до 7,20 нг/г, MeIQ — от 1,70 до 5,30 нг/г и IQ — от 0,38 до 2,00 нг/г. В то же время 7,8-DiMeIQx, IQx и 4,7,8-TriMeIQx обнаружены не были. При этом в говяжьих котлетах ГАА присутствовали в больших количествах, чем в стейках. Авторы работы предполагают, что разница в содержании ГАА связана с тем, что в котлетах большее количество аминокислот и глюкозы, чем в стейках. Однако такое предположение может быть неверно ввиду того, что процесс теплопередачи в рубленых изделиях происходит лучше, чем в кусковых, поэтому в котлетах и образуется большее количество ГАА. В целом, авторы статьи привели корреляционную матрицу по зависимости содержания конкретного ГАА от аминокислот, креатинина и углеводов. Согласно приведенной матрице, содержание практически всех исследованных ими ГАА в наибольшей степени коррелирует с содержанием в продукте креатинина, глутаминовой кислоты и глюкозы.

Отдельная обзорная работа [9] посвящена вопросу образования ГАА со структурой аминоимидазоаренов. Все ГАА, принадлежащие к классу аминоимидазоаренов, обладают схожей структурой, включающей имидазольное кольцо, а также пиридиновое или пиразинное кольцо. Соответственно, реакции их образования должны быть весьма похожи. В настоящее время достоверно не удалось описать реакции их образования. Основное предположение базируется на том, что в ходе реакции Майяра образуются пиридины и пиразины, которые в дальнейшем вступают в реакцию с креатинином и альдегидом, в результате чего и образуются хинолины и хиноксалины. Эту теорию подтверждает способ синтеза MeIQ и MeIQx, который происходит путем реакции 2-метилпиридина или 2,5-диметилпиридина с креатинином и ацетальдегидом. Но в этом случае условия реакции далеки от условий реакций, происходящих в пищевой продукции при ее приготовлении, поэтому в последующих работах подтверждать его не стали. В настоящее время из всех аминоимидазоаренов только для PhIP получилось описать реакцию образования наиболее подробно, но тем не менее работы по этому вопросу еще не завершены. Примечательно то, что реакция образования PhIP не осуществляется описанным ранее путем. Согласно существующим теориям, образование гетероцикла происходит прямо во время самой реакции. В общем, реакция образования PhIP протекает следующим образом: она начинается с добавления креатинина к реакционноспособному карбонилу с образованием соответствующего альдола, который дегидратируется в дальнейшем. Образование пиридинового кольца и, соответственно, получение при этом PhIP происходит путем циклизации образовавшегося аддукта. Замыкание в кольцо происходит в присутствии аммиака и формальдегида. Аммиак и формальдегид

при этом могут реагировать между собой с образованием формамида, который тоже может выступать в роли промежуточного соединения. В целом, другие аминоимидазоарены могут образовываться таким же путем, как и PhIP, т. е. как следствие реакции карбонильных групп. Соответственно, как и с PhIP, гетероциклы других ГАА могут быть образованы путем циклизации и олигомеризации подходящих для этого альдегидов в обычных условиях приготовления пищевой продукции. Этот процесс протекает в случае присутствия всех необходимых для этого реагентов (например, креатина или креатинина), содержащихся в продукте. В работе [9] изучался вопрос влияния акролеина — продукта окисления жиров — на реакцию образования PhIP. В ходе работы было установлено, что акролеин заметно увеличивает количество PhIP в модельных системах. Акролеин способствует деградации Штрекера фенилаланина, реагирует с фенилаланином, креатинином и самим PhIP, а также увеличивает образование ключевых промежуточных для реакции образования PhIP веществ [10,11].

Другую свою работу авторы [12] посвятили экспериментальным исследованиям реакции образования MeIQ [9]. Полученные ими результаты показали, что образование MeIQ возможно только при условии присутствия 2-бутенала (кетонового альдегида). Реакция зависит от pH среды (наибольшее количество получено при pH 6,5) и от количества кетонового альдегида и креатинина. Отмечено, что аммиак, который получается в результате распада креатинина, тоже необходим в реакции образования MeIQ. Количество получаемого MeIQ также зависит от времени реакции, температуры и содержания кислорода в реакционной среде. Авторы предполагают следующую реакцию образования MeIQ: все начинается с образования аддукта из креатинина и кетонового альдегида, данный аддукт в дальнейшем вступает в реакцию с аммиаком с образованием соответствующего имина, результатом таутомеризации которого является енамин. Полученный енамин вступает в реакцию с кетоновым альдегидом с образованием очередного имина. Уже в этом имине присутствуют все атомы, которые присутствуют в MeIQ, дальнейшее получение которого происходит за счет электронной перестановки, циклизации, окисления и дегидратации. Течение этих процессов авторы работы предполагают двумя возможными путями.

Несмотря на то, что основная теория об образовании ГАА в пищевых продуктах основана на том, что ГАА — это продукт реакции аминокислот, углеводов и креатина, рядом работ было показано, что внесение в рецептуру разных источников углеводов приводит к снижению количества образующихся в ходе термической обработки ГАА [13]. Например, в работе [14] показано, что добавление к рыбе экстрактов черники, виноградных косточек и вишни ацеролы привело к значительному снижению суммарного количества ГАА относительно контрольного образца. Несмотря на то, что в таких экстрактах высокое содержание глюкозы, которая (исходя из основной теории) должна увеличивать количество ГАА, содержание в них разных фенолов, витаминов и других соединений, обладающих антиоксидантной активностью, нивелирует возможные катализирующие свойства в реакции образования ГАА. Результатами работы [15] также показано, что различные источники углеводов в комбинации с органическими кислотами могут приводить к снижению количества образующихся ГАА. В данной работе изучалось влияние на образование ГАА лимонной кислоты, источниками которой являлись лимон, лайм и цитрофортунелла. Также было исследовано влияние винной кислоты на количество образуемых ГАА, в качестве источника которой использовался тамаринд. В качестве источников сахара использовали мед, тростниковый сахар и белый сахар. Для эксперимента образцы мариновали в различных комбинациях описанных ранее ингредиентов. Результаты проведенных исследований показали, что комбинация в маринаде «лимон+мед» оказывает наибольшее ингибирующее воздействие на концентрации ГАА в готовом продукте, снижая при этом количество MeIQx примерно в 4 раза, а PhIP — примерно в 5 раз. Если отдельно выделять источники сахара, то наименьшие количества ГАА формируются в продукте при использовании тростникового сахара. Исходя из результатов этих работ, можно предположить, что теоретически углеводы могут обладать ингибирующими свойствами в реакции образования ГАА.

С другой стороны, результаты работы [16] показали, что использование сахарозы при термической обработке маринованной курицы приводит к увеличению количества образующихся ГАА. В проведенном эксперименте авторы помещали в железный горшок маринованные кусочки курицы, после чего включали нагрев. При достижении температуры поверхности 200–210 °C добавляли 40 г сахарозы и продолжали жарить образцы в течение 2, 4 и 6 минут. За контрольный образец принимали курицу, приготовленную без сахарозы. В результате авторы наблюдали увеличение суммарного количества ГАА в образцах с 20,99 нг/г до 44,05 нг/г. С увеличением

продолжительности термической обработки в сахарозе возрастало и количество образующихся ГАА. Таким образом, наблюдается сильный катализирующий эффект от добавления сахарозы.

В продолжение этой работы авторы в дальнейшем провели аналогичный эксперимент, но уже с добавлением листьев зеленого чая [17]. В результате было установлено, что с увеличением количества добавляемых чайных листьев возрастало и количество образующихся ГАА. Сильно это сказалось на количествах IQx, 7,8-DiMeIQx, 4,8-DiMeIQx, PhIP, AaC и MeAaC, концентрации которых были 2,99, 4,21, 1,69, 13,58, 1,93 и 8,00 нг/г соответственно. В большей степени добавление листьев зеленого чая увеличило содержание Harman и Norharman с 5,76 нг/г до 18,88 нг/г и с 43,15 нг/г до 128,46 нг/г соответственно. Суммарное количество ГАА возросло в среднем с 84,96 нг/г до 160,71 нг/г.

Известно, что при термической обработке мясной продукции помимо ГАА возможно также образование и ПАУ [18]. Авторы работы [19] изучали одновременное образование ГАА и ПАУ в модельных системах из фенилаланина, креатина и сахарозы. Результаты данной работы показали, что количество ГАА и ПАУ увеличивается в модельных системах с увеличением температуры и продолжительности термической обработки. В то же время результаты показали, что количество MeIQ и PhIP снижалось при повышении температуры обработки до 210 °C и 240 °C соответственно. Из ГАА наибольшее количество пришлось на IQ, а из ПАУ — на бензо[b]флуорантен.

В другой работе, посвященной исследованию образования ГАА в модельных системах [20], изучался вопрос влияния разных концентраций аминокислот на количество образующихся ГАА в смеси глюкозы, фенилаланина и креатина (теоретически основные прекурсоры в реакции образования PhIP). Для эксперимента были выбраны растворы разных концентраций триптофана, лизина, пролина, лейцина, метионина, валина, изолейцина, треонина, фенилаланина и аспарагина. Согласно полученным результатам, с увеличением концентрации триптофана, вносимого в модельную систему, количество образующегося PhIP снижалось вплоть до значений ниже предела обнаружения метода. Аналогичная картина наблюдалась и в образцах с лизином. Добавление в модельные матрицы растворов всех других аминокислот, за исключением аспарагина, также показало прямо пропорциональную зависимость — чем выше была концентрация добавляемой аминокислоты, тем меньшее количество PhIP образовывалось в модельной матрице, но в этих образцах добиться концентраций PhIP ниже предела обнаружения, как это было в образцах с триптофаном и лизином, не получилось. В образцах с аспарагином разные концентрации этой аминокислоты приводили как к снижению, так и к увеличению количества образовавшегося PhIP.

Помимо образования самих ГАА, в процессе термической обработки уже из сформированных ГАА в дальнейшем происходит образование их аддуктов с аминокислотами. Работа [21] посвящена этому вопросу. В результате исследования было установлено, что при термической обработке при температуре 200 °C в течение 5 минут PhIP связывается с глицином. Помимо PhIP, IQ и MeIQx также вступают в реакции с аминокислотами. Было установлено, что серин, цистеин и лизин тяжело вступают в реакцию с ГАА.

В работе [22] авторы изучали образование IQ, IQx, MeIQx, и 4,8-DiMeIQx в модельных матрицах, состоящих из креатина, глюкозы и треонина (теоретически основные прекурсоры в реакции образования ГАА с хинолином и хиноксалином в структуре). Проведенные исследования показали, что в модельных матрицах в наибольшем количестве образовывался IQ, а MeIQx — в наименьшем. Также наблюдалась прямо пропорциональная зависимость — чем больше была концентрация треонина и креатина в образце, тем большее количество ГАА в нем образовывалось. Учитывая, что ГАА вступают в реакцию с аминокислотами, получается возможной и их реакция с белками. Это было показано авторами работы [21] в работе [23], в ходе которой было доказано образование аддуктов PhIP с альбумином, гемоглобином и α -казеином.

Известно, что основные составляющие мяса — это аминокислоты, входящие в состав белка, жир и влага. Так, мышечная ткань животных (в том числе птицы и рыб) содержит до 0,5% креатина. Углеводов в мясном сырье фактически быть не должно, а если они присутствуют, то их количество не превышает 0,5%. Однако, согласно гипотезам и проведенным исследованиям, ГАА — результат реакции аминокислот, креатина и гексоз [13]. В то же время ряд работ показал, что источники различных углеводов, добавляемых к мясному сырью в процессе его термической обработки, не только увеличивают количество образующихся ГАА, но и проявляют ингибирующие свойства в реакции их образования. Поэтому целью настоящей работы было исследование образования PhIP и MeIQx в модельных системах из аминокислот, моно- и дисахаридов и креатина.

2. Материалы и методы

Для исследования были отобраны 10 аминокислот («Реахим», Россия): незаменимые аминокислоты (валин, фенилаланин, метионин, треонин, лизин, лейцин, изолейцин, триптофан), а также аспарагин и глутаминовая кислота. Перечисленные соединения были выбраны в связи с тем, что в мясном сырье они обычно присутствуют в больших количествах (в частности, глутаминовая кислота) по сравнению с другими аминокислотами. Для эксперимента были подготовлены смеси из каждой аминокислоты с сахарозой, глюкозой, фруктозой и лактозой (PanReac AppliChem, Германия) с добавлением креатина моногидрата (Merck, США) и воды (получена на системе MilliQDirect 8, Франция), а также одна контрольная группа без углеводов.

Экспериментальные матрицы готовили в фарфоровых тиглях, которые предварительно доводились до постоянной массы в сушильном шкафу (ШС 80–01, Россия) при температуре 105 °C в течение 30 минут, после чего были взвешены. Высушенные тигли хранились в эксикаторе. Для приготовления образца тигль из эксикатора ставили на лабораторные весы (Gibertini E50s, Gibertini Elettronica, Италия), в тигль последовательно вносили аминокислоту, углевод, креатин и дистиллированную воду и перемешивали палочкой из боросиликатного стекла. На основании проведенного анализа также был подготовлен 1 образец, состоящий только из фенилаланина и воды, с целью установления возможности образования PhIP без присутствия креатина и углеводов (образец ФА). Приготовленные в тиглях образцы помещали в предварительно нагретый до 200 °C сушильный шкаф, где они подвергались термической обработке в течение 20 минут. После термической обработки фарфоровые тигли помещались в эксикатор, где остывали до комнатной температуры. После охлаждения тигли с образцами взвешивались для дальнейших расчетов.

В Таблицах 1–5 приведены данные о составах, приготовленных в ходе настоящего эксперимента матриц, и об их массе до и после термической обработки.

Таблица 1. Состав экспериментальных контрольных образцов
Table 1. Composition of the experimental control samples

Использованная АК	m АК, мг	m креатина, мг	m углевода, мг	m воды, мг	m пробы до ТО*, мг	m пробы после ТО, мг
Валин	96,4	5,0	—	558,6	660,0	100,0
Фенилаланин	96,0	5,5	—	428,5	530,0	100,0
Метионин	99,0	5,0	—	466,0	570,0	100,0
Треонин	98,8	4,5	—	276,7	380,0	90,0
Лизин	103,4	4,5	—	322,4	430,3	110,0
Лейцин	98,8	4,5	—	1387,0	1490,3	104,0
Триптофан	101,2	5,3	—	1399,5	1506,0	100,0
Глутаминовая кислота	100,0	5,5	—	201,3	306,8	90,0
Аспарагин	96,5	4,6	—	124,9	226,0	100,0
Изолейцин	103,1	5,4	—	984,5	1093,0	110,0
ФА	96,7	—	—	415,08	511,78	100,0

Примечание: * термическая обработка.

Таблица 2. Состав экспериментальных образцов с сахарозой
Table 2. Composition of the experimental samples with saccharose

Использованная АК	m АК, мг	m креатина, мг	m углевода, мг	m воды, мг	m пробы до ТО, мг	m пробы после ТО, мг
Валин	105,1	4,5	4,5	548,5	662,6	100,0
Фенилаланин	102,0	4,8	5,1	420,1	532,0	80,0
Метионин	104,5	4,5	5,5	1002,8	1117,3	100,0
Треонин	105,3	4,5	5,0	746,5	861,3	100,0
Лизин	98,0	4,7	5,0	519,3	627,0	110,0
Лейцин	95,2	4,5	4,9	907,6	1012,2	94,0
Триптофан	99,1	5,2	5,1	1930,6	2040,0	80,0
Глутаминовая кислота	95,3	4,5	4,7	539,9	644,3	100,0
Аспарагин	97,5	4,5	5,0	419,7	526,7	100,0

Таблица 3. Состав экспериментальных образцов с глюкозой
Table 3. Composition of the experimental samples with glucose

Использованная АК	m АК, мг	m креатина, мг	m углеводов, мг	m воды, мг	m пробы до ТО, мг	m пробы после ТО, мг
Валин	100,3	4,5	4,7	452,6	562,1	96,0
Фенилаланин	97,6	5,0	4,5	645,5	572,6	89,0
Метионин	100	4,9	5,5	686,8	797,2	100,0
Треонин	104,8	4,7	4,6	355,3	469,4	99,0
Лизин	98,6	4,5	4,5	244,5	352,1	110,0
Лейцин	97,2	5,1	5,4	936,3	1043,0	100,0
Триптофан	102,3	4,5	5,4	1986,8	2099,0	100,0
Глутаминовая кислота	103,2	4,3	2,6	270,0	382,3	87,0
Аспарагин	100,4	5,0	4,6	337,1	446,1	103,0
Изолейцин	96,2	4,8	5,1	1094,9	1201,0	95,0

Таблица 4. Состав экспериментальных образцов с фруктозой
Table 4. Composition of the experimental samples with fructose

Использованная АК	m АК, мг	m креатина, мг	m углеводов, мг	m воды, мг	m пробы до ТО, мг	m пробы после ТО, мг
Валин	102,1	4,9	4,8	765,5	877,3	100,0
Фенилаланин	100,6	5,2	5,3	718,1	829,2	97,0
Метионин	100,2	4,9	4,5	768,8	878,4	98,0
Треонин	108,0	5,5	4,5	384,7	502,7	101,0
Лизин	101,2	4,9	4,6	297,4	408,1	115,0
Лейцин	103,2	4,5	4,6	1205,9	1318,2	106,0
Триптофан	104,3	4,8	5,3	1410,1	1524,5	108,0
Глутаминовая кислота	101,9	5,2	4,7	358,61	470,4	87,0
Аспарагин	101,7	5,1	4,9	419,4	531,1	106,0
Изолейцин	99,1	4,9	5,2	862,4	971,6	98,0

Таблица 5. Состав экспериментальных образцов с лактозой
Table 5. Composition of the experimental samples with lactose

Использованная АК	m АК, мг	m креатина, мг	m углеводов, мг	m воды, мг	m пробы до ТО, мг	m пробы после ТО, мг
Валин	103,9	4,6	5,0	458,5	572,0	98,0
Фенилаланин	98,3	5,2	5,3	445,5	554,3	84,0
Метионин	100,0	4,8	5,0	438,4	548,2	97,0
Треонин	102,0	5,4	4,6	761,5	873,5	76,0
Лизин	103,9	4,6	4,6	330,2	443,3	113,0
Лейцин	96,2	5,4	5,0	770,6	877,2	103,3
Триптофан	97,5	5,5	5,2	1162,8	1,271	100,0
Глутаминовая кислота	101,0	5,5	5,5	320,5	432,5	88,0
Аспарагин	97,1	5,3	5,0	328,7	436,1	99,0

Содержание ГАА в полученных образцах определяли по [24].

Для расчетов использовалась программа STATISTICA 10, результаты представлялись в виде «Mean±SD», статистическую достоверность рассчитывали с применением дисперсионного анализа (ANOVA) при помощи критерия Тьюки. Вероятность 0,05 была выбрана в качестве значимого уровня.

3. Результаты и обсуждение

Результаты содержания ГАА в полученных образцах приведены в Таблицах 6 и 7.

Как видно из Таблицы 6, в контрольном образце MeIQx образовался только в образцах с треонином и аспарагином. Наибольшее количество MeIQx обнаружено в образце со смесью треонина и сахарозы. В целом во всех образцах с треонином установлено наибольшее

количество MeIQx относительно других образцов. При рассмотрении образцов с треонином стоит отметить, что только в смеси с сахарозой количество MeIQx было выше, чем в контрольном образце. В образцах с другими углеводами его количество было в $\approx 2,5$ –3 раза меньше. Аналогичная картина наблюдается и в образцах с валином, лизином, метионином, лейцином и глутаминовой кислотой, т. е. 6 из 10 выбранных аминокислот образуют наибольшее количество MeIQx именно с сахарозой. Для образцов с треонином и аспарагином, где MeIQx образовался в контрольных образцах, следует отметить, что сахара выступают в роли катализатора, а глюкоза, фруктоза и лактоза в роли ингибиторов в реакции образования MeIQx.

Из оставшихся углеводов не представляется возможным выделить явный ингибитор или катализатор в реакции образования ГАА. Низкую реакционную способность в реакции образования проявила лактоза — из 9 аминокислот в смеси с ней MeIQx образовался в 3 образцах, причем в образце с аспарагином это единственный углевод, который не привел к образованию MeIQx, учитывая, что он был обнаружен в контрольном образце. А в образце с треонином лактоза привела к снижению количества MeIQx на $\approx 52\%$ относительно контрольного образца. Но при этом внесение лактозы привело к образованию MeIQx в образцах с валином и фенилаланином.

Добавление глюкозы к аминокислотам не привело к образованию MeIQx в образцах с метионином, лейцином и изолейцином. В смеси с треонином, как и лактоза, глюкоза снизила количество MeIQx на $\approx 57\%$. Однако она привела к образованию MeIQx в образцах фенилаланином, лизином, глутаминовой кислотой и триптофаном. Смесь триптофана с глюкозой — единственная из смесей триптофана с углеводами, где наблюдается образование MeIQx.

Добавление фруктозы к аминокислотам не привело к образованию MeIQx только в образце с триптофаном. В образце с треонином фруктоза проявила наибольшие ингибирующие свойства в сравнении с глюкозой и лактозой, снижение количества MeIQx относительно контрольного образца составило 67%. Ингибирующие свойства фруктозы также видны в образце с аспарагином — снижение количества MeIQx относительно контрольного образца $\approx 48\%$. В образце с фенилаланином отмечено наибольшее количество MeIQx среди всех комбинаций фенилаланина с углеводами.

Из выбранных аминокислот триптофан оказался наименее реакционноспособным. MeIQx образовался только в смеси триптофана с глюкозой, причем его количество было ниже, чем в любом другом образце.

Известно, что сахара состоят из остатков глюкозы и фруктозы, но результаты показали, что сахара в реакции образования MeIQx ведет себя иначе, чем глюкоза или фруктоза. Например, в образце с треонином, как уже было отмечено, и глюкоза, и фруктоза снизили количество MeIQx, а в образце с сахарозой установлено большее количество MeIQx относительно контрольного образца. Аналогичная картина наблюдается в образце с аспарагином.

Сравнить полученные результаты представляется возможным только с работой [22], в которой изучали вопрос образования IQ, IQx и MeIQx в модельных системах. Как было описано ранее, в модельной смеси с креатином, треонином и глюкозой от их концентрации установлена прямо пропорциональная зависимость количества образующихся ГАА. В нашей же работе показано, что добавление глюкозы к смеси треонина с креатином, наоборот, приводит к снижению образующегося MeIQx, на основании чего можно сделать вывод, что глюкоза, скорее, является ингибитором в реакции его образования, как и глюкоза и фруктоза. А вот сахара, которая состоит из глюкозы и фруктозы, как ни странно, наоборот, увеличивает количество образующегося MeIQx.

В отличие от MeIQx, PhIP образовался практически в каждом исследованном образце. PhIP не был обнаружен только в смесях лизина с сахарозой, метионина, лейцина и изолейцина с глюкозой, а также аспарагина с лактозой. Наивысшие уровни PhIP были в образцах с фенилаланином. Колоссальные количества указывают на то, что именно эта аминокислота является главным прекурсором в реакции образования PhIP, т. к. его количества в сотни, а то и тысячи раз выше, чем в других образцах (кроме образцов с триптофаном). Это подтверждают и результаты исследования образца «ФА», где был только фенилаланин — в нем, хоть и креатин к аминокислоте не добавлялся, в относительно небольших количествах PhIP был так же обнаружен. В данном случае уже фруктоза является катализатором в реакции образования PhIP, а сахара, глюкоза и лактоза обладают более ингибирующими свойствами.

Большие количества PhIP также обнаружены в образцах с триптофаном. Его количество в каждом из образцов превышает 1500 нг/г. В них, аналогично с образованием MeIQx в образцах с треонином

Таблица 6. Содержание MeIQx в исследованных образцах, нг/г
 Table 6. Content of MeIQx in the studied samples, ng/g

Акс/углевод	контроль	Сахароза	глюкоза	фруктоза	лактоза
Валин	Менее 0,1	16,95 ^a ±0,41	4,82 ^b ±0,14	7,21 ^{a*} ±0,12	8,48 ^r ±0,07
Фенилаланин	Менее 0,1	2,05 ^a ±0,05	1,64 ^b ±0,07	3,05 ^a ±0,04	1,76 ^{b~} ±0,07
Метионин	Менее 0,1	4,00 ^a ±0,11	Менее 0,1	3,26 ^b ±0,14	Менее 0,1
Треонин	94,14 ^{a*} ±0,93	138,39 ^b ±2,51	41,05 ^c ±0,63	31,05 ^c ±1,09	45,28 ^{a*} ±0,64
Лизин	Менее 0,1	13,56 ^{a*} ±0,35	9,31 ^b ±0,14	4,30 ^a ±0,13	Менее 0,1
Лейцин	Менее 0,1	2,60 ^a ±0,32	Менее 0,1	1,80 ^b ±0,07	Менее 0,1
Триптофан	Менее 0,1	Менее 0,1	1,18±0,03	Менее 0,1	Менее 0,1
Глутаминовая кислота	Менее 0,1	1,56 ^a ±0,02	1,26 ^b ±0,04	1,38 ^a ±0,52	Менее 0,1
Аспарагин	6,78 ^a ±0,35	14,15 ^b ±0,94	1,40 ^a ±0,06	3,54 ^r ±0,07	Менее 0,1
Изолейцин	Менее 0,1	—	Менее 0,1	3,01±0,10	—
Образец «ФА»		10,81			

Примечание: результаты представлены в виде «среднее значение трех параллельных измерений ± стандартное отклонение». Стандартное отклонение показывает точность метода.
 Буквы а, б, в, г, д показывают достоверную разницу между полученными результатами в строках.
 Знаки (*, ~, ^) показывают достоверную разницу между полученными результатами в столбцах.

Таблица 7. Содержание PhIP в исследованных образцах, нг/г
 Table 7. Content of PhIP in the studied samples, ng/g

Акс/углевод	контроль	сахароза	глюкоза	фруктоза	лактоза
Валин	9,77 ^a ±0,22	50,21 ^b	47,31 ^a ±0,31	38,58 ^r ±0,49	97,50 ^{a*} ±0,52
Фенилаланин	20136,12 ^{a*} ±613,35	13412,22 ^b ±521,69	7159,79 ^{a*} ±58,51	27837,79 ^{a*} ±291,98	8505,41 ^{a*} ±13,37
Метионин	20,72 ^a ±0,74	27,72 ^b ±0,26	Менее 0,1	2,38 ^a ±0,03	24,78 ^r ±0,31
Треонин	193,62 ^a ±0,88	280,61 ^b ±11,19	162,11 ^{a*} ±1,72	80,99 ^r ±0,18	414,37 ^{a*} ±8,73
Лизин	19,62 ^a ±0,09	Менее 0,1	69,66 ^b ±2,30	36,38 ^a ±0,26	119,22 ^{r@} ±0,94
Лейцин	0,68 ^a ±0,04	8,46 ^b ±0,48	Менее 0,1	5,09 ^a ±0,08	12,06 ^r ±0,25
Триптофан	2593,66 ^{a~} ±85,82	4891,36 ^b ±32,79	1791,19 ^{a*} ±20,09	2160,43 ^c ±51,29	2064,00 ^{a*} ±8,37
Глутаминовая кислота	10,14 ^a ±0,04	5,44 ^b ±0,29	3,16 ^a ±0,31	42,41 ^r ±0,51	1,93 ^a ±0,03
Аспарагин	1,58 ^a ±0,05	10,23 ^b ±0,48	7,94 ^a ±0,39	27,24 ^r ±0,17	Менее 0,1
Изолейцин	10,42 ^a ±0,55	—	Менее 0,1	5,49 ^b ±0,17	—
Образец «ФА»		64,45			

Примечание: результаты представлены в виде «среднее значение трех параллельных измерений ± стандартное отклонение». Стандартное отклонение показывает точность метода.
 Буквы а, б, в, г, д показывают достоверную разницу между полученными результатами в строках.
 Знаки (*, ~, ^, @, &) показывают достоверную разницу между полученными результатами в столбцах.

и аспарагином, наблюдаются катализирующие свойства сахарозы и ингибирующие свойства глюкозы, фруктозы и лактозы в реакции образования PhIP.

Сравнивая полученные результаты с работой [20], в которой к смеси креатина, фенилаланина и глюкозы добавляли аминокислоты и установили, что их внесение снижает количество образующегося PhIP, можно сказать, что глюкоза, как и в случае с MeIQx, обладает более ингибирующими свойствами в реакции образования PhIP. Также можно предположить, почему внесение других аминокислот в работе [20] привело к снижению количества образующегося PhIP. Как показали результаты настоящей работы, PhIP образуется в смеси с каждой выбранной аминокислотой в контрольных образцах и практически во всех смесях этих аминокислот с углеводами. Таким образом, справедливо предположить, что другие аминокислоты, вступая в реакцию с креатином, также образуют другие соединения, возможно, другие ГАА, но в том числе и PhIP, поэтому остается меньше креатина для реакции с фенилаланином, с которым и возможно образование наибольшего количества PhIP.

Добавление к аминокислотам сахарозы привело к увеличению PhIP в 7 образцах из 10. Увеличение составило ≈ 513%, ≈ 133%, ≈ 144%, ≈ 1244%, ≈ 188% и ≈ 647% относительно контрольного образца для валина, метионина, треонина, лейцина, триптофана и аспарагина соответственно. Добавление сахарозы к фенилаланину, лизину и глутаминовой кислоте привело к снижению количества PhIP на ≈ 34%, 100%, ≈ 46% соответственно.

Глюкоза показала себя с большинством аминокислот как ингибитор в реакции образования PhIP. В 7 из 10 образцах его количество снизилось на ≈ 64%, 100%, ≈ 16%, 100%, ≈ 30%, ≈ 68%, 100% в образцах с фенилаланином, метионином, треонином, лейцином, триптофаном, глутаминовой кислотой и изолейцином соответственно. В оставшихся образцах с валином, лизином и аспарагином количество PhIP увеличилось на ≈ 384%, ≈ 255%, ≈ 402% соответственно.

Фруктоза — единственный углевод, который привел к увеличению количества PhIP в образцах с фенилаланином — ≈ 138% относительно контрольного образца. В образцах с валином, лизином, лейцином, глутаминовой кислотой и аспарагином добавление фруктозы также привело к увеличению количества PhIP на ≈ 294%, 85%, ≈ 648%, ≈ 318%, 1624% соответственно. В образцах с метионином, треонином, триптофаном и изолейцином количество PhIP снизилось на ≈ 88%, ≈ 58%, ≈ 16% и 47% соответственно.

Из всех аминокислот добавление лактозы только к аспарагиновой кислоте не привело к образованию PhIP. С другими же аминокислотами лактоза, как и другие углеводы, проявила и ингибирующие, и катализирующие свойства. Добавление лактозы увеличило количество PhIP в образцах с валином, метионином, треонином, лизином и лейцином на ≈ 898%, ≈ 20%, ≈ 213%, ≈ 508%, ≈ 1674% соответственно. В образцах с триптофаном и глутаминовой кислотой количество PhIP снизилось на 20% и 80% соответственно.

Как было отмечено ранее, несмотря на то, что сахароза включает в себя остатки глюкозы и фруктозы, ее свойства в реакции образования MeIQx не такие, как у глюкозы или фруктозы. Так же и в реакции образования PhIP. Так в образцах с метионином, треонином, триптофаном сахароза увеличила количество PhIP, в то время, как и глюкоза, и фруктоза снизили его количество в образцах с теми же аминокислотами.

Подводя итоги, следует сказать, что наиболее эффективный углевод в вопросе снижения ГАА — глюкоза. Несмотря на то, что добавление глюкозы к 5 из исследованных аминокислот приводит к образованию MeIQx, она снижает количество MeIQx в смеси с треонином и аспарагином. Но, что более важно, наблюдается значительное снижение количества PhIP в исследованных образцах с фенилаланином и триптофаном, где были обнаружены наибольшие количества PhIP. В образце с триптофаном количество PhIP снизилось на 802,47 нг/г, а с фенилаланином — на 12976,33 нг/г. И в случае с MeIQx, и в случае

с PhIP (не считая образцов с фенилаланином и триптофаном) наблюдалось снижение уровня ГАА, превышающее суммарное количество ГАА, обнаруженное во всех аминокислотах при их смешивании с льюбином из исследованных углеводов.

4. Выводы

Проведенные исследования модельных матриц показали важную роль углеводов в процессе образования ГАА в мясной продукции — углеводы в реакциях образования MeIQx и PhIP могут быть и ингибиторами, и катализаторами. Особенно сильные ингибирующие свойства продемонстрировала глюкоза. На основании описанного можно сделать вывод о том, что использование источников, богатых глюкозой, при приготовлении мясных изделий, приведет к снижению количества образующихся ГАА. Полученные результаты могут стать очередным шагом к пониманию реакций образования ГАА, что в свою очередь позволит искать более эффективные способы снижения количества образующихся канцерогенов в пищевой продукции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГАА	гетероциклические ароматические амины
IQ	2-амино-3-метил-имидазо[4,5-f]-хинолин
IQx	2-амино-3-метил-имидазо[4,5-f]-хиноксалин
MeIQ	2-амино-3,4-диметил-имидазо[4,5-b]-хинолин
MeIQx	2-амино-3,8-диметилимидазо[4,5-f]-хиноксалин
DiMeIQx	2-амино-3,4,8-триметилимидазо[4,5-f]-хиноксалин
PhIP	2-амино-1-метил-6-фенилимидазо[4,5-b]-пиридин
7,8-DiMeIQx	2-амино-3,7,8-триметилимидазо[4,5-f]-хиноксалин
4,7,8-TriMeIQx	2-амино-3,4,7,8-тетраметил-3H-имидазо[4,5-f]-хиноксалин
АaC	2-амино-3-метил-альфа-карболин
MeAaC	2-амино-альфа-карболин
Harman	1-метил-9H-пиридо[3,4-b]индол
Norhaman	9H-пиридо[3,4-b]индол

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Barzegar, F., Kamankesh, M., Mohammadi, A. (2019). Heterocyclic aromatic amines in cooked food: A review on formation, health risk-toxicology and their analytical techniques. *Food Chemistry*, 280, 240–254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.058>
- Oz, E., Oz, F. (2022). Mutagenic and/or carcinogenic compounds in meat and meat products: Heterocyclic aromatic amines perspective. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(2), 112–117. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-2-112-117>
- Sugimura, T., Sato, S., Nagao, M., Yahagi, T., Matsushima, T., Seino, Y. et al. (1976). Overlapping of carcinogens and mutagens. Chapter in a book: Fundamentals in cancer prevention. Baltimore: University Park Press, 1976.
- Rahman, U., Sahar, A., Khan, M.I., Nadeem, M. (2014). Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review. *LWT — Food Science and Technology*, 59(1), 229–233. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.005>
- Zöchling, S., Murkovic, M. (2002). Formation of the heterocyclic aromatic amine PhIP: Identification of precursors and intermediates. *Food Chemistry*, 79(1), 125–134. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00214-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00214-5)
- Murkovic, M. (2004). Formation of heterocyclic aromatic amines in model systems. *Journal of Chromatography B*, 802(1), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.09.026>
- Gibis, M. (2016). Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: Causes, formation, occurrence, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(2), 269–302. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12186>
- Szterk, A. (2015). Heterocyclic aromatic amines in grilled beef: The influence of free amino acids, nitrogenous bases, nucleosides, protein and glucose on HAAs content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.011>
- Zamora, R., Hidalgo, F.J. (2020). Formation of heterocyclic aromatic amines with the structure of aminoimidazoarenes in food products. *Food Chemistry*, 313, Article 126128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126128>
- Jing, M., Jiang, Q., Zhu, Y., Fan, D., Wang, M., Zhao, Y. (2022). Effect of acrolein, a lipid oxidation product, on the formation of the heterocyclic aromatic amine 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in model systems and roasted tilapia fish patties. *Food Chemistry: X*, 14, Article 100315. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100315>
- Hidalgo, F.J., Alcón, E., Zamora, R. (2013). Cysteine- and serine-thermal degradation products promote the formation of Strecker aldehydes in amino acid reaction mixtures. *Food Research International*, 54(2), 1394–1399. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.006>
- Zamora, R., Lavado-Tena, C.M., Hidalgo, F.J. (2020). Reactive carbonyls and the formation of the heterocyclic aromatic amine 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ). *Food Chemistry*, 324, Article 126898. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126898>
- Hee, P.-T.E., Liang, Z., Zhang, P., Fang, Z. (2024). Formation mechanisms, detection methods and mitigation strategies of acrylamide, polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic amines in food products. *Food Control*, 158, Article 110236. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110236>
- Li, M., Lin, S., Wang, R., Gao, D., Bao, Z., Chen, D. et al. (2022). Inhibitory effect and mechanism of various fruit extracts on the formation of heterocyclic aromatic amines and flavor changes in roast large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Control*, 131, Article 108410. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108410>
- Jinap, S., Hasnol, N.D.S., Sanny, M., Jahurul, M.H.A. (2018). Effect of organic acid ingredients in marinades containing different types of sugar on the formation of heterocyclic amines in grilled chicken. *Food Control*, 84, 478–484. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.025>
- Zhang, L., Wang, H., Xia, X., Xu, M., Kong B., Liu, Q. (2021). Comparative study on the formation of heterocyclic aromatic amines in different sugar smoking time. *Food Control*, 124, Article 107905. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107905>
- Zhang, L., Wang, Q., Wang, Z., Chen, Q., Sun, F., Xu, M. et al. (2022). Influence of different ratios of sucrose and green tea leaves on heterocyclic aromatic amine formation and quality characteristics of smoked chicken drumsticks. *Food Control*, 133(A), Article 108613. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108613>
- Oz, E. (2022). Mutagenic and/or carcinogenic compounds in meat and meat products: Polycyclic aromatic hydrocarbons perspective. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(4), 282–287. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-4-282-287>
- Ishak, A.A., Jinap, S., Sukor, R., Sulaiman, R., Abdulmalek, E., Nor Hasyimah, A.K. (2022). Simultaneous kinetics formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in phenylalanine model system. *Food Chemistry*, 384, Article 132372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132372>
- Linghu, Z., Karim, F., Smith, J.S. (2017). Amino acids inhibitory effects and mechanism on 2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo[4,5-b]Pyridine (PhIP) formation in the maillard reaction model systems. *Journal of Food Science*, 82(12), 3037–3045. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13959>
- Kataoka, H., Miyake, M., Saito, K., Mitani, K. (2012). Formation of heterocyclic amine-amino acid adducts by heating in a model system. *Food Chemistry*, 130(3), 725–729. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.094>
- Dennis, C., Karim, F., Smith, J. S. (2015). Evaluation of maillard reaction variables and their effect on heterocyclic amine formation in chemical model systems. *Journal of Food Science*, 80(2), T472–T478. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12737>
- Kataoka, H., Miyake, M., Nishioka, S., Matsumoto, T., Saito, K., Mitani, K. (2010). Formation of protein adducts of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in cooked foods. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54(7), 1039–1048. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900066>
- Utyanov, D.A., Kulikovskii, A.V., Knyazeva, A.S., Kurzova, A.A., Ivankin, A.N. (2021). Methodical approach for determination of the heterocyclic aromatic amines in meat products using HPLC–MS/MS. *Theory and Practice of Meat Processing*, 6(2), 118–127. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-2-118-127>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Утьянов Дмитрий Александрович – кандидат технических наук, научный сотрудник, лаборатория «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-79-61 E-mail: d.utyanov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7693-3032 * автор для контактов	Dmitry A. Utyanov , Candidate of Technical Sciences, Scientific Worker, Laboratory of Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-61 E-mail: d.utyanov@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7693-3032 * corresponding author
Куликовский Андрей Владимирович — кандидат технических наук, заведующий лабораторией «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316 Москва, ул. Талалихина 26, Тел.: +7-495-676-79-81 E-mail: a.kulikovskii@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9140-5390	Andrey V. Kulikovskii , Candidate of Technical Sciences, Head of Laboratory of Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-60-11 E-mail: a.kulikovskii@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9140-5390
Хвостов Даниил Владиславович — кандидат технических наук, научный сотрудник, лаборатория «Молекулярной биологии и биоинформатики», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-79-81 E-mail: d.hvostov@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-3445-4559	Daniil V. Khvostov , Candidate of Technical Sciences, Scientific Worker, Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-81 E-mail: d.hvostov@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-3445-4559
Курзова Анастасия Александровна — младший научный сотрудник, лаборатория «Научно-методические работы, биологические и аналитические исследования», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-79-61 E-mail: a.kurzova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5679-3984	Anastasiya A. Kurzova , Junior Researcher, Laboratory of Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-61 E-mail: a.kurzova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5679-3984
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-213-219>



Received 13.02.2024

Accepted in revised 27.04.2024

Accepted for publication 03.05.2024

© Abd El-Maksoud A.A., Radwan M.A., Rahmy H. A.F., Elshaghabe F. M.F., Hamed A. M., 2024

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

Original scientific article

Open access

AGRO-INDUSTRIAL BY-PRODUCTS AS A FEEDING STRATEGY FOR PRODUCING FUNCTIONAL MILK

Ahmed A. Abd El-Maksoud^{1*}, Mohamed A. Radwan², Hassan A. F. Rahmy²,
Fouad M. F. Elshaghabe¹, Ahmed M. Hamed¹

¹ Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

² Animal Production Research Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

KEY WORDS:

functional milk,
sustainability,
polyphenols, feeding
strategies, total mixed
rations

ABSTRACT

Agro-industrial by-products contain valuable components such as polyphenols that can play a significant role in producing milk with specific properties through rumen fermentation. In Egypt, the buffalo milk chain has a potential market, which is larger than that for cow milk, especially in small villages. Therefore, this study aims to explore different feed ingredients from agro-waste for enhancing the functional properties of raw buffalo milk including polyphenols, flavonoids, vitamins A, C, α -tocopherol, and conjugated linoleic acid (CLA) contents. For this purpose, thirty dairy water buffalo (*Bubalus bubalis*) with a weight of about 520 kg were randomly divided into five groups of six animals each. The first group was fed a basal diet (silage) without agro-waste, while the other four groups were fed the basal diet after replacing 25% of the diet with different agro-wastes including barley (snack/bakery waste), sweet potato/carrot, biscuit/cake waste and tomato pomace. The feeding experimental period lasted 90 days, then milk samples (n=150) were collected. Our results show that adding sweet potato/carrot or tomato pomace to the basal diet enhanced the contents of vitamins A, C, and phenolic compounds reflecting on the enhancement of the antioxidant capacity of raw buffalo milk. Concerning the CLA content, the milk samples collected from buffalo fed the basal diet fortified with tomato pomace and biscuit/cake waste had the highest CLA and α -tocopherol content. Therefore, this study recommends using the tested agro-waste ingredients for producing functional buffalo milk, especially for small-medium milk producers.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors are extremely grateful to Food Safety and Quality Control Lab, Research Park (CURP), Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt for the technical support.

ETHICS STATEMENT: All animal procedures were approved by Cairo University- Faculty of Agriculture and performed according to the Guide of animal care and use.

Поступила 13.02.2024

Поступила после рецензирования 27.04.2024

Принята в печать 03.05.2024

© Абд Эль-Максуд А.А., Радван М.А., Рахми Х. А.Ф., Эльшагаби Ф. М.Ф., Хамед А. М., 2024

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

Научная статья

Open access

АГРОПРОМЫШЛЕННЫЕ ОТХОДЫ КАК СТРАТЕГИЯ КОРМЛЕНИЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО МОЛОКА

Абд Эль-Максуд А. А.^{1*}, Радван М. А.², Рахми Х. А.Ф.², Эльшагаби Ф. М.Ф.¹, Хамед А. М.¹

¹ Кафедра науки о молоке, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

² Кафедра животноводства, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

функциональное
молоко, экологическая
устойчивость,
полифенолы,
стратегии
кормления, общие
смешанные рационы

Агропромышленные отходы содержат ценные компоненты, такие как полифенолы, которые могут играть существенную роль в выработке молока со специфическими свойствами в результате рубцовой ферментации. В Египте цепь буйволиного молока имеет более крупный потенциальный рынок, чем коровьего молока, особенно в небольших деревнях. Таким образом, данное исследование нацелено на изучение различных кормовых ингредиентов от сельскохозяйственных отходов для повышения функциональных свойств сырого буйволиного молока, включая содержание полифенолов, флавоноидов, витаминов А, С, α -токоферола, и конъюгированной линолевой кислоты (CLA). С этой целью 30 молочных буйволов (*Bubalus bubalis*) весом приблизительно 520 кг были разделены на пять групп по шесть животных. Первая группа получала основной рацион (силос) без сельскохозяйственных отходов, в то время как остальные четыре группы получали основной рацион с заменой 25% рациона различными сельскохозяйственными отходами, включая ячмень (отходы снеков/хлебобулочных изделий), сладкий картофель/морковь, отходы печенья/пирожных и томатные выжимки. Экспериментальный период кормления длился 90 дней, а затем отбирали образцы молока (n=150). Наши результаты показали, что добавление картофеля/моркови или томатных выжимок к основному рациону увеличивало содержание витаминов А, С и фенольных соединений, отражая усиление антиоксидантной способности сырого буйволиного молока. Что касается содержания CLA, то образцы молока, отобранные от буйволов, получавших основной рацион, фортифицированный томатными выжимками и отходами печенья/пирожных имели наиболее высокое содержание CLA и α -токоферолов. Таким образом, данное исследование рекомендует использование тестированных ингредиентов сельскохозяйственных отходов для производства функционального буйволиного молока, особенно для мелких и средних производителей молока.

БЛАГОДАРНОСТЬ: Авторы выражают глубокую благодарность научно-исследовательскому парку Каирского университета (CURP), Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Египет за техническую поддержку

ЗАЯВЛЕНИЕ ОБ ЭТИКЕ: Все процедуры с животными были одобрены Сельскохозяйственным факультетом Каирского университета, и осуществлялись в соответствии с руководством по уходу и использованию животных.

FOR CITATION: Abd El-Maksoud, A. A., Radwan, M. A., Rahmy, H. A. F., Elshaghabe, F. M. F., Hamed, A. M. (2024). Agro-industrial by-products as a feeding strategy for producing functional milk. *Food Systems*, 7(2), 213–219. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-213-219>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Абд Эль-Максуд, А. А., Радван, М. А., Рахми, Х. А. Ф., Эльшагаби, Ф. М. Ф., Хамед, А. М. (2024). Агропромышленные отходы как стратегия кормления для производства функционального молока. *Пищевые системы*, 7(2), 213–219. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-213-219>

1. Introduction

The increasing global population and the demand for nutritious food have led to a substantial increase in food waste (FW) generation. This waste from food manufacturing contributes to environmental pollution, sparking numerous efforts to investigate opportunities for transforming it into valuable resources [1]. One of the applications of food waste is its use as valuable and sustainable animal feed, especially, for livestock. This practice not only repurposes waste that would otherwise be considered valueless but also makes a significant contribution to environmental protection by reducing pollution and cutting production costs [1,2]. Therefore, breeders have turned to using food waste and agro-industrial by-products as alternatives to cereal-based concentrates, which tend to be less cost-intensive [3]. Moreover, the utilization of FW as animal feed offers a solution that not only addresses challenges related to FW management and food security but also reduces the demand for traditional feed development. On the other hand, these FW (natural by-products) with antimicrobial and antioxidant properties are recognized as potential sources of phenolic bioactive compounds, contributing to valuable health benefits [4]. Numerous studies have investigated the potential utilization of diverse manufacturing by-products. The increasing availability of different types of agro-industrial by-products has long raised interest in animal nutrition [5]. Agro-industrial wastes such as citrus peels are rich in polyphenols that can be used as feed ingredients [6] and they also can enhance the shelf-life of different types of dairy foods such as fermented milk [7].

Furthermore, microbial fermentation of agro-industrial wastes by rumen microbiota either in vitro or in vivo is a useful strategy for enhancing the production performance of ruminants [8]. Kaltenegger et al. [9] showed that bakery by-products used in the replacement of grains enhanced milk performance, modulated blood metabolic profile, and lowered the risk of rumen acidosis in dairy cows. The industrial tomato pomace (TP) as a by-product of the tomato industry contains 16% crude protein, 57% neutral detergent fiber, 44% acid detergent fiber, 8% ether extract (EE), and 24% lignin [10], and it showed a good acceptability by animals. Therefore, it has been used as a feed ingredient for small ruminants [11] and it can enhance lactation of goats [12]. Furthermore, addition of yeast as a feed ingredient in either active or heat-treated form can enhance rumen bacterial population and milk fermentation by starter cultures [13,14].

Recently, animal feed combining herbage and total mixed rations (TMR) is increasingly used in temperate regions for feeding ruminants, but little information is available regarding the effects on nutrient intake and digestion of this feeding management in beef cattle [15]. The objective of this study is to examine how incorporating various agricultural by-products (such as corn snack waste, sweet potato/carrot, biscuit/cake waste, or tomato pomace) into animal feed affects the improvement of the antioxidant activity, as well as the levels of vitamins (A and C), conjugated linoleic acid, and polyphenol contents in buffalo milk.

2. Material and Methods

2.1. Animals and feeding protocol

Animals were kept and handled at the farm of the Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza Governorate during winter of 2023. Thirty dairy water buffalo (*Bubalus bubalis*) with a weight of about 520 kg were randomly divided into five groups of six animals each. The first group was fed a basal diet (silage) without agro-waste while the other four groups were fed the basal diet after replacing 25% of the diet with different agro-wastes including barley (snack/bakery waste), sweet potato / carrot, biscuit/cake waste and tomato pomace. The feeding experimental period lasted 90 days in the mid-lactation period. Animals were housed individually in soil-surfaced tie stalls (4.5 m²/animal), under shade, without any bedding and with free access to water and diets.

2.2. Chemical characteristics of animal feed

The by-products and silage samples were analyzed in terms of moisture, crude protein, ash, and crude fiber. Dry matter (DM) was determined by drying samples at 105 °C for 3 hrs (Bio Gene Laboratory Air Oven, China), ash content was determined by ashing in a muffle furnace (Nabertherm GmbH, Lilienthal, Germany) at 550 °C for 8 hrs. The nitrogen (N) content was estimated using the Kjeldahl method [16]. Neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) determinations were based on the method of Van Soest et al. [16] using an ANKOM fiber analyzer. Feed was analyzed for the proximate composition according to [17] and nitrogen free extract was calculated by the equation: NFE = 100 – (% Moisture + % Ash + % Crude protein + % EE + % Crude fiber).

2.3. Chemical composition of milk samples

Milk samples were analyzed for moisture, lactose, fat, protein and ash as previously described by Olagunju et al. [18].

2.4. Determination of the total phenolic content

The Folin Ciocalteu reagent was used for the analysis of the total phenolic content [19] and the total flavonoid content was measured by a colorimetric assay according to Zhishen et al. [20].

2.5. Determination of vitamins A, C and alpha-tocopherol

Vitamins A and C were assessed in milk samples using a spectrophotometric method as described by [21,22]. For measuring vitamins A and C, the method was based on reduction of 2,6-dichloroindophenol by ascorbic acid (AA) in acidic solution whereas 2,6-dichloroindophenol had an absorption maximum at 518 nm and, when reduced by AA, this chromophore disappears. The UV/Vis spectrophotometer (Jenway, 6305) was adjusted at 620 nm for measuring vitamin A. In the case of alpha-tocopherol, milk lipids were extracted through a process involving centrifugation followed by alcohol-hexane extraction. The concentration of tocopherol was then calculated using the equation provided by Erickson and Dunkley [22].

2.6. Determination of conjugated linoleic acid (CLA)

CLA was determined according to Abd El-Salam et al. [23]. Briefly, fat was extracted with ethanol from different milk samples and the absorbance of the extract was measured at 233 nm. The CLA concentration was determined from a standard curve of CLA prepared by plotting the absorption at 233 nm of the standard pure CLA solutions (0.1–1 mg CLA mL⁻¹) in ethanol.

2.7. Identification and quantification of phenolic compounds fractions by high performance liquid chromatography (HPLC)

All milk samples were subjected to extraction by mixing with 10 ml of 80% methanol for 2 min, then centrifuged at 25,000xg for 10 min. The supernatant was decanted into a round-bottom flask. The pellet was resuspended in 80% methanol (2x5ml) and centrifuged at 25,000xg for 10 min. The supernatants were combined, filtered through a 0.20 µm Milipore membrane filter and then brought up to a known volume (25 ml). Three milliliters were collected in a vial for subsequent HPLC analysis as previously described by Tafesh et al. [24]. Phenolic acid compounds were quantified using an Agilent-1260 series HPLC system (USA) and the phenolic acids were expressed as mg/kg sample on dry weight basis.

2.8. Analysis of fatty acid composition by gas chromatography (GC)

Firstly, fat from different milk samples was mixed with methanolic hydrogen chloride (15 mL HCl and 85 mL methanol) in a screw capped test tube and heated at 100 °C for 60 min until fat was fully dissolved. After that, the test tube was cooled down to room temperature. Then, 2 mL of distilled water and 2 mL of n-hexane were added to the tubes followed by vortexing (Vortex Mixer VX-200) at 1,500 rpm for 2 min. After vortexing, the tube was placed down for 5 min, or until two layers were separated. Then, the supernatant was poured into a tube containing 1 g of anhydrous sodium sulphate, which was transferred to GC vials and injected into the GC-MS (Agilent Technologies 5977A, USA) using a SP-2560 capillary column (75 m x 0.1 mm, DF 0.14 µm). GC-MS analysis was carried out according to Wang et al. [25].

2.9. Antioxidant activity

The antioxidant activity was measured by estimating the free radical scavenging activity using the 2,2'-diphenyl 1,1-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging assay according to El-Maksoud et al. [26].

2.10. Ethics statement

These animals received humane care in compliance with the guidelines of the Institutional Animal Care and Use Committee of Cairo University (No CU II 6223; Nov 2023).

2.11. Statistical Analyses

Results were statistically analyzed with the SAS statistical package (version 9.4, SAS Institute, Cary, NC). Data were expressed as a mean of three replicates ± standard deviation (SD). Duncan test and one-way analysis of variance were used.

3. Results and discussion

3.1. Chemical composition and nutritional value of animal feed

In this study, data on production gathered from five farms revealed significant differences in feed consumption both among and within the five feed systems. The results of the analysis of the chemical composition (moisture, ash, crude fiber, crude protein, EE, and NFE) of different studied agro-industrial and food waste are presented in Table 1. It was found that high variability between the chemical composition of feed samples could explain the variability of the milk composition. Regarding the moisture content, the obtained results showed that the feed samples had the moisture content ranging from 6.14% to 12.34%. As regards the ash content, it was noticed that the snack/bakery waste samples had the highest value

(19.25%), while the silage sample had the lowest value (6.4%). Sweet potato/carrot samples had the highest value of crude fiber (26.42%), and the tomato pomace had the lowest value (7.19%). In relation to the fat content, the tomato pomace had the highest value (6.4%), while snack/bakery feed samples had the lowest value (1.87%). In regard to crude protein, the results showed that the silage feed samples had the highest values (12.01%) and the tomato pomace feed samples had the lowest concentration (7.64%). As for the NFE, the snack/bakery feed samples had the highest value (53.34%), while the sweet potato/carrot samples had the lowest value (39.1%). According to Soltan [27], the tomato by-product contained 91.72% dry matter, 20.13% crude protein, 7.92% EE, 29.33% crude fiber, 11.11% ash and 31.51% NFE. Alicata et al. [28] found that tomato waste contained 22.0% crude protein, 32.8% crude fiber and 19.5% EE. Khadr and Abdel-Fattah [29] demonstrated that the chemical composition of the tomato by-product was 94.6% dry matter, 20.93% crude protein, 10.22% EE, 37.74% crude fiber, and 14.37% ash. In [30], the proximate composition of tomato pulp was as follows: 89.8% DM, 19.9% crude protein, 16.1% EE, 13.6% NFE, and 4.88% ash. Soltan [27] found that the potato by-product meal (PBM) had 94.12% dry matter. Based on DM, PBM contained 8.02% crude protein, 3.6% EE, 18.13% crude fiber, 6.17% ash and 64.08% NFE. Karpukhin and Keita et al. [31] wrote that the chemical composition of the potato by-product contained about 25% dry matter, including 10 to 23% starch, 1.4–3.0% high-quality proteins. This indicates that our results are in accordance with previous studies as described above.

3.2. Chemical composition of milk samples

The feeding system markedly affected the chemical composition of milk. The moisture, lactose, fat, protein, and ash content of milk is presented in Table 2. Regarding the moisture content, it ranged between 85.1% in milk from the sweet potato/carrot group and 86.67% in milk from the tomato pomace group. The lactose content of the milk samples ranged from 4.13% for milk from the silage group to 5.42% for milk from the corn snack waste group. The milk samples from the biscuit/cake waste group had the highest fat content (8.03%), while the milk samples from the tomato pomace group had the lowest (6.49%). The protein content of the milk samples ranged from 3.18% to 3.90% for the tomato pomace group and biscuit/cake waste group, respectively. The ash content of the milk samples ranged from 0.70% to 0.92% for the sweet potato/carrot group and biscuit/cake waste group, respectively. Milk from the biscuit/cake waste feeding system was significantly higher in fat, protein, and

ash, which makes biscuit/cake waste a potentially high-energy and nutrient-dense feed ingredient. On the other hand, milk of the tomato pomace system had the lowest levels of fat and protein.

However, it is important to note that the nutrient requirements of animals vary depending on species, age, and other factors. Thus, the best feed ingredient for one animal may not be the same as for another. Noted changes in the milk composition may be associated with both the lactation stage and the feeding system employed [32]. The intricacy of diverse farming systems is evident in the reports of differing and occasionally conflicting outcomes, attributed to the multitude of factors in production and feeding, along with their interactions that can impact both milk yield and composition [33].

3.3. Functional properties of milk samples

Functional foods have been defined as foods that provide an additional physiological benefit that may prevent disease or promote health and well-being. The total phenolic content, flavonoid content, CLA, vitamin C, vitamin A, and α -tocopherol in the milk samples are presented in Table 3. The total phenolic content (TPC) ranged between 2.37 and 8.93 mg/ml for the control and tomato pomace feeding system. Tomato pomaces are a great source of phenolic compounds, as well as non-phenolic compounds (benzyl alcohol, saturated and unsaturated fatty acids, carotenoids, and others), which have excellent redox properties [34]. The flavonoid content ranged between 5.92 and 28.18 μ g/L in the milk samples from the control and biscuit/cake waste feed systems. The CLA content was in a range between 3.22 and 6.22 mg/g fat in milk from the snack/bakery waste group and tomato pomace group, respectively. Milk from the sweet potato/carrot group was significantly higher in vitamin C and vitamin A (1.08 and 181 μ g/100g, respectively) compared to other milk samples. In recent times, the demand for and attention to orange-fleshed sweet potato are increasing due to the high concentrations of β -carotene and non-provitamin A carotenoids [35]. However, it was noticed that the content of α -tocopherol (1.38 mg/kg) in the milk samples from the biscuit/cake waste group was significantly higher than that in the other milk samples.

The experimental values (means and SD for $n=150$) with different superscript letters in the same column indicate significant difference ($P \leq 0.05$).

3.4. Phenolic fractions of milk samples

In the HPLC analysis of phenolic acids in the milk samples (Figure 1), it is crucial to underscore the significance of cattle feed in shaping the

Table 1. Mean chemical composition of the TMR samples based on agro-waste collected from five farms in Giza and Beheira governorate

Таблица 1. Средний химический состав образцов общих смешанных рационов (TMR) на основе сельскохозяйственных отходов, собранных на пяти фермах в провинциях Гиза и Бухейра

Feed samples TMR	Moisture %	Ash %	Crude fiber	Ether extract	Crude protein	NFE
Control	10.93 $\pm$ 0.35 ^b	6.40 $\pm$ 0.17 ^d	20.15 $\pm$ 0.24 ^b	4.18 $\pm$ 0.02 ^b	12.01 $\pm$ 0.41 ^a	46.33 $\pm$ 0.29 ^d
Snack/bakery waste	8.15 $\pm$ 0.16 ^c	19.25 $\pm$ 0.30 ^a	9.49 $\pm$ 0.27 ^d	1.87 $\pm$ 0.01 ^c	7.90 $\pm$ 0.10 ^d	53.34 $\pm$ 0.18 ^b
SP/C	11.17 $\pm$ 0.24 ^b	12.00 $\pm$ 0.11 ^b	26.42 $\pm$ 0.46 ^a	2.74 $\pm$ 0.01 ^b	8.57 $\pm$ 0.26 ^c	39.10 $\pm$ 0.44 ^e
Biscuit/cake waste	6.14 $\pm$ 1.28 ^d	9.28 $\pm$ 0.06 ^c	17.95 $\pm$ 0.41 ^c	6.23 $\pm$ 0.05 ^a	9.53 $\pm$ 0.14 ^b	50.87 $\pm$ 1.25 ^c
Tomato pomace	12.34 $\pm$ 0.16 ^a	6.96 $\pm$ 0.34 ^d	7.19 $\pm$ 0.50 ^e	6.47 $\pm$ 0.11 ^a	7.64 $\pm$ 0.66 ^d	59.4 $\pm$ 1.03 ^a

TMR: Total mixed ration; NFE: nitrogen-free extract; SP/C: sweet potato/carrot.

The experimental values (means and SD for $n=150$) with small letters are significantly different ($P \leq 0.05$).

Table 2. Mean chemical composition of the milk samples ($n=150$) collected from five feed systems in Giza and Beheira governorate

Таблица 2. Средний химический состав образцов молока ($n=150$), полученных от пяти систем кормления в провинциях Гиза и Бухейра

Feed samples	Moisture	Carb	Fat	Protein	Ash
Control	85.66 $\pm$ 0.45 ^b	4.13 $\pm$ 0.24 ^c	6.53 $\pm$ 0.02 ^d	3.32 $\pm$ 0.21 ^c	0.72 $\pm$ 0.06 ^c
Snack/bakery waste	85.28 $\pm$ 0.50 ^b	5.42 $\pm$ 0.36 ^a	6.87 $\pm$ 0.21 ^c	3.20 $\pm$ 0.10 ^c	0.78 $\pm$ 0.04 ^{bc}
SP/C	85.17 $\pm$ 0.16 ^b	4.55 $\pm$ 0.27 ^{bc}	7.74 $\pm$ 0.13 ^b	3.57 $\pm$ 0.26 ^b	0.70 $\pm$ 0.05 ^c
Biscuit/cake waste	85.91 $\pm$ 0.81 ^{ab}	4.91 $\pm$ 0.41 ^{ab}	8.03 $\pm$ 0.15 ^a	3.90 $\pm$ 0.11 ^a	0.92 $\pm$ 0.03 ^a
Tomato pomace	86.67 $\pm$ 0.24 ^a	5.25 $\pm$ 0.23 ^a	6.49 $\pm$ 0.16 ^d	3.18 $\pm$ 0.15 ^c	0.81 $\pm$ 0.04 ^b

SP/C: sweet potato/carrot.

The experimental values (means and SD for $n=150$) with different superscript letters in the same column indicate significant difference ($P \leq 0.05$).

Table 3. Mean chemical composition of milk samples ($n=150$) collected from five farms in Giza and Beheira governorates

Таблица 3. Средний химический состав образцов молока ($n=150$), полученных на пяти фермах в провинциях Гиза и Бухейра

Feed samples	TPC Rutin Equivalent mg/ml	Flavonoids μ g/L	CLA mg/g fat	Vitamin C μ g/100 g	Vitamin A mg/100 g	α -Tocopherol mg/kg
Control*	2.37 $\pm$ 0.01 ^d	5.92 $\pm$ 0.08 ^e	3.49 $\pm$ 0.16 ^d	0.52 $\pm$ 0.03 ^c	142.5 $\pm$ 3.25 ^c	0.22 $\pm$ 0.00 ^d
Snack/bakery waste	4.15 $\pm$ 0.16 ^c	9.23 $\pm$ 0.06 ^c	3.22 $\pm$ 0.04 ^d	0.55 $\pm$ 0.07 ^c	155.1 $\pm$ 2.05 ^b	0.14 $\pm$ 0.01 ^e
SP/C	8.17 $\pm$ 0.24 ^a	12.05 $\pm$ 0.11 ^b	4.64 $\pm$ 0.15 ^c	1.08 $\pm$ 0.08 ^a	181.3 $\pm$ 2.61 ^a	0.81 $\pm$ 0.02 ^c
Biscuit/cake waste	6.04 $\pm$ 1.28 ^b	28.18 $\pm$ 0.32 ^a	5.43 $\pm$ 0.24 ^b	0.62 $\pm$ 0.06 ^b	136.2 $\pm$ 1.10 ^d	1.38 $\pm$ 0.01 ^a
Tomato pomace	8.93 $\pm$ 0.35 ^a	8.64 $\pm$ 0.05 ^d	6.22 $\pm$ 0.09 ^a	0.79 $\pm$ 0.10 ^b	157.9 $\pm$ 2.42 ^b	0.92 $\pm$ 0.06 ^b

* Feed sample collected from the basal diet; SP/C: sweet potato/carrot.

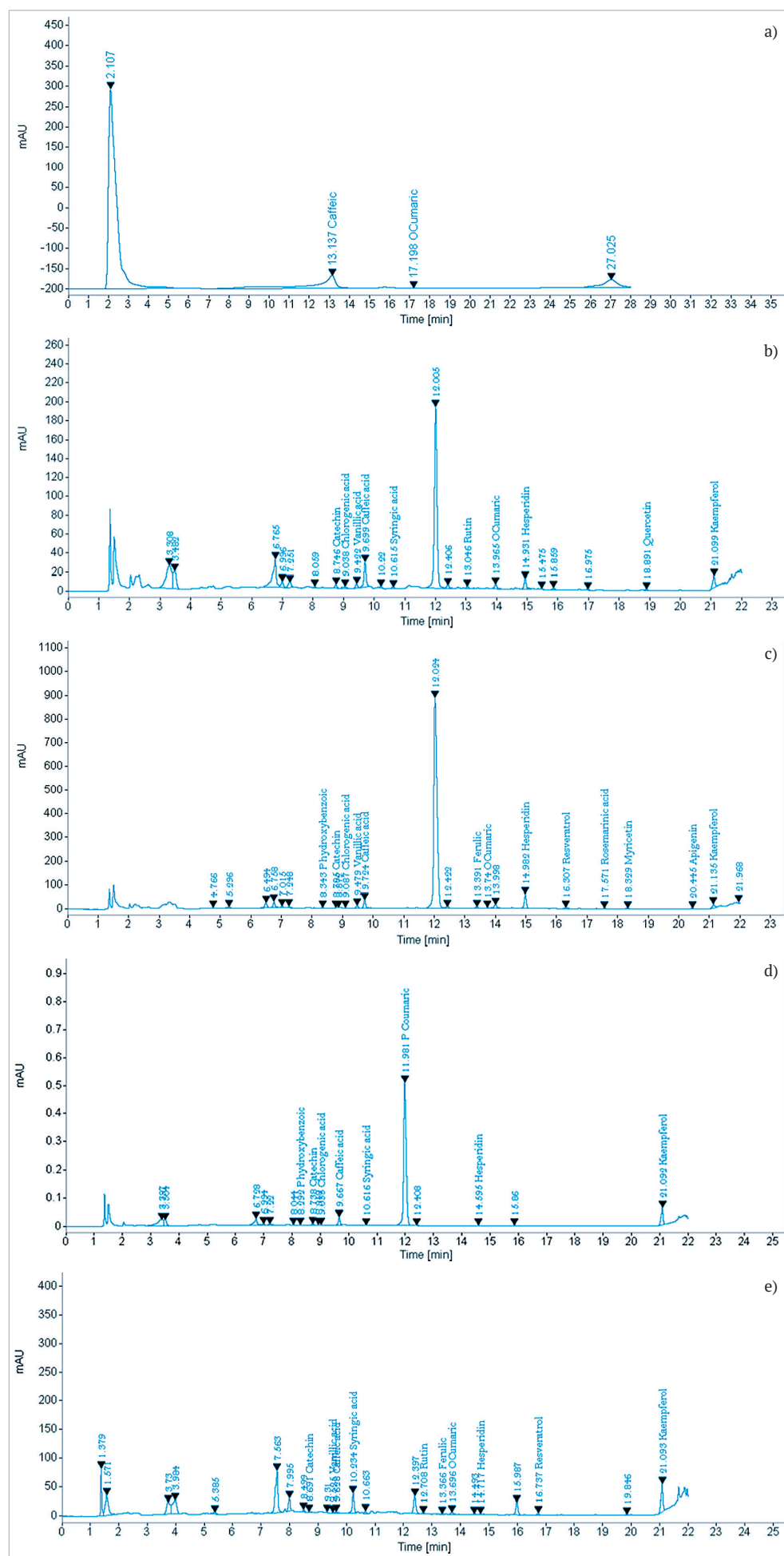


Figure 1. HPLC chromatogram of phenolic fractions for different milk samples: Control (a) SP/C (b); Snack/bakery waste (c); Biscuit/cake waste (d); Tomato pomace (e).
SP/C: sweet potato/carrot
Рисунок 1. ВЭЖХ хроматограмма фенольных фракций для различных образцов молока: контроль (а) сладкий картофель/морковь (б); отходы снеков/хлебобулочных изделий (с); отходы печенья/пирожных (д); томатные выжимки (е)

composition of milk. Table 4 presents the phenolic fractions identified in the milk samples collected from various feed groups, highlighting the impact of different feeding regimes on the phenolic profile. Each waste source demonstrated a unique composition of compounds, showcasing variability in their quantities and types when compared with the control. Milk collected from the control group (normal feed) exhibited the absence of all phenolic acids except for caffeic and o-coumaric acids. Conversely, various phenolic fractions were identified in milk from all groups fed with food industrial waste. Some compounds were present in the specific milk samples based on the waste sources. Notably, the biscuit /cake waste feeding group demonstrated the highest content of catechin and kaempferol (5.44 and 19.95 mg/kg), while p-coumaric acid (119.70 mg/kg) was detected only in milk from this group. Similarly, rutin was present only in the sweet potato/carrot and tomato pomace groups, while hesperidin was dominant in the snack/bakery waste group. Additionally, there were moderate concentrations of vanillic acid (3.74 mg/kg) and resveratrol (4.288 mg/kg). P-Hydroxybenzoic acid (1.33 mg/kg) and catechin (1.64 mg/kg) were also observed, albeit in relatively lower amounts. Regarding the milk samples derived from the tomato pomace group, a notable feature was the high content of syringic acid (7.79 mg/kg), which stands out with a substantial quantity. Additionally, there was a presence of a smaller amount of resveratrol (2.51 mg/kg). These results align with the total phenolic content observed in the milk samples (Table 3), which was influenced by the incorporation of waste products in animal feeding.

Table 4. Phenolic fractions (mg/ kg) of milk samples of different feed systems

Таблица 4. Фенольные фракции (мг/кг) образцов молока различных систем кормления

Phenolic fractions	Control	Snack/ bakery waste	Sweet potato/ carrot	Biscuit/ cake waste	Tomato pomace
P-Hydroxybenzoic acid	—	1.334	—	1.199	—
Catechin	—	1.640	3.475	5.439	1.93
Chlorogenic acid	—	1.183	3.048	1.755	—
Vanillic acid	—	3.741	1.604	—	0.656
Caffeic acid	7.10	8.617	7.499	7.16	0.745
Syringic acid	—	—	0.459	0.314	7.79
P-Coumaric acid	—	—	—	119.698	—
Rutin	—	—	0.681	—	0.598
Ferulic acid	—	5.056	—	—	0.89
O-Coumaric acid	0.08	0.458	0.808	—	0.637
Hesperidin	—	24.588	5.079	0.726	1.116
Quercitin	—	—	2.919	—	—
Resveratrol	—	4.288	—	—	2.504
Rosemarinic acid	—	2.181	—	—	—
Myrcitin	—	0.718	—	—	—
Apigenin	—	0.119	—	—	—
Kaempferol	—	6.38	4.233	19.95	15.71

3.5. Fatty acid content of milk samples

The ability to modify milk fat is largely dependent on the efficiency with which fatty acids are transferred from a diet to milk. Table 5 shows the composition of fatty acids in different milk samples collected from different feed programs based on agro-waste additives. Each row represents a specific type of fatty acid, while each column corresponds to different milk samples (control, snack/bakery waste, sweet potato/carrot, biscuit/cake waste, and tomato pomace). For instance, observe how butyric acid (C4) or palmitic acid (C16) differed among the samples. The butyric acid content ranged from 2.06 to 2.86 across different milk samples. Despite minor variations, the butyric acid levels remained relatively consistent among the samples, suggesting a stable presence regardless of the different feed program. However, notable differences existed in the caproic acid levels. Explore how these variations in feed might relate to the specific additives used in animal feeding. The caprylic acid content ranged from 0.36 to 0.55 across different milk samples. Some fatty acids showed relatively consistent levels across the samples (e. g., butyric, caprylic and capric acids), while others exhibited more significant variations (e. g., myristic, palmitic and stearic acids).

On the other hand, both oleic and linoleic acids showed considerable variability among the samples, indicating potential influences from the additives. These variations in unsaturated fatty acids (USFA) (oleic and linoleic

acids) highlight potential changes in the nutritional content and quality across different milk samples based on the type of agro-waste. As shown in Table 5, using the agro-waste in the feed for animals improved the quality and nutritional value of secreted milk, especially in the case of tomato pomace (USFA content: 27.19 and 5.34% of oleic and linoleic acids, respectively).

Table 5. Fatty acid profile (mol%) of milk fat of different milk samples

Таблица 5. Жирнокислотный профиль (моль%) молочного жира различных образцов молока

Fatty acids	Control	Snack/ bakery waste	Sweet potato/ carrot	Biscuit/ cake waste	Tomato pomace
Butyric (C4)	2.33	2.06	2.14	2.86	2.71
Caproic (C6)	1.48	1.44	1.06	1.30	0.86
Caprylic (C8)	0.45	0.41	0.36	0.55	0.39
Capric (C10)	0.91	1.09	1.20	0.69	0.94
Lauric (C12)	1.88	1.81	2.13	1.94	1.75
Myristic (C14)	9.13	11.08	13.35	12.61	9.04
Palmitic (C16)	32.38	38.97	30.42	30.52	29.67
Stearic (C18)	16.01	17.08	13.53	20.34	15.72
Oleic (C18:1; cis-9)	21.5	19.62	27.34	24.05	27.19
Linoleic (C18:2; cis-9, trans-12)	2.17	3.81	1.55	3.29	5.34

3.6. Antioxidant properties of milk samples

Data in Figure 2 show that fortification of silage with sweet potato/ carrot and tomato pomace at 25% resulted in a significant enhancement in levels of the antioxidant activity as measured by DPPH and ABTS free radical scavenging. Our results are in accordance with the results obtained by [36,37] whereas feeding cattle or Egyptian buffalo with sweet potato/ carrot and tomato pomace enhanced health and production aspects. Therefore, both ingredients can be used as a natural source of antioxidants for improving the antioxidant capacity of buffalo milk through increasing the phenolic content (Table 4). For instance, it is well-established that caffeic acid and kaempferol possess antioxidant properties, potentially reducing oxidative stress and offering neuroprotective effects [38,39]. Moreover, studies by Rudrapal et al. [40] indicate that p-coumaric acid exhibits potential anticancer effects.

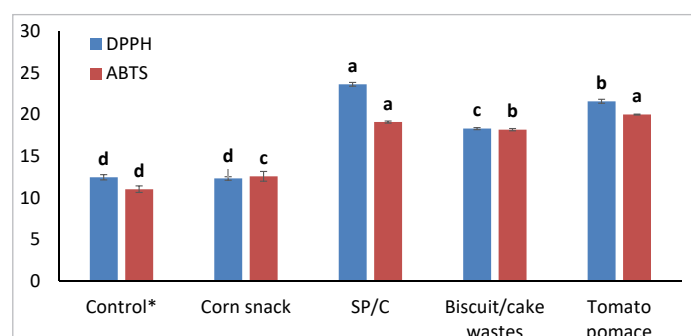


Figure 2. DPPH and ABTS radical scavenging assay of the milk samples obtained from different feed systems.

SP/C: Sweet potato/Carrot. Measurements with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Рисунок 2. Анализ образцов молока, полученных в различных системах кормления, используя метод захвата радикалов DPPH и ABTS SP/C: сладкий картофель/морковь. Результаты измерений с разными буквами достоверно отличаются ($p < 0,05$).

4. Conclusion

Egyptian buffalo milk needs improvement, especially when we know that raw buffalo milk is more preferable than cow milk for consumers. In order to develop this chain, our study focuses on using agro-waste ingredients for feeding strategies of water buffalo. We conclude that sweet potato/carrot or tomato pomace can be used as an ingredient for feeding buffalo along the dairy chain for enhancing the functional properties of raw buffalo milk, producing milk rich in phenolic compounds and with the antioxidant activity that serves different sustainable development goals (SDG 3 and 12). It is believed that dietary polyphenols/flavonoids exert the powerful antioxidant action for protection against reactive oxygen species (ROS)/cellular oxidative stress (OS) towards the prevention of OS-related pathological conditions or diseases.

REFERENCES

- Shirahigue, L. D., Ceccato-Antonini, S. R. (2020). Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. *Ciência Rural*, 50(4), Article e20190857. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190857>
- Mirabella, N., Castellani, V., Sala, S. (2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>
- Romero-Huelva M., Ramos-Morales E., Molina-Alcaide E. (2012). Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial abundances, and milk yield and composition in dairy goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 6015–6026. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5573>
- Brennan, A., Browne, S. (2021). Food waste and nutrition quality in the context of public health: A scoping review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), Article 5379. <https://doi.org/10.3390/ijerph18105379>
- Eastridge, M. L. (2006). Major advances in applied dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1311–1323. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72199-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72199-3)
- Bampidis, V.A., Robinson, P.H. (2006). Citrus byproducts as ruminant feeds. A review. *Animal Feed Science and Technology*, 128(3), 175–217. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2005.12.002>
- Fathy, H.M., Abd El-Maksoud, A.A., Cheng, W., Elshaghabe, F.M.F. (2022). Value-Added Utilization of citrus peels in improving functional properties and probiotic viability of *Acidophilus-bifidus-thermophilus* (abt)-type synbiotic yoghurt during cold storage. *Foods*, 11(17), Article 2677. <https://doi.org/10.3390/foods11172677>
- Qi, W., Xue, M., -Y., Jia, M., -H., Zhang, S., Yan, Q., Sun, H., -Z. (2024). Understanding the functionality of the rumen microbiota: Searching for better opportunities for rumen microbial manipulation. *Animal Bioscience*, 37(2), 370–384. <https://doi.org/10.5713%2Fab.23.0308>
- Kaltenegger, A., Humer, E., Stauder, A., Zebeli, Q. (2020). Feeding of bakery by-products in the replacement of grains enhanced milk performance, modulated blood metabolic profile, and lowered the risk of rumen acidosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 10122–10135. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18425>
- Marcos, C.N., de Evan, T., Molina-Alcaide, E., Carro, M.D. (2019). Nutritive value of tomato pomace for ruminants and its influence on *in vitro* methane production. *Animals*, 9, Article 343. <https://doi.org/10.3390/ani9060343>
- Soto, E.C., Khelil, H., Carro, M.D., Yañez-Ruiz, D.R., Molina-Alcaide, E. (2015). Use of tomato and cucumber waste fruits in goat diets: Effects on rumen fermentation and microbial communities in batch and continuous cultures. *The Journal of Agricultural Science*, 153, 343–352. <https://doi.org/10.1017/S0021859614000380>
- Mizael, W.C.F., Costa, R.G., Cruz, G.R.D., de Carvalho F. R., Ribeiro, N.L., Lima, A. et al. (2020). Effect of the use of tomato pomace on feeding and performance of lactating goats. *Animals*, 10(9), Article 1574. <https://doi.org/10.3390/ani10091574>
- Phesatcha, B., Phesatcha, K., Viennasay, B., Thao, N. T., Wanapat, M. (2021). Feed intake and nutrient digestibility, rumen fermentation profiles, milk yield and compositions of lactating dairy cows supplemented by *Flemingia macrophylla* pellet. *Tropical Animal Science Journal*, 44(3), 288–296. <https://doi.org/10.5598/tasj.2021.44.3.288>
- Elshaghabe, F.M.F., Abd El-Maksoud, A.A., Alharbi, S.A., Alfarraj, S., Mohamed, M.S.M. (2021). Fortification of *acidophilus-bifidus-thermophilus* (abt) fermented milk with heat-treated industrial yeast enhances its selected properties. *Molecules*, 26(13), Article 3876. <https://doi.org/10.3390/molecules26133876>
- Santana, A., Cajalville, C., Mendoza, A., Repetto, J. L. (2017). Combination of legume-based herbage and total mixed ration (TMR) maintains intake and nutrient utilization of TMR and improves nitrogen utilization of herbage in heifers. *Animal*, 11(4), 616–624. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001956>
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- AOAC. (2005). *Methods of Analysis*. Vol. 1: Agriculture chemicals, Contaminants, Drugs. 16th ed. Association of official Analytical chemists, Washington, D.D., USA.
- Olagunju, A., Muhammad, A., Aliyu, S., Mada, S. B., Isah, R., Abdullahi, S. A. et al. (2013). Nutritional values of powdered milk commercially consumed in West Africa. *International Journal of Food Safety Nutrition and Public Health*, 4(2), 55–61.
- Chun, O. K., Kim, D. -O., Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8067–8072. <https://doi.org/10.1021/jf034740d>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)
- Kamangar, T., Fawzf, A. B. (1978). Spectrophotometric determination of vitamin A in oils and fats. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 61(3), 753–755.
- Erickson, D. R., Dunkley, W. L. (1964). Spectrophotometric determination of tocopherol in milk and milk lipides. *Analytical Chemistry*, 36(6), 1055–1058.
- Abd El-Salam, M. H., El-Shibiny, S. (2014). Conjugated linoleic acid and vaccenic acid contents in cheeses: An overview from the literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.08.004>
- Tafesh, A., Najami, N., Jadoun, J., Halahlih, F., Riepl, H., Azaizah, H. (2011). Synergistic antibacterial effects of polyphenolic compounds from olive mill wastewater. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, Article 432021. <https://doi.org/10.1155/2011/431021>
- Wang, X., Cheng, W., Wang, X., Wang, Q., Abd El-Maksoud, A. A., Wang, M., Cheng, K. W. (2022). Inhibition effects of typical antioxidants on the formation of glycidyl esters in rice oil and chemical model during high temperature exposure. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 166, 113794. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113794>
- El-Maksoud, A. A. A., Makhlouf, A. I., Altemimi, A. B., El-Ghany, I. H. A., Nassralah, A., Cacciola, F., Abdelmaksoud, T. G. (2021). Nano milk protein-mucilage complexes: Characterization and anticancer effect. *Molecules*, 26(21), 6372. <https://doi.org/10.3390/molecules26216372>
- Soltan, M.A. (2002). Using of tomato and potato by-products as non-conventional ingredients in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* diets. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 40(4), 2081–2096.
- Alicata, M. L., Bonanno, A., Glaccone, P., Leto, G., Battaglia, D. (1988). Use of tomato skins and seeds in the feeding of male rabbits. *Cultura Rivista di Conigli-cultura*, 25(1), 33–36.
- Khadr, N. A., Abdel-Fattah, F. A. I. (2008). Tomato waste as an unusual feedstuff for rabbit 1–response of growing rabbits to diets containing tomato waste. *Zagazig Veterinary Journal*, 36(1), 29–48.
- Mennani, A., Arbouche, Y., Arbouche, R., Arbouche, F., Ouzzir, L. (2021). Dehydrated tomato pulp in rabbit feed: Effects of incorporation rate on growth performance, carcass yield, meat quality and economic efficiency. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 30(3) 271–278. <https://doi.org/10.22358/jafs/142007/2021>
- Karpukhin, M. Y., Keita, F. (2020). *Biochemical composition of potato tubers of various varieties and the economic efficiency of its cultivation in the conditions of the Middle Urals*. International Scientific and Practical Conference “Development of the Agro-Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad” (DAIC2020). <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202022203023>
- O’Callaghan, T. F., Hennessy, D., McAuliffe, S., Kilcawley, K. N., O’Donovan, M., Dillon, P. et al. (2016). Effect of pasture versus indoor feeding systems on raw milk composition and quality over an entire lactation. *Journal of Dairy Science*, 99(12), 9424–9440. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10985>
- Morand-Fehr, P., Fedele, V., Decandia, M., Le Frileux, Y. (2007). Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 20–34. <https://doi.org/10.1016/j.small-rumres.2006.09.019>
- Vorobyova, V., Skiba, M., Vasyliov, G. (2022). Extraction of phenolic compounds from tomato pomace using choline chloride–based deep eutectic solvents. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(2), 1087–1104. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01238-5>
- Neela, S., Fanta, S. W. (2019). Review on nutritional composition of orange-fleshed sweet potato and its role in management of vitamin A deficiency. *Food Science and Nutrition*, 7(6), 1920–1945. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1063>
- Thibodeau, M. S., Poore, M. H., Rogers, G. M. (2002). Health and production aspects of feeding sweetpotato to cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 18(2), 349–365. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(02\)00022-1](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(02)00022-1)
- Gawad, A.R.M.A., Hanafy M. A., Mahmoud A. E.M., Al-Slibi Y.H. (2020). Effect of tomato pomace, citrus and beet pulp on productive performance and milk quality of Egyptian Buffaloes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23(9), 1210–1219. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.1210.1219>
- Khan, R. U., Khan, A., Muhammad, M. D., Naz, S. (2022). Tomato pomace waste as safe feed additive for poultry health and production—a review. *Annals of Animal Science*, 23(1), 39–51. <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0026>
- Calderón-Montaño, J., Burgos-Morón, E., Pérez-Guerrero, C., López-Lázaro, M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(4), 298–344. <https://doi.org/10.2174/138955711795305355>
- Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N. et al. (2022). Dietary polyphenols and their role in oxidative stress-induced human diseases: Insights into protective effects, antioxidant potentials and mechanism (s) of action. *Frontiers in Pharmacology*, 13, Article 806470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.806470>

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Ahmed A. Abd El-Maksoud , Associate Professor, Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0111-701-16-41 E-mail: ahmed_ali@cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6631-5900 * corresponding author		Абд Эль-Максуд А. А. , доцент, Кафедра науки о молоке, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0111-701-16-41 E-mail: ahmed_ali@cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6631-5900 * автор для контактов	
Mohamed A. Radwan , Associate Professor, Animal Production Department, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0155-792-22-88 E-mail: m.radwan883@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8793-9659		Мохамед А. Радван , доцент, Кафедра животноводства, Каирский университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0155-792-22-88 E-mail: m.radwan883@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8793-9659	
Hassan A. F. Rahmy , Lecturer, Animal Production Department, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0100-046-01-86 E-mail: Hasan.awny@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0009-0004-5409-5823		Хасан А. Ф. Рахми , преподаватель, Кафедра животноводства, Каирский университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0100-046-01-86 E-mail: Hasan.awny@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0009-0004-5409-5823	
Fouad M. F. Elshaghabe , Associate Professor, Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0103-035-41-37 E-mail: elshaghabe@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9576-3945		Фуад М. Ф. Эльшагаби , доцент, Кафедра науки о молоке, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0103-035-41-37 E-mail: elshaghabe@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9576-3945	
Ahmed M. Hamed , Associate Professor, Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0115-376-32-41 E-mail: ahmed.hamed@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3055-7486		Ахмед М. Хамед , доцент, Кафедра науки о молоке, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-0115-376-32-41 E-mail: ahmed.hamed@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3055-7486	
Contribution		Критерии авторства	
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.		Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-220-224>

Поступила 22.03.2024

Поступила после рецензирования 29.04.2024

Принята в печать 03.05.2024

© Чернуха И. М., Тихонов С. Л., Тихонова Н. В., 2024

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

Обзорная статья

Open access

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПЕПТИДНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ СОЗДАНИЯ БИОПЕПТИДОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ: МИНИ-ОБЗОР

Чернуха И. М.¹, Тихонов С. Л.^{2,3*}, Тихонова Н. В.²¹ Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия² Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия³ Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

молекулярная
пептидная
трансплантация,
биопептиды, каркасы,
пептидные вставки,
биологическая
активность

Молекулярная пептидная трансплантация (МПТ) — это выделение/синтез биоактивного фрагмента пептида/белка и последующий перенос его в целевой белок/пептид для создания нового белкового продукта, обладающего заданными уникальными биологическими свойствами. Это один из способов, наряду с методами циркуляризации пептидной основы и молекулярным сшиванием, направленных на усиление структурной организации коротких пептидов. Исследования МПТ в настоящее время в основном сосредоточены на демонстрации ее полезности и применимости, а не на разработке получения биопептидов нового поколения. Цель мини-обзора — показать применимость метода МПТ для разработки стабильных и биодоступных пептидов нового поколения с улучшенными биологическими свойствами. Для создания таких пептидов важно правильно подобрать каркас для последующей прививки к нему биологически активной пептидной последовательности. К пептидам с необходимым каркасом относятся циклотиды, которые можно получить трехфазным синтезом. Циклотиды обладают общим механизмом действия. Их биологическая активность определяется способностью связывать белки с образованием пор и разрушением биологических мембран-мишеней, а также свойствами, необходимыми для создания на их каркасе новых пептидов. Для обеспечения функциональности новых биопептидов, полученных методом МПТ, можно использовать различные пептидные вставки. Примером эффективного практического применения МПТ являются различные пептидные лекарства. Следовательно, МПТ позволяет эффективно конструировать биопептиды нового поколения, отличающиеся высокой термодинамической и метаболической стабильностью эпитопа и новыми или усиленными биологическими функциями. Однако эффективность полученных пептидов с использованием МПТ необходимо доказать в исследованиях *in vitro* и *in vivo*.

Received 23.03.2024

Accepted in revised 29.04.2024

Accepted for publication 03.05.2024

© Chernukha I. M., Tikhonov S. V., Tikhonova N. V., 2024

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

Review article

Open access

MOLECULAR PEPTIDE GRAFTING AS A TOOL FOR CREATING NEW GENERATION OF BIOPEPTIDES: A MINI-REVIEW

Irina M. Chernukha¹, Sergey L. Tikhonov^{2,3*}, Natalia V. Tikhonova²¹ V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia² Ural State Agricultural University, Yekaterinburg, Russia³ Ural State Forestry University, Yekaterinburg, Russia

KEY WORDS:

molecular peptide
grafting, biopeptides,
scaffolds, peptide
inserts, biological
activity

ABSTRACT

Molecular peptide grafting (MPG) is the isolation/synthesis of a bioactive fragment of a peptide/protein and its subsequent transfer to a target protein/peptide to create a new protein product with specified unique biological properties. This is one of the methods together with molecular stapling and peptide backbone circularization to strengthen the structural organization of short peptides. Nowadays research on MPT is mainly focused on demonstrating its usefulness and applicability, rather than on the development of next-generation biopeptides. The purpose of the mini-review is to demonstrate the applicability of MPT to create stable and bioavailable peptides of a new generation with enhanced biological properties. Choosing the right scaffold for subsequent inoculation of a biologically active peptide sequence into it is the most important task in creating targeted biopeptides. Peptides with the necessary framework, such as cyclotides, can be obtained by three-phase synthesis. Cyclotides have a common mechanism of action. Their biological activity is determined both by the ability to bind proteins with the formation of pores and destruction of biological target-membranes, and by the properties necessary to create new peptides in the scaffold. Various peptide inserts can be used to ensure the functionality of new biopeptides obtained by the MPT method. Different peptide drugs are an example of the effective practical use of MTP. Consequently, MPT makes it possible to effectively design a new generation of biopeptides characterized by high epitope thermodynamic and metabolic stability with new or enhanced biological functions. However, the effectiveness of the peptides obtained by the MPT must be proved *in vitro* and *in vivo*.

1. Введение

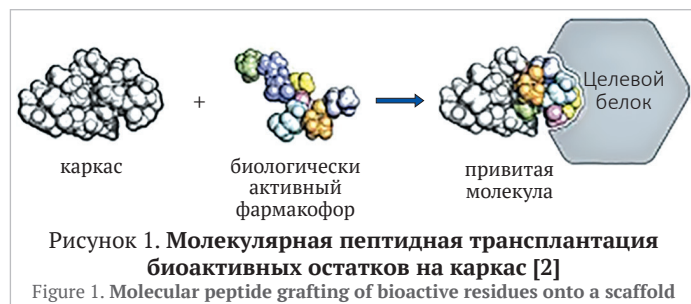
Возможности современной биотехнологии, пептидомики и генной инженерии позволяют выделять, идентифицировать, синтезировать новые пептиды с целевой аминокислотной последовательностью и с биологической активностью. В то же время целевая биологическая активность большинства короткоцепочечных пептидов ниже, чем у белков, из которых они выделены. Для преодо-

ления этого недостатка применяется несколько подходов. В частности, молекулярная пептидная трансплантация (МПТ), которую можно определить как «выделение/синтез биоактивного фрагмента пептида/белка, последующий перенос его в целевой белок/пептид для создания нового белкового продукта, обладающего заданными уникальными биологическими свойствами» [1,2,3]. МПТ имеет некоторое сходство с природным процессом молекулярной эволюции, так

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Чернуха, И. М., Тихонов, С. Л., Тихонова, Н. В. (2024). Молекулярная пептидная трансплантация как инструмент создания биопептидов нового поколения: мини-обзор. *Пищевые системы*, 7(2), 220–224. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-220-224>

FOR CITATION: Chernukha, I. M., Tikhonov, S. L., Tikhonova, N. V. (2024). Molecular peptide grafting as a tool for creating new generation of biopeptides: A mini-review. *Food Systems*, 7(2), 220–224. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-220-224>

как оба процесса включают модификацию белка-предшественника для придания ему новой функции. Но различие между ними заключается в том, что молекулярная трансплантация проводится в гораздо более короткие сроки и с меньшими размерами популяции. МПТ в первую очередь посвящена приданию новой функции пептиду/белку при сохранении его структуры (каркаса) за счет выделения биоактивного фармакофора (пептидная вставка) и прививки его в каркас. Результатом МПТ является биологически активное вещество белковой природы со свойствами как пептидной вставки, так и каркаса (Рисунок 1).



Каркас действует как молекулярный холст, на который прививаются биоактивные пептидные вставки (ПВ), в результате чего получается вариант каркаса с новой функциональной направленностью.

По размеру ПВ может соответствовать белковому домену, пептиду или части пептида. МПТ позволяет также устранить ряд недостатков, присущих пептидам и ограничивающих их применение. В частности, невысокую стабильность пептидов под действием желудочных и кишечных протеаз [4,5], короткий период полувыведения из плазмы, общую невысокую биодоступность [6,7]. МПТ можно оценивать как новый подход для сохранения / к сохранению биологической активности пептидов при приеме внутрь [8,9,10,11,12,13,14]. По нашему мнению, важно рассматривать МПТ в комплексе с подходом, основанным на сшивании синтезированных методом *de novo* пептидов.

Разработка пептидов *de novo* развивается быстрыми темпами [15,16]. За последние четыре десятилетия процессы проектирования белков прошли значительную эволюцию. Начиная с минимального проектирования, основанного на простых химических принципах, они перешли к рациональному проектированию, учитывающему взаимосвязь последовательности и структуры, изучаемую на примерах природных белков. В настоящее время доминирует компьютерное проектирование, где белки создаются из фрагментов или параметрических шаблонов и оцениваются с использованием статистических моделей или физических силовых полей [17]. Сегодня в проектировании белков активно используются передовые вычислительные методы, такие как искусственный интеллект, машинное обучение и нейронные сети. Эти технологии позволяют создавать и оценивать белки в виртуальной среде до их синтеза в лаборатории [18]. Потенциальным недостатком цифровых инноваций является отсутствие понимания того, какие именно белковые структуры создает и оптимизирует компьютер. В связи с этим ставится под сомнение точность определения связи молекулярных свойств пептида с учетом химических и физических принципов сворачивания, сборки, стабильности, биодоступности и биоактивности белка. Кроме того, структурно-ориентированный подход к проектированию белков трансформировался в метод разработки синтетических белков с полезными функциями, эффективность которых не доказана [19,20,21]. Возможно, последовательности *de novo*, встроенные в каркас, позволят сохранить их свойства при применении *in vivo*, что является дальнейшим этапом исследований авторов, проводимых вне рамок этого мини-обзора.

Проблема применения шитых пептидов заключается в их нестабильности в растворе и при высокой температуре [22]. При совместном применении МПТ и сшивания N- или C-концевых пептидов можно обеспечить стабильность шитых пептидов, расширить, изменить функциональную направленность и усилить их активность [23]. МПТ позволяет также обеспечить стабильность каркаса белка при воздействии внешних факторов (протеолитические ферменты, высокая температура) и повысить биодоступность и биоактивность полученного пептида и/или белка [10,11], что особенно важно при поступлении БАП *per os*.

Исследования молекулярной трансплантации до сих пор были сосредоточены в основном на демонстрации ее полезности и применимости, а не на разработке биопептидов нового поколения.

Цель мини-обзора — показать применимость МПТ для решения проблемы нестабильности пептидов с целью создания целевых биодоступных пептидов нового поколения с усиленными биологическими свойствами.

2. Материалы и методы

Описание обзорного исследования включало методы поиска литературы, критерии включения и исключения, источники данных, определение субъектов исследования, сопоставление, обобщение и представление результатов.

2.1. Методы поиска литературы

Из-за разнообразия используемой терминологии был определен поисковый запрос, включающий следующие ключевые слова: «молекулярная пептидная трансплантация», «биопептиды», «каркасы», «пептидные вставки», «биологическая активность», «циклотиды» и др.

2.2. Критерии включения и исключения

Чтобы сосредоточиться на самых последних исследованиях, поиск в базе данных был ограничен последними 10 годами (2014–2024), но при написании обзора была использована информативная статья, опубликованная в 2010 году. Проводился дополнительный ручной поиск публикаций, на которые ссылались авторы наиболее информативных статей за последние 3 года. В исследование включались обзорные и экспериментальные статьи с описанием методологии, полученных результатов и обсуждения. Исключались публикации, в которых не описывались пептидная последовательность, устойчивые каркасы белков и пептидов.

2.3. Источники данных

В качестве источника информации использовали базы данных eLIBRARY.RU, MEDLINE, PubMed, EMBASE, Library, Scopus, Web of Science и Google Scholar.

2.4. Определение субъектов исследования и используемый анализ

В качестве субъектов исследования применяли аннотации, полнотекстовые статьи в журналах открытого и закрытого доступа. В результате поиска литературы было получено 3207 аннотаций и статей. В целом, 126 ссылок были признаны потенциально подходящими. После анализа 78 статей и аннотаций были исключены, а 48 были включены.

3. Пептиды и белки — каркасы для молекулярной трансплантации

Важным фактором эффективности МПТ является подбор каркасов по их естественным свойствам: наличие дисульфидных пептидов — сшивок циклического каркаса, обеспечивающих стабильность [24], биологическую активность [25]; компактный размер [26]; возможность связывания с белками [27]. При поиске каркасов нужно понимать, как выбранный каркас можно модифицировать. Использование каркасов с известной структурой и функцией во многом определяет эффективность молекулярной трансплантации при разработке новых биопептидов. МПТ рассматривают как более гибкий подход, чем дизайн *de novo*, несмотря на его недавний значительный прогресс [28,29,30]. Поиск пептидов и белков, более подходящих в качестве каркаса для трансплантации, представляет актуальное направление биотехнологических исследований [11]. К пептидам с необходимым каркасом относятся циклоти́ды (синтезируемые рибосомами пептиды растительного происхождения, состоящие из 28–37 аминокислот). Первым таким циклотидом стал пептид калата В1, выделенный из *Oldenlandia affinis*. Циклоти́ды обладают четкой структурой, общим механизмом действия, и их биологическая активность определяется способностью связывать белки с образованием пор и с дальнейшим разрушением биологических мембран-мишеней. Также они отличаются свойствами для создания на их каркасе новых пептидов: толерантностью к мутациям, устойчивостью к химическому и биологическому разложению, малым размером, биодоступностью при приеме внутрь и способностью проникать в клетки. Циклоти́ды богаты цистеином, характеризуются наличием дисульфидных мостиков и обычной сквозной макроциклизацией, что обеспечивает их термостабильность, толерантность к действию протеаз. Более того, и межцистеиновые домены (петли) подвержены гипервариативности остатков.

Циклоти́ды состоят из основного циклизованного полипептида с шестью остатками Cys, которые образуют 6 структур с Cys-узлами (6 петель). Встречающиеся в природе циклоти́ды представляют собой полипептиды среднего размера, хотя сообщалось также о более

крупных сконструированных циклотидов [31]. Одна из шести петель, по-видимому, наиболее устойчива к введению пептидов с большим количеством аминокислотных остатков [32].

МПТ допускает введение последовательностей до 25 остатков аминокислот. Эта петля хорошо переносит введение изопептидных связей, не влияя на сворачивание и стабильность получаемого сконструированного нового пептида [33].

Встречающиеся в природе циклотиды подразделяются на три основных подсемейства, так называемые Мебиуса (представленные циклотидом kalata), браслет (представленные циклотидом цикловиолацина O1) и ингибитор трипсина (представленные циклотидом МСоТI-II подсемейства циклотидов) [32]. Установлено, что природные циклотиды обладают множеством различных активностей, таких как, например, противоопухолевая, антибактериальная, гемолитическая, противогрибковая, иммуносупрессивная, ингибирующая протеазу и ВИЧ [32].

Остатки Cys на циклотидном каркасе образуют три взаимосвязанных дисульфида в четко очерченном расположении Cys-узлов. Это делает циклотидный каркас чрезвычайно жестким и компактным, что объясняет их необычную устойчивость к термической/химической денатурации, а также к протеолитической деградации. Последняя, в свою очередь, характерна как для природных, так и для сконструированных синтезированных циклотидов [33,34].

Циклоиды являются идеальным каркасом для молекулярной трансплантации линейных биоактивных пептидов (БАП). При этом сами по себе линейные БАП подвержены воздействию ферментов и, следовательно, теряют свою эффективность в качестве действующего вещества [35]. Поэтому введение их в каркас циклотидов позволяет обеспечить биодоступность и активность полученного нового пептида. Информация о циклических пептидах представлена в базе данных Cybase [36], которая создана в институте молекулярных биологических наук при Университете Квинсленда в Брисбене (Австралия). Многие противораковые линейные пептиды были перенесены методом молекулярной трансплантации в циклический каркас циклотидов с цистеиновыми узлами для повышения их проницаемости через клеточные мембраны, тем самым улучшая их доставку и фармакокинетику [35].

4. Химический синтез циклотидов

Циклотиды можно получить химическим синтезом с использованием стандартных методов, в частности трехфазным синтезом [35]. Полученные линейные предшественники могут быть циклизованы с применением нативного химического внутримолекулярного лигирования в водных буферах при физиологическом значении pH (pH = 7), а затем последовательно свернуты окислительным способом [35]. В лаборатории [37] стадии циклизации и фолдинга осуществляют в реакции «единого котла» с использованием восстановленного глутатиона в качестве тиоловой добавки во время реакции нативного химического лигирования. Используя этот подход, авторы [38] получили много дисульфидсодержащих полипептидов, включая природные и инженерные синтезированные циклотиды [33]. Гетерологичная экспрессия циклотидов может быть достигнута с помощью транс-сплайсинга белков. Этот подход использовался для получения нескольких МСоТI-циклотидов с использованием нативного остатка Cys, расположенного на N-конце петли 6, для облегчения циклизации каркаса [1].

5. Функциональные вставки пептидов для молекулярной трансплантации

Для получения целевых биопептидов с применением МПТ важно правильно подобрать пептидные вставки. Например, для создания антиоксидантного пептида можно использовать последовательности аминокислот WPRGYFL, GPDPRKFLGPF, WYGPDRPKFL и SDWDRF, которые были выделены из микроводорослей *Tetrademus obliquus* и показали выраженную антиоксидантную активность [39]. Ляо и др. [40] обнаружили, что трипептид IRW, полученный из яичного белка, снижает кровяное давление у крыс со спонтанной гипертензией за счет усиления экспрессии ACE2. Эти исследования указывают на потенциальное применение пептидов пищевого происхождения для лечения сердечно-сосудистых заболеваний [41]. Полученный

натуральный короткий пептид IRW можно использовать в качестве функциональной вставки при МПТ.

Авторами [42] с использованием МПТ разработана серия аналогов глюкагоноподобного пептида, которые: предполагают его замену глицином в положении 2, норлейцином в положении 10, 11- и/или 16-гидрофобную замену. Полученные пептиды более эффективны в сравнении с природным гормоном, они показали высокую селективность к рецепторам [42].

В качестве пептидной вставки для создания нового биопептида с сосудорасширяющим и гипотензивным действием можно использовать короткий пептид новокинин (Arg-Pro-Leu-Lys-Pro-Trp). Следует отметить, что новокинин — это модифицированный овокинин, но обладающий более высоким селективным сродством к рецепторам ангиотензина II типа 2 в сравнении со своим предшественником. Также новокинин ингибирует базальную секрецию желудочной кислоты после внутримозгового введения и защищает слизистую оболочку желудка от повреждения, вызванного алкоголем, опосредованном пути AT2 рецептор-PG [43].

Линкеры Gly-Ser белках и пептидах выполняют важную роль в [43] и могут быть использованы для МПТ.

6. Примеры создания биопептидов/белков методом молекулярной трансплантации

Исследователями [44,45,46] на основе циклотидного каркаса были получены термостабильные пептиды с новой биологической активностью. В работе авторов [47] дана характеристика, полученного методом МПТ пептида лираглутид, представляющего химически синтезированный аналог человеческого глюкагоноподобного пептида. Авторами [48] представлены исследования пептида энфувиртид/фузеон — ингибитора проникновения ВИЧ-1 в CD4+ клетки, созданного путем трансплантации 6 аминокислотных остатков 638–673 гликопротеина оболочки ВИЧ-1 gp41 в каркас.

В результате исследований [49] с помощью МПТ последовательности из 20–25 аминокислот, ингибирующей адгезию и функционирование Т-клеток, синтезированы пептиды, способные блокировать адгезию Т-клеток, подавляющих развитие аутоиммунных заболеваний.

Авторы [44] создали функциональный пептид IL-10, связав два мономера с помощью гибкого линкера, и оценили его биологическую активность *in vitro* и *in vivo*. Установлено, что новый IL-10 обладает улучшенной термостабильностью и стойкостью к воздействию реакционной среды (pH) и более высокой противовоспалительной активностью.

7. Выводы

Основной проблемой использования природных пептидов в качестве терапевтического средства остается их крайняя неустойчивость к ферментативному гидролизу в желудочно-кишечном тракте и быстрый период полураспада при попадании в организм. Показано, что способ молекулярной трансплантации (МПТ) позволяет эффективно конструировать биопептиды нового поколения, отличающиеся высокой термодинамической и метаболической стабильностью эпитопа, новыми или усиленными биологическими функциями и низкой аллергенностью. Это связано с тем, что они состоят из остатков аминокислот и, следовательно, распадаются на продукты, обычно присутствующие в организме человека. МПТ доказала свою успешность в разработке пептидных лекарств. Оценивая перспективы МПТ при создании пищевых ингредиентов, следует подчеркнуть приемлемость метода, способного обеспечить сохранность БАП при технологическом процессе производства пищевого продукта. Для расширения возможностей применения БАП нового поколения важно увеличить разнообразие оптимальных каркасных структур и исследовать их эффективность в процессах молекулярной трансплантации. Это также позволит снизить затраты на их производство. Необходимы исследования *in vitro* и *in vivo* для подтверждения эффективности БАП, включая оценку их фармакодинамических свойств (селективность и специфичность к мишеням) и фармакокинетических свойств (дозировка, механизм поступления в кровь и эффективность цитоплазматической доставки к мишеням). Особое внимание следует уделить применению БАП в пищевой промышленности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Camarero, J. A., Campbell, M. J. (2019). The potential of the cyclotide scaffold for drug development. *Biomedicines*, 7(2), Article 31. <https://doi.org/10.3390/biomedicines7020031>
- Wang, C. K., Craik, D. J. (2021). Linking molecular evolution to molecular grafting. *Journal of Biological Chemistry*, 296, Article 100425. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100425>
- Jacob, B., Vogelaar, A., Cadenas, E., Camarero, J. A. (2022). Using the cyclotide scaffold for targeting biomolecular interactions in drug development. *Molecules*, 27(19), Article 6430. <https://doi.org/10.3390/molecules27196430>
- Wang, L., Wang, N., Zhang, W., Cheng, X., Yan, Z., Shao, G. et al. (2022). Therapeutic peptides: Current applications and future directions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7, Article 48. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00904-4>
- Sharma, K., Sharma, K. K., Sharma, A., Jain, R. (2023). Peptide-based drug discovery: Current status and recent advances. *Drug Discovery Today*, 28(2), Article 103464. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103464>
- Agyei, D., Ahmed, I., Akram, Z., Iqbal, H. M. N., Danquah, M. K. (2017). Protein and peptide biopharmaceuticals: An overview. *Protein and Peptide Letters*, 24(2), 94–101. <https://doi.org/10.2174/0929866523666161222150444>
- Lau, J. L., Dunn, M. K. (2018). Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 26(10), 2700–2707. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.052>
- Qin, L., Cui, Z., Wu, Y., Wang, H., Zhang, X., Guan, J. et al. (2022). Challenges and strategies to enhance the systemic absorption of inhaled peptides and proteins. *Pharmaceutical Research*, 40, 1037–1055. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03435-3>
- Holub, J. M. (2017). Small scaffolds, big potential: Developing miniature proteins as therapeutic agents. *Drug Development Research*, 78(6), 268–282. <https://doi.org/10.1002/ddr.21408>
- Wang, C. K., Craik, D. J. (2021). Linking molecular evolution to molecular grafting. *Journal of Biological Chemistry*, 296, Article 100425. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100425>
- Jacob, B., Vogelaar, A., Cadenas, E., Camarero, J. A. (2022). Using the cyclotide scaffold for targeting biomolecular interactions in drug development. *Molecules*, 27(19), Article 6430. <https://doi.org/10.3390/molecules27196430>
- Hillman, R. A., Nadraws, J. W., Bertucci, M. A. (2018). The hydrocarbon staple and beyond: Recent advances towards stapled peptide therapeutics that target protein-protein interactions. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 18(7), 611–624. <https://doi.org/10.2174/1568026618666180518095255>
- Ali, A. M., Atmaj, J., Van Oosterwijk, N., Groves, M. R., Dömling, A. (2019). Stapled peptides inhibitors: A new window for target drug discovery. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 17, 263–281. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.01.012>
- Chan, A. M., Goodis, C. C., Pommier, E. G., Fletcher, S. (2022). Recent applications of covalent chemistries in protein-protein interaction inhibitors. *RSC Medicinal Chemistry*, 13(8), 921–928. <https://doi.org/10.1039/d2md00112h>
- Pan, X., Kortemme, T. (2021). Recent advances in *de novo* protein design: Principles, methods, and applications. *Journal of Biological Chemistry*, 296, Article 100558. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100558>
- Huang, P.-S., Boyken, S. E., Baker, D. (2016). The coming of age of *de novo* protein design. *Nature*, 537(7620), 320–327. <https://doi.org/10.1038/nature19946>
- Woolfson, D. N. (2021). A brief history of *de novo* protein design: Minimal, rational, and computational. *Journal of Molecular Biology*, 433(20), Article 167160. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2021.167160>
- Anishchenko, I., Pellock, S.-J., Chidyausiku, T.-M., Ramelot, T.-A., Ovchinnikov, S., Hao, J. et al. (2021). *De novo* protein design by deep network hallucination. *Nature*, 600, 547–552. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04184-w>
- Wang, J., Lisanza, S., Juergens, D., Tischer, D., Anishchenko, I., Baek, M. et al. (2022). Scaffolding protein functional sites using deep learning. *Science*, 377(6604), 387–394. <https://doi.org/10.1126/science.abn2100>
- Marchand, A., Van Hall-Beauvais A. K., Correia, B. E. (2022). Computational design of novel protein-protein interactions — An overview on methodological approaches and applications. *Current Opinion in Structural Biology*, 74, Article 102370. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2022.102370>
- Zhou, W., Smidhehner, T., Jerala, R. (2020). Synthetic biology principles for the design of protein with novel structures and functions. *FEBS Letters*, 594(14), 2199–2212. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13796>
- Lovelock, S. L., Crawshaw, R., Basler, S., Levy, C., Baker, D., Hilvert D. et al. (2022). The road to fully programmable protein catalysis. *Nature*, 606, 49–58. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04456-z>
- Sia, S. K., Carr, P. A., Cochran, A. G., Malashkevich, V. N., Kim, P. S. (2002). Short constrained peptides that inhibit HIV-1 entry. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 99(23), 14664–14669. <https://doi.org/10.1073/pnas.232566599>
- Qin, L., Cui, Z., Wu, Y., Wang, H., Zhang, X., Guan, J. et al. (2022). Challenges and strategies to enhance the systemic absorption of inhaled peptides and proteins. *Pharmaceutical Research*, 40, 1037–1055. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03435-3>
- Wang, C. K., Craik, D. J. (2018). Designing macrocyclic disulfide-rich peptides for biotechnological applications. *Nature Chemical Biology*, 14, 417–427. <https://doi.org/10.1038/s41589-018-0039-y>
- Crook, Z. R., Sevilla, G. P., Friend, D., Brusniak, M.-Y., Bandaranayake, A. D., Clarke, M. et al. (2017). Mammalian display screening of diverse cystine-dense peptides for difficult to drug targets. *Nature Communications*, 8, Article 2244. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02098-8>
- Simeon, R., Chen, Z. (2018). *In vitro*-engineered non-antibody protein therapeutics. *Protein and Cell*, 9(1), 3–14. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0386-6>
- Chiu, M. L., Goulet, D. R., Teplyakov, A., Gilliland, G. L. (2019). Antibody structure and function: The basis for engineering therapeutics. *Antibodies*, 8(4), Article 55. <https://doi.org/10.3390/antib8040055>
- Korendovych, I. V., DeGrado, W. F. (2020). *De novo* protein design, a retrospective. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 53, Article e3. <https://doi.org/10.1017/S0033583519000131>
- Bhardwaj, G., Mulligan, V. K., Bahl, C. D., Gilmore, J. M., Harvey, P. J., Cheneval, O. et al. (2016). Accurate *de novo* design of hyperstable constrained peptides. *Nature*, 538, 329–335. <https://doi.org/10.1038/nature19791>
- Dawson, W. M., Rhys, G. G., Woolfson, D. N. (2019). Towards functional *de novo* designed proteins. *Current Opinion in Chemical Biology*, 52, 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.06.011>
- Garcia, A. E., Camarero, J. A. (2010). Biological activities of natural and engineered cyclotides, a novel molecular scaffold for peptide-based therapeutics. *Current Molecular Pharmacology*, 3(5), 153–163. <https://doi.org/10.2174/187446721003030153>
- Aboye, T., Meeks, C. J., Majumder, S., Shekhtman, A., Rodgers, K., Camarero, J. A. (2016). Design of a MCoTI-based cyclotide with angiotensin (1–7)-like activity. *Molecules*, 21(2), Article 152. <https://doi.org/10.3390/molecules21020152>
- Grover, T., Mishra, R., Bushra, Gulati, P., Mohanty, A. (2021). An insight into biological activities of native cyclotides for potential applications in agriculture and pharmaceuticals. *Peptides*, 135, Article 170430. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170430>
- Camarero, J. A. (2017). Cyclotides, a versatile ultrastable micro-protein scaffold for biotechnological applications. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 27(23), 5089–5099. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.10.051>
- Cybase. (2024). The database of cyclic proteins. The Institute of Molecular Biosciences IMG, Brisbane, Australia. Retrieved from <https://cybase.org.au> Accessed March 04, 2024. Access mode: for registered users.
- Li, Y., Bi, T., Camarero, J. A. (2015). Chemical and biological production of cyclotides. Chapter in a book: *Advances in Botanical Research*. Elsevier Ltd., United Kingdom. 2015. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2015.08.006>
- Aboye, T., Kuang, Y., Neamati, N., Camarero, J. A. (2015). Rapid parallel synthesis of bioactive folded cyclotides by using a tea-bag approach. *ChemBioChem*, 16(5), 827–833. <https://doi.org/10.1002/cbic.201402691>
- Li, Y., Gould, A., Aboye, T., Bi, T., Breindel, L., Shekhtman, A. et al. (2017). Full sequence amino acid scanning of theta-defensin RTD-1 yields a potent anthrax lethal factor protease inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(5), 1916–1927. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01689>
- Montone, C. M., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., La Barbera, G., Piovesana S., Chiozzi, R. Z. et al. (2018). Peptidomic strategy for purification and identification of potential ACE-inhibitory and antioxidant peptides in *Tetrademus obliquus* microalgae. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 3573–3586. <http://doi.org/10.1007/s00216-018-0925-x>
- Liao, W., Fan, H., Davidge, S. T., Wu, J. (2019). Egg white-derived antihypertensive peptide IRW (Ile-Arg-Trp) reduces blood pressure in spontaneously hypertensive rats via the ACE2/Ang (1–7)/Mas receptor axis. *Molecular Nutrition and Food Research*, 63(9), Article e1900063. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900063>
- Wisniewski, K., Sueiras-Diaz, J., Jiang, G., Galyean, R., Lu, M., Thompson, D. et al. (2016). Synthesis and pharmacological characterization of novel glucagon-like peptide-2 (GLP-2) analogues with low systemic clearance. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(7), 3129–3139. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01909>
- Zhang, Y., Xiu, M., Jiang, J., He, J., Li, D., Liang, S. et al. (2016). Novokinin inhibits gastric acid secretion and protects against alcohol-induced gastric injury in rats. *Alcohol*, 56, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2016.08.003>
- Minshaw F., Lanvermann S., McKenzie E., Jeffery R., Couper K., Papoutsopoulou, S. et al. (2020). The generation of an engineered Interleukin-10 protein with improved stability and biological function. *Frontiers in Immunology*, 11, Article 1794. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01794>
- González-Castro, R., Gómez-Lim, M. A., Plisson, F. (2021). Cysteine-rich peptides: Hyperstable scaffolds for protein engineering. *ChemBioChem*, 22(6), 961–973. <https://doi.org/10.1002/cbic.202000634>
- Mehta L., Dhankhar R., Gulati P., Kapoor R. K., Mohanty A., Kumar S. (2020). Natural and grafted cyclotides in cancer therapy: An insight. *Journal of Peptide Science*, 26(4–5), Article e3246. <https://doi.org/10.1002/psc.3246>
- Hamad, F., Elnour, A. A., Elamin, A., Mohamed, S., Yousif, I., Don, J. et al. (2021). Systematic review of glucagon like peptide one receptor agonist liraglutide for subjects with heart failure with reduced left ventricular ejection fraction. *Current Diabetes Reviews*, 17(3), 280–292. <https://doi.org/10.2174/1573399816999200821164129>
- Yi, H. A., Fochtman, B. C., Rizzo, R. C., Jacobs, A. (2016). Inhibition of HIV entry by targeting the envelope transmembrane subunit gp41. *Current HIV Research*, 14(3), 283–294. <https://doi.org/10.2174/1570162x14999160224103908>
- Steward-Tharp, S. M., Song, Y.-J., Siegel, R. M., O'Shea, J. J. (2010). New insights into T cell biology and T cell-directed therapy for autoimmunity, inflammation, and immunosuppression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1183(1), 123–148. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05124.x>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, Руководитель Отдела координации инициативных и международных проектов, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (109) E mail: i.chernuha@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927	Irina M. Chernukha , Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Principal Researcher, Head of the Department for Coordination of Initiative and International Projects, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (109) E mail: i.chernuha@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927
Тихонов Сергей Леонидович — доктор технических наук, профессор, директор научно-образовательного центра «Прикладные нанобиотехнологии», Уральский государственный аграрный университет 620000, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42 профессор кафедры химической технологии древесины, биотехнологии и наноматериалов, Уральский государственный лесотехнический университет 620100, Екатеринбург, Сибирский тракт, 37 Тел.: +7-912-276-98-95 E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4863-9834 * автор для контактов	Sergey L. Tikhonov , Doctor of Technical Sciences, Professor, Director of the Scientific and Educational Center «Applied Nanobiotechnology», Ural State Agricultural University 42, Karl Liebknecht str., 620000, Yekaterinburg, Russia Professor, Department of Chemical Technology of Wood, Biotechnology and Nanomaterials Ural State Forestry University 37 Sibirskiy Trakt, 620100, Yekaterinburg, Russia Tel.: +7-912-276-98-95 E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4863-9834 * corresponding author
Тихонова Наталья Валерьевна — доктор технических наук, заведующий кафедрой пищевой инженерии аграрного производства, Уральский государственный аграрный университет 620000, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42 Тел.: +7-919-392-37-09 E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5841-1791	Natalia V. Tikhonova , Doctor of Technical Sciences, Head of the Department of Food Engineering of Agricultural Production, Ural State Agricultural University 42, Karl Liebknecht str., 620000, Yekaterinburg, Russia Tel.: +7-919-392-37-09 E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5841-1791
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-225-230>

Поступила 16.01.2024

Поступила после рецензирования 08.05.2024

Принята в печать 15.05.2024

© Дубцова Г. Н., Витол И. С., 2024



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

Научная статья

Open access

БЕЗГЛЮТЕНОВЫЕ СНЕКИ НА ОСНОВЕ МУЧНОЙ КОМПОЗИТНОЙ СМЕСИ, ОБОГАЩЕННЫЕ ПРЯНОСТЬЮ АСАФЕТИДА (*Ferula assa-foetida*)

Дубцова Г. Н.¹, Витол И. С.^{2*}

¹ Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

мука рисовая,
гороховая, нутовая,
мучные композитные
смеси, пряность
асафетида,
безглютеновые снеки

С целью расширения ассортимента мучной снековой продукции, относящейся к категории специализированных продуктов, была разработана и научно обоснована рецептура снеков на основе мучных композитных смесей. Данные снеки предназначены для потребителей, придерживающихся принципов здорового питания, но, в первую очередь, для пациентов с целиакией. В рецептуре используются безглютеновые виды муки, обогащенные пряностью асафетида. Предварительные исследования показали, что из шести вариантов мучных смесей наибольшую биологическую ценность имеет состав с соотношением 60% рисовой муки, 20% гороховой муки и 20% нутовой муки. В составе пряности асафетида методом масс-спектрометрии выявлен широкий спектр душистых веществ, относящихся к различным классам органических соединений: алифатические спирты, оксосоединения, алифатические и ароматические карбоновые кислоты, сложные эфиры, терпены, производные фенола, гетероциклические ароматические соединения (производные фурана и тиафена). Они обладают широким спектром действия — определяют вкус, аромат, проявляют антиоксидантные свойства, предупреждают прогоркание жиров. Исследования показали, что добавление 0,2% асафетиды к мучной смеси не только увеличивает окислительную стабильность снеков (индукционный период возрастает в 1,5 раза), но и снижает содержание липидов. Это достигается за счет уменьшения абсорбции жира при жарке во фритюре (примерно в 1,5 раза). В результате калорийность продукта снижается на 6,8% по сравнению с контролем, замедляются процессы окисления и увеличивается срок годности снеков. Результаты органолептической оценки показали, что безглютеновые снеки с добавлением асафетиды значительно превосходят контрольный образец. Суммарная балльная оценка составила 24 балла для снеков с асафетидой против 19 баллов для контрольного образца. Они имели наиболее гармоничный внешний вид, цвет, вкус, запах по данным профилограммы органолептических показателей среди таких изделий как безглютеновые снеки на основе мучных композитных смесей без добавок (контроль), с добавкой пищевых волокон, с добавлением пряности асафетиды и пищевых волокон.

Received 16.01.2024

Accepted in revised 05.08.2024

Accepted for publication 15.08.2024

© Dubtsova G. N., Vitol I. S., 2024

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

Original scientific article

Open access

GLUTEN-FREE SNACKS BASED ON FLOUR COMPOSITE MIXTURE, FORTIFIED WITH ASAFOETIDA SPICE (*Ferula assa-foetida*)

Galina N. Dubtsova¹, Irina S. Vitol^{2*}

¹ Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

² All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing, Moscow, Russia

KEY WORDS:

rice flour, pea flour,
chickpea flour, flour
composite mixtures,
asafoetida spice,
gluten-free snacks

ABSTRACT

A recipe of snacks based on flour composite mixtures has been developed and scientifically substantiated with the aim of extending an assortment of flour snack products belonging to the category of specialized products. These snacks are intended for consumers adhering to the health nutrition principles and, first of all, for patients with celiac disease. Gluten-free types of flour fortified with the asafoetida spice are used in the recipe. Preliminary studies demonstrated that the formulation with a ratio of 60% rice flour, 20% pea flour and 20% chickpea flour had the highest biological value among six variants of flour mixtures. Using the mass-spectrometry method, a wide spectrum of aromatic substances belonging to different classes of organic compounds was revealed in the composition of the asafoetida spice, including aliphatic alcohols, oxo-compounds, aliphatic and aromatic carboxylic acids, esters, terpenes, phenol derivatives, heterocyclic aromatic compounds (derivatives of furan and thiophene). They have a wide spectrum of action: determine taste and aroma, show the antioxidant properties, and prevent fat rancidification. The investigations showed that addition of 0.2% of asafoetida to the flour mixture not only increased the oxidative stability of snacks (induction period increased by 1.5 times), but also reduced the content of lipids. This was achieved due to a decrease in fat absorption during deep-fat frying (approximately by 1.5 times). As a result, the caloric content of the product reduced by 6.8% compared to the control, the oxidation processes were retarded and the shelf-life of snacks was extended. The results of the organoleptic assessment show that gluten-free snacks with the addition of asafoetida are significantly superior to the control sample. The total score of snacks with asafoetida was 24 points compared to 19 points given to the control sample. They had the most harmonious appearance, color, taste, and odor according to the profilogram of organoleptic indicators among products such as gluten-free snacks based on flour composite mixtures without additives (control), with addition of dietary fibers, with addition of the asafoetida spice and dietary fibers.

1. Введение

По темпам прироста сегмента рынка мелкоштучных товаров, которые условно объединяют в категорию «снеки», 2021 год стал для России рекордным. До 70% роста рынка обеспечивали 6 катего-

рий снековой продукции — это сыры, мороженое, мучные изделия, чипсы, кондитерские изделия, охлажденные десерты. По оценкам BusinesStat, «в 2022 году продажи снеков в России снизились на 2,1% к уровню предыдущего года и составили 706 тыс. т.», что связано

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Дубцова, Г. Н., Витол, И. С. (2024). Безглютеновые снеки на основе мучной композитной смеси, обогащенные пряностью асафетида (*Ferula assa-foetida*). *Пищевые системы*, 7(2), 225–230. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-225-230>

FOR CITATION: Dubtsova, G. N., Vitol, I. S. (2024). Gluten-free snacks based on a flour composite mixture, fortified with the Asafoetida spice (*Ferula assa-foetida*). *Food Systems*, 7(2), 225–230. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-225-230>

с различными факторами. Однако, «по прогнозам, в 2023–2027 годах продажи снеков будут восстанавливаться по мере прохождения острой фазы санкционного кризиса. Дефицита снеков не ожидается: зависимость рынка от импорта слабая, а продукция ушедших иностранных производителей будет пополняться аналогами (как российскими, так и зарубежными)» [1,2].

Среди разного рода снековой продукции все большую популярность приобретает специализированная продукция на основе многокомпонентных мучных смесей — это так называемые безглютеновые продукты (или “gluten free”), предназначенные для людей, страдающих целиакией [3]. Целиакия (глютеновая энтеропатия) — атрофия слизистой оболочки тонкой кишки вследствие непереносимости белков злаков (клейковины или глютена). Более точно — непереносимость спирторастворимой белковой фракции — проламинов (глиадин — у клейковины пшеницы) [4,5,6]. В настоящее время безглютеновые мучные изделия пользуются спросом не только среди потребителей, которым необходимо придерживаться специализированной безглютеновой диеты по медицинским показаниям, но и среди сторонников так называемого здорового питания, число которых в России за последнее время значительно выросло [3,7].

В этом сегменте пищевой индустрии мировыми лидерами признаны следующие производители: Kraft Heinz Company, Kellogg's Company, Hain Celestial Group Inc., Bob's Red Mill, ConAgra Brands Inc. (США); Raisio PLC, Provena (Финляндия), Barilla G. E.R., Fratelli S. P.A., Nutri Free, Shar (Италия); Gullon (Испания). В России безглютеновые мучные продукты выпускают компании «МакМастер» (Ивантеевка, Московская область), «Гарнец» (Владимир), АО «Макфа» (Челябинск), ООО «Гермес» (Белебей, Башкортостан), ООО «Di&Di» (Санкт-Петербург), ООО «Компания Монастырский Двор» (Новосибирск), ООО «Диетика», (Всеволожск, Ленинградская область) и другие [8,9]. Потребительский спрос и готовность производителей вырабатывать такую продукцию вызвали повышенный интерес исследователей к разработке высококачественных безглютеновых пищевых продуктов с высокой пищевой ценностью [10–12]. Количество научных исследований фундаментального [13–16] и прикладного [15,17] характера в последние годы значительно возросло. Они позволяют на основе комплексных исследований оценить физико-химические и биохимические особенности состава исходных компонентов безглютеновых мучных смесей [18,19], различного рода добавок и обогащающих ингредиентов [20,21]; а также с помощью методов математического моделирования сбалансировать состав и оптимизировать рецептуру безглютеновых изделий [22,23], выявить их взаимосвязь с функциональными свойствами исходных компонентов [24,25] и с органолептическими показателями готовых изделий [19,23,26]. Это позволит расширить ассортимент снековой продукции для различных групп потребителей — в первую очередь для людей, страдающих целиакией. Однако мнения специалистов о способности безглютеновой продукции снижать массу тела и уменьшать проявления заболеваний алиментарного характера (например, пищевой аллергии) разделились: некоторые ученые считают, что это заключение строится на предположениях и в настоящее время не доказано [9], другие, напротив, поддерживают эту позицию [27].

Следует особо подчеркнуть, что создание безглютеновых изделий требует тщательного изучения каждой партии исходного сырья, поскольку производство данного вида продукции жестко регламентируется ТР ТС 027/2012¹, при этом предусмотрен также вид специализированной пищевой продукции с низким содержанием глютена.

Целью данной работы является разработка безглютеновых снеков на основе трех видов муки, не содержащих клейковину (глютен), обогащенных пряностью асафетида, а также характеристика готовых изделий по физико-химическим, органолептическим и микробиологическим показателям качества.

2. Материалы и методы

В работе использовали сырье, необходимое для создания безглютеновой снековой продукции: безглютеновую муку трех видов: рисовую (ГОСТ 31645–2012²), гороховую и нуттовую

(ТУ 9293–009–89751414–10³); а также ингредиенты: масло сливочное по ГОСТ 32261–2013⁴, соль поваренная по ГОСТ Р 51574–2000⁵, вода питьевая по СанПиН 2.1.4.1074–01, пряность асафетида (ASAFOETIDA, высший сорт, Индия) и препарат апельсиновых пищевых волокон Citri-Fi (Fiberstar Inc., США).

В качестве фритюрного масла использовали масло растительное высокоолеиновое «Премиум», ТУ 9141–012–33356775–2008⁶.

Методы исследования химического состава и физико-химических показателей компонентов мучных смесей и полуфабрикатов: влажность определяли по ГОСТ 13586.5–2015⁷; зольность — по ГОСТ 10847–2019⁸; общее содержание белка — методом Кельдаля (N×6,25) по (ГОСТ 10846–91⁹); липидов — по Сокслету (ГОСТ 29033–91¹⁰); углеводов — по ГОСТ 26176–2019¹¹. Количество растворимых белков определяли по методу Лоури. Фракционный состав растворимых белков определяли по методу Осборна [28]. Жирсвязывающую способность (ЖСС) различных видов муки — как описано в работе [29]. Определение окислительной стабильности липидов осуществляли по ГОСТ 53160–2008 (ISO 6886:2006)¹².

Определение содержания гидроксикоричных кислот, суммы флавоноидов и состава душистых веществ проводили согласно Р4.1.1672–03 «Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище».

Для определения суммы флавоноидов использовали спектрофотометрический метод. Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 415 нм на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия). Определение гидроксикоричных кислот осуществляли хроматографическим методом на хроматографе (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA).

Исследование состава душистых веществ осуществляли на приборе хромато-масс-спектрометр (Agilent Technologies, USA) с автоматической системой обработки данных с использованием «библиотеки масс-спектров» для идентификации отдельных ароматических компонентов.

Методы исследования фритюрного масла включали: метод органолептической оценки фритюрного жира по ГОСТ 5472–50¹³, определение перекисного числа жира (ПЧ) по ГОСТ Р 51487–99¹⁴, кислотного числа жира (КЧ) по ГОСТ Р 52110–2003¹⁵, анидинового числа жира (АЧ) по ГОСТ Р 53099–2009 (ISO 6885:2006)¹⁶.

Методы исследования готовой продукции: органолептическую оценку готовых изделий проводили в соответствии с ГОСТ 53104–2008¹⁷; микробиологические исследования готового изделия осуществляли по следующим методикам: определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов по ГОСТ 10444.15–94¹⁸, определение количества бактерий группы

³ ТУ 9293–009–89751414–10 «Мука гороховая, нуттовая, чечевичная. Технические условия».

⁴ ГОСТ 32261–2013 «Масло сливочное. Технические условия». М.: Стандартинформ. 2014. — 18 с.

⁵ ГОСТ Р 51574–2000 «Соль поваренная пищевая. Технические условия» М.: ГОССТАНДАРТ РОССИИ. 2005. — 12 с.

⁶ ТУ 9141–012–33356775–2008 «Масло подсолнечное высокоолеиновое «Премиум». Технические условия».

⁷ ГОСТ 13586.5–2015 «Зерно. Метод определения влажности». Москва: Стандартинформ, 2019. — 23 с.

⁸ ГОСТ 10847–2019 «Зерно. Метод определения зольности». Москва: Стандартинформ, 2019. — 25 с.

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

¹⁰ ГОСТ 29033–91 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения жира». Москва: ИПК «Издательство стандартов», 2009. — 6 с.

¹¹ ГОСТ 26176–2019 Корма, комбикорма. Методы определения растворимых и легкогидролизуемых углеводов. М.: Стандартинформ. 2019. — 11 с.

¹² ГОСТ 53160–2008 (ISO 6886: 2006). «Жиры и масла животные и растительные. Определение устойчивости к окислению (ускоренное испытание на окисление)». М.: Стандартинформ. 2009. — 13 с.

¹³ ГОСТ 5472–50. «Масла растительные. Определение запаха, цвета и прозрачности». М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. — 12 с.

¹⁴ ГОСТ Р 51487–99. «Масла растительные и животные. Метод определения перекисного числа жира». М.: Стандартинформ. 2008. — 6 с.

¹⁵ ГОСТ Р 52110–2003. «Масла растительные. Методы определения кислотного числа». М.: Стандартинформ. 2008. — 8 с.

¹⁶ ГОСТ Р 53099–2009 (ISO 6885:2006). «Жиры и масла животные и растительные. Определение анидинового числа». М.: Стандартинформ. 2009. — 7 с.

¹⁷ ГОСТ 53104–2008. «Услуги общественного питания. Метод органолептической оценки качества продукции общественного питания». М.: Стандартинформ. 2009. — 12 с.

¹⁸ ГОСТ 10444.15–94. «Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов». М.: Стандартинформ. 2010. — 7 с.

¹ ТР ТС 027/2012. Технический регламент таможенного союза «О безопасности отдельных видов специализированной продукции, в том числе диетического, лечебного и диетического профилактического питания». Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 15 июля 2012 г. № 34. — 26 с.

² ГОСТ 31645–2012 «Мука для продуктов детского питания. Технические условия». М.: Стандартинформ. 2013. — 9 с.

кишечных палочек по ГОСТ 31747–2012¹⁹, выявление и подсчет количества дрожжей и плесневых грибов по ГОСТ 10444.12–2013²⁰.

Процесс получения безглютеновых снеков по разработанной рецептуре включал следующие операции: подготовка сырья, приготовление теста — смешивание рисовой, гороховой и нутовой муки с пряностью асафетида предварительно растопленным сливочным маслом и раствором поваренной соли и дальнейший замес теста. Далее — формовка в экструдере и обжаривание во фритюре (5–10 сек). Готовые снеки поступают в аппарат для удаления излишка жира и охлаждения до температуры 15–20 °С, а затем на фасовку и упаковку.

Хранение контрольного и опытного образцов готовых изделий, упакованных в пергаментную бумагу, осуществляли при температуре 18 ± 5 °С и при относительной влажности воздуха не более 75% в течение трех месяцев. Процесс окисления липидов контролировали каждые 30 суток по показателю перекисного числа жира (ПЧ).

Анализ проводили в трех повторностях, представляя результаты как средние арифметические. Расхождения между параллельными определениями не превышали 3% от среднего арифметического значения при доверительной вероятности $P=0,95$ [30].

3. Результаты и их обсуждение

Для создания нового вида безглютеновых снеков на основе комбинированной мучной смеси были выбраны три вида муки, разрешенных для безглютеновой диеты — мука рисовая, гороховая, нутовая [31]. Химический состав образцов муки приведен в работе [7].

Поскольку при приготовлении снеков тестовые заготовки обжариваются во фритюре, жиросвязывающая способность (ЖСС) муки вносит существенный вклад в содержание жира в конечном продукте и в целом в его калорийность (энергетическую ценность). Анализ полученных показателей ЖСС рисовой, гороховой и нутовой муки показал, что рисовая мука обладает наименьшей ЖСС (г/г): 0,68 против 0,93 и 1,15 для гороховой и нутовой муки соответственно. Закономерность полученных результатов связана с тем, что рисовая мука содержит в 3 раза меньше белка (%), чем мука бобовых культур (7,0 против 21,0–22,0), а именно от содержания белка, в первую очередь, зависит способность муки связывать жир. Кроме того, на ЖСС влияет и фракционный состав белков (Рисунок 1). В рисовой муке преобладает фракция глобулинов (щелочерастворимые белки) — 68%, а в гороховой и нутовой муке — альбумино-глобулиновая фракция (водо- и солерастворимые белки) — 82 и 74% соответственно.



Полученные данные необходимо учитывать при составлении мучных комбинированных смесей. В данном случае количество рисовой муки очевидно должно преобладать, поскольку ее ЖСС примерно в 1,5–2,0 раза меньше, чем у гороховой и нутовой муки.

¹⁹ГОСТ 31747–2012. «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)». М.: Стандартинформ. 2013. — 19 с.

²⁰ГОСТ 10444.12–2013. «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов». М.: Стандартинформ. 2014. — 11 с.

Проведенный ранее [7] анализ данных аминокислотного состава исследуемых видов безглютеновой муки показал, что выбранные виды муки могут дополнять друг друга. Так, в рисовой муке содержится меньше лизина, треонина, изолейцина, чем в эталонном белке, бобовые виды муки содержат меньше валина, метионина и цистина, по сравнению с эталонным белком.

С использованием программы Microsoft Office Excel 2007 были составлены мучные композитные смеси (МКС) с различным соотношением исходных компонентов (6 вариантов). Они содержали 50, 55 и 60% рисовой муки, содержание гороховой и нутовой муки составляло по 15, 20, 25 от общего количества смеси. С учетом таких показателей, как аминокислотный скор (АС) по незаменимым аминокислотам, лимитирующая аминокислота, коэффициент различия аминокислотного скор (КРАС) и биологическая ценность (БЦ), для дальнейших исследований была выбрана МКС следующего состава: мука рисовая, гороховая, нутовая в соотношении 60:20:20, имеющая показатель биологической ценности 74,9% [7].

Известно, что включение в состав безглютеновой мучной смеси муки бобовых культур может придавать изделиям ярко выраженный привкус. Для улучшения потребительских свойств изделий исследовали возможность нивелировать привкус бобовых культур и придания изделиям определенных вкусовых и ароматических свойств с использованием пряности асафетида.

Асафетида (*Ferula assa-foetida*) — многолетнее травянистое растение; вид рода Ферула (*Ferula*) семейства Зонтичные (*Apiaceae*). Для получения пряности млечный сок корней асафетида, который при контакте с воздухом образует смолу, высушивают и измельчают [32]. Специя популярна и широко используется в индийской кулинарии, обладает положительным воздействием на организм человека, в том числе помогает процессам переваривания, что особенно важно для изделий, имеющих в своем составе бобовые, содержащие трудноперевариваемые олигосахариды.

Асафетида в сухом виде состоит примерно из 4–20% эфирного масла, содержащего серные вещества, сесквитерпены, терпены (фелландренин и альфа-пинин) и кумарины; 40–60% составляют олеосмолы с высоким содержанием феруловой кислоты (до 60%) и 25% камеди [32,33].

Пряность асафетиду оценивали по основным химическим компонентам: содержание белка, липидов, углеводов составило по 0,1%. Общее содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) — 349,83 мг/100 г.

Среди биологически активных веществ пряности асафетида особый интерес представляют полифенольные соединения, разнообразная биологическая активность которых может служить основанием для разработки продуктов профилактического назначения. Выявлено, что фенольные соединения представлены флавоноидами и фенолокислотами, в частности, пряность асафетида в своем составе содержит значительное количество флавоноидов, гидроксикоричных кислот, следовательно, может быть отнесена к фенольным антиоксидантам [33]. Последние, в свою очередь, обладают различным антиокислительным действием и способны предотвращать перекисное окисление липидов путем утилизации химически активных соединений кислорода, липидных пероксильных и алкоксильных радикалов, а также за счет образования хелатных комплексов с ионами переходных металлов. Определение фенолокислот показало, что преобладающими гидроксикоричными кислотами пряности являются хлорогеновая (30,0 мг/кг) и феруловая кислоты (17 мг/кг), кафтаровая кислота содержится в незначительном количестве (1,0 мг/кг) (Рисунок 2).

Методом масс-спектрометрии было установлено, что в состав пряности асафетида входит набор душистых веществ (64 вещества), включающий алифатические спирты, оксосоединения (альдегиды и кетоны — алифатические, ароматические и гетероциклические),

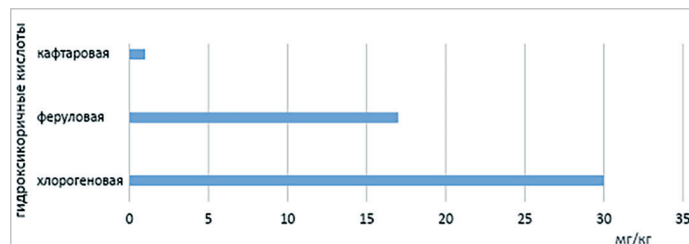


Рисунок 2. Основные гидроксикоричные кислоты пряности асафетида, полученные методом ВЭЖХ

Figure 2. Main hydroxycinnamic acids of the spice asafoetida obtained by HPLC

алифатические и ароматические карбоновые кислоты, сложные эфиры, терпены, производные фенола, гетероциклические ароматические соединения (производные фурана и тиафена). Они не только отвечают за вкус и аромат, но и являются биологически активными соединениями широкого спектра действия, в том числе обладают антиокислительными свойствами и предупреждают прогоркание жиров [34,35]. Это приобретает принципиальное значение, когда речь идет об изделиях, заключительной стадией приготовления которых является обжаривание во фритюре.

Для фритюрной обжарки снеков использовали высокоолеиновое подсолнечное масло как наиболее устойчивое к окислительным процессам среди жидких растительных масел [7] со следующими характеристиками: КЧ — 0,3 мг КОН/г, ПЧ — 1,5 мэкв/кг, АЧ — 0,9 усл. ед. Асафетиду вносили в количестве 0 (контроль), 0,02, 0,1 и 0,2%. Образцы масла термостатировали при 120 °С и определяли индукционный период, он составил 5,29; 7,80; 7,98 и 8,22 часа соответственно. Введение пряности асафетида увеличивает индукционный период процесса окисления в 1,5 раза, следовательно, асафетида проявляет антиоксидантные свойства.

На заключительном этапе на основании проведенных исследований была разработана рецептура и технологическая схема производства безглютеновых снеков с добавлением 0,2% пряности асафетида и 0,6% апельсиновых пищевых волокон Citri-Fi (Fiberstar Inc., США) для улучшения структуры изделия и предотвращения отделения влаги в процессе хранения, а также с целью улучшения вкусовых характеристик. Были определены показатели качества (физико-химические, органолептические и микробиологические) и проведен расчет пищевой и энергетической ценности готовых изделий.

Оценка физико-химических показателей готовых изделий показала, что при введении пряности асафетида количество липидов, поглощаемых изделием, уменьшилось на 14,3% (Таблица 1) по сравнению с контрольными образцами изделий (без внесения пряности и пищевых волокон). Добавление пищевых волокон не привело к снижению количества липидов в изделии, что косвенно подтверждает главенствующую роль белков, а не пищевых волокон (некрахмальных полисахаридов) в этом процессе. Полученные экспериментальные данные показали, что введение пряности асафетида позволяет значительно уменьшить содержание жира в изделии, а, следовательно, снизить его калорийность (энергетическую ценность).

При хранении готовых изделий было выявлено (Рисунок 3), что процесс окисления липидов при добавлении пряности асафетида происходит значительно медленнее, особенно после 30 суток хранения; при этом влажность контрольного образца в период хранения уменьшилась на 0,8%, а влажность образца с пряностью асафетида — на 0,6%.

Органолептические показатели готовых изделий оценивали по 5-балльной шкале. Полученные данные приведены в Таблице 2 и на Рисунке 4.

По органолептическим показателям наилучшим был признан образец с добавлением пряности асафетида, имеющий наиболее гармоничный внешний вид, цвет, вкус, запах (Рисунок 4). Его суммарная оценка составила 24 балла, тогда как суммарная оценка контрольного образца — 19 баллов.

Результаты исследования микробиологических показателей разработанных изделий показали их соответствие гигиеническим требованиям: мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, бактерии группы кишечных палочек (колиформные), а также плесневые грибы в готовых изделиях не были обнаружены.

Показатели пищевой и энергетической ценности для контрольного образца безглютеновых снеков представлены в Таблице 3, а для разработанных безглютеновых снеков с применением пряности асафетида — в Таблице 4.

Таким образом, разработанные снеки обладают на 6,8% меньшей калорийностью по сравнению с контрольным образцом. Это достигается за счет снижения абсорбции жира при жарке во фритюре в 1,47 раза.

Результаты проведенного комплексного исследования безглютеновой мучной смеси, вкусо-ароматической пряности асафетида, готовых безглютеновых снеков показали принципиальную возможность создания специализированной безглютеновой продукции с использованием предложенных компонентов. Полученные данные являются основой для разработки технологических решений и научно-технической документации для производства обогащенных безглютеновых снеков. Они также открывают перспективы для дальнейших исследований различных видов безглютеновых мучных

Таблица 1. Содержание влаги и основных нутриентов в обогащенных готовых изделиях

Table 1. Content of moisture and basic nutrients in fortified finished products

Наименование показателя	Контроль (без добавок)	С добавлением пряности асафетида	С добавлением пищевых волокон	С добавлением пряности асафетида и пищевых волокон
Массовая доля влаги, %	7,6	6,8	4,8	12,0
Массовая доля липидов, %	12,28	10,52	13,08	12,25
Массовая доля белка, %	7,60	7,64	7,53	7,40
Массовая доля общего сахара, %	45,73	45,77	45,2	46,6

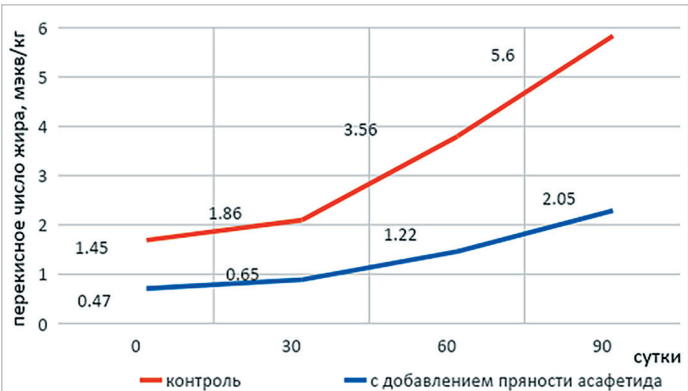


Рисунок 3. Динамика изменения перекисного числа жира при хранении готовых изделий

Figure 3. Dynamics of changes in the peroxide value of fat during storage of finished products

Таблица 2. Органолептическая оценка безглютеновых снеков

Table 2. Organoleptic evaluation of gluten-free snacks

Показатели качества	Контроль (без добавок)	С добавлением пряности асафетида	С добавлением пищевых волокон	С добавлением пряности асафетида и пищевых волокон
внешний вид	5	5	4	5
вкус	4	5	4	4
запах	3	5	4	5
цвет	3	5	3	4
текстура	4	4	4	4

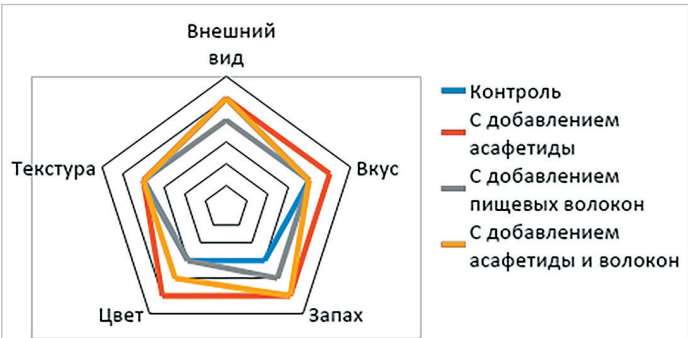


Рисунок 4. Профилограмма органолептических показателей изделий

Figure 4. Profilogram of organoleptic characteristics of products

Таблица 3. Пищевая и энергетическая ценность безглютеновых снеков (контроль)

Table 3. Nutritional and energy value of gluten-free snacks (control)

Пищевая и энергетическая ценность на 100 г					
Наименование изделия: безглютеновые снеки					
Наименование сырья	Вес нетто в г/100 г изделия	Пищевая ценность изделия			
		Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г	Энергетическая ценность, ккал
Мука рисовая	38,5	3,47	2,85	30,88	163,05
Мука нуттовая	12,9	1,41	0,37	8,51	43,01
Мука гороховая	12,9	2,71	0,26	6,32	38,46
Масло сливочное 78% жирности	1,70	0,01	1,33	0,02	12,09
Соль	0,2	0,00	0,00	0,00	0,00
Вода, мл	32,3	0,00	0,00	0,00	0,00
Масло для фритюра	7,83	0,00	7,83	0,00	70,47
ИТОГО без учета потерь при тепловой обработке		7,60	12,28	45,73	327,08

смесей и функциональных ингредиентов с целью расширения ассортимента сбалансированных мелкоштучных мучных изделий категории “gluten free”.

4. Выводы

Разработана и научно обоснована рецептура безглютеновых снеков на основе мучных композитных смесей, состоящих из безглютеновых видов муки, обогащенных пряностью асафетида с целью получения нового вида снеков, и в целом расширения ассортимента специализированной безглютеновой продукции.

Подтверждена возможность и доказана целесообразность использования пряности асафетида как вкусовой добавки и антиоксиданта фенолового типа.

Таблица 4. Пищевая и энергетическая ценность разработанного изделия

Table 4. Nutritional and energy value of the developed product

Пищевая и энергетическая ценность на 100 г					
Наименование изделия: безглютеновые снеки, обогащенные пряностью асафетида					
Наименование сырья	Вес нетто в г/100 г изделия	Пищевая ценность изделия			
		Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г	Энергетическая ценность, ккал
Мука рисовая	38,5	3,47	2,85	30,88	163,05
Мука нуттовая	12,9	1,41	0,37	8,51	43,01
Мука гороховая	12,9	2,71	0,26	6,32	38,46
Масло сливочное 78% жирности	1,70	0,01	1,33	0,02	12,09
Соль	0,2	0,00	0,00	0,00	0,00
Асафетида	0,2	0,02	0,02	0,02	0,34
Вода, мл	32,3	0,00	0,00	0,00	0,00
Масло для фритюра	5,31	0,00	5,31	0,00	47,79
ИТОГО без учета потерь при тепловой обработке		7,64	10,52	45,77	304,74

Установлено, что применение пряности асафетида в количестве 0,2% в производстве безглютеновых снеков способствует снижению содержания липидов в готовом изделии за счет уменьшения абсорбции жира полуфабрикатом при обжаривании примерно в 1,5 раза. Выявлено, что использование асафетиды также приводит к уменьшению калорийности продукта на 6,8% по сравнению с контролем и к замедлению процессов окисления, обеспечивая окислительную стабильность масла и увеличивая срок годности изделия.

Безглютеновые снеки с добавлением пряности асафетида продемонстрировали наиболее гармоничные органолептические показатели: внешний вид, цвет, вкус и запах. Суммарная оценка составила 24 балла, что значительно превышает оценку контрольного образца (19 баллов).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Эксперт вкуса (2018). Мировой рынок снековой продукции: ключевые тенденции. Электронный ресурс: https://www.sell-service.ru/index.php/home/blog/item/mirovoj-rynok-snekovoj-produkcii-klyuchevye-tendencii?category_id=36. Дата обращения: 25.12.2023 [Expert of taste (2018). World market of snack products: Key trends. Retrieved from https://www.sell-service.ru/index.php/home/blog/item/mirovoj-rynok-snekovoj-produkcii-klyuchevye-tendencii?category_id=36. Accessed December 25, 2023 (In Russian)]
2. Foodsmi (2024). Динамика рынка снекинга в России: есть ли потенциал? Электронный ресурс: <https://foodsmi.com/statistika-i-issledovaniya-/dinamika-rynka-snekinga-v-rossii-est-li-potentsial/>. Дата обращения: 13.04.2024 [Foodsmi (2024). Dynamics of the snacking market in Russia: Does it have potential? Retrieved from <https://foodsmi.com/statistika-i-issledovaniya-/dinamika-rynka-snekinga-v-rossii-est-li-potentsial/>. Accessed April 13, 2024 (In Russian)]
3. Food market news (2017). Развитие рынка безглютеновых хлебопекарных продуктов Электронный ресурс: <https://sfera.fm/articles/hlebopecheniya/razvitie-rynka-bezglutenovykh-khlebopekarnykh-produktov> Дата обращения: 25.12.2023 [Food market new (2017). Development of the market of gluten-free bakery products. Retrieved from <https://sfera.fm/articles/hlebopecheniya/razvitie-rynka-bezglutenovykh-khlebopekarnykh-produktov> Accessed December 25, 2023 (In Russian)]
4. Сковцов, В. В., Горбач, А. Н. (2019). Целиакия — важная проблема современной гастроэнтерологии. *Эффективная фармакотерапия*, 15(18), 60–66. [Skvortsov, V. V., Gorbach, A. N. (2019). Celiac disease is an important problem of modern gastroenterology. *Effective Pharmacotherapy*, 15(18), 60–66 (In Russian)] <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2019-15-18-60-66>
5. Быкова, С. В., Парфенов, А. И., Сабельникова, Е. А. (2018). Эпидемиология целиакии в мире. *Альманах клинической медицины*, 46(1), 23–31. [Bykova, S. V., Parfenov, A. I., Sabelnikova, E. A. (2018). Global epidemiology of celiac disease. *Almanac of Clinical Medicine*, 46(1), 23–31. (In Russian)] <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2018-46-1-23-31>
6. Al-Toma, A., Volta, U., Auricchio, R., Castillejo, G., Sanders, D. S., Cellier, C. et al. (2019). European Society for the Study of Coeliac Disease (EESCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European Gastroenterol Journal*, 7(5), 583–613. <https://doi.org/10.1177/2050640619844125>
7. Dubtsova, G. N., Kusova, I. U., Dubtsov, G. G., Vitol, I. V. (2021). Developing a recipe for gluten-free snacks. Chapter in a book: *Frontier Information Technology and Systems Research in Cooperative Economics. Studies in Systems, Decision and Control*, 2021. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57831-2_115
8. Скорнякова, В. В., Гутникова, О. Н. (08 ноября 2022). Особенности продвижения безглютеновой продукции на товарном рынке. *Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы современной науки, достижения и инновации*. Сборник научных статей по материалам IX Международной научно-практической конференции. Уфа, 2022. [Skorniyakova, V. V., Gutnikova, O. N. (November 8, 2022). *Specific features of promoting gluten-free products on the commodity market*. Basic and Applied Scientific Research: Topical Issues of Modern Science, Achievements and Innovations. Collection of the Scientific Papers on Materials of the 9th International Scientific and Practical Conference. Ufa, 2022. (In Russian)]
9. Гутникова, О. Н., Ярош, О. Б., Калькова, Н. Н. (2023). Безглютеновые продукты: восприятие потребителями функциональных свойств и особенностей маркировки. *Управленец*, 14(4), 87–99. [Gutnikova, O. N., Yarosh, O. B., Kalkova, N. N. (2023). Gluten-free products: Consumer perception of the functional properties and peculiarities of labelling. *The Manager*, 14(4), 87–99. (In Russian)] <https://doi.org/10.29141/2218-5003-2023-14-4-6>
10. El Khoury, D., Balfour-Ducharme, S., Joye, I. J. (2018). A Review on the Gluten-Free Diet: Technological and nutritional challenges. *Nutrients*, 10(10). Article 1410. <https://doi.org/10.3390/nu10101410>
11. Шалтумаев, Т. Ш., Могильный, М. П. (2016). Расширение ассортимента снековой продукции. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 4(352), 37–41. [Shaltumaev, T. Sh., Mogilny, M. P. (2016). Expansion of the range of snack products. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 4(352), 37–41. (In Russian)]
12. Padalino, L., Mastromatteo, M., Lecce, L., Spinelli, S., Conte, A., Del Nobile, M. A. (2015). Optimization and characterization of gluten-free spaghetti enriched with chickpea flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(2), 148–58. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.959897>
13. Тырсин, Ю. А., Казанцева, И. Л. (2015). Перспективы использования продуктов переработки нута в безглютеновой диете. *Вопросы детской диетологии*, 13(1), 5–10. [Tyrsin, Yu. A., Kazantseva, I. L. (2015). Potential of using processed chickpea products in a gluten-free diet. *Pediatric Nutrition*, 13(1), 5–10. (In Russian)]
14. Flores-Silva, P. C., Rodriguez-Ambriz, S. L., Bello-Pérez, L. A. (2015). Gluten-free snacks using plantain-chickpea and maize blend: Chemical composition, starch

- digestibility, and predicted glycemic index. *Journal of Food Science*, 80(5), C961–C966. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12865>
15. Arribas, C., Cabellos, B., Sánchez, C., Cuadrado, C., Guillamón E., Pedrosa, M. M. (2017). The impact of extrusion on the nutritional composition, dietary fiber and in vitro digestibility of gluten-free snacks based on rice, pea and carob flour blends. *Food Function*, 8(10), 3654–3665. <https://doi.org/10.1039/c7fo00910k>
 16. Patiño-Rodríguez, O., Agama-Acevedo, E., Pacheco-Vargas, G., Alvarez-Ramirez, J., Bello-Pérez, L.A. (2019). Physicochemical, microstructural and digestibility analysis of gluten-free spaghetti of whole unripe plantain flour. *Food Chemistry*, 298, Article 125085. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125085>
 17. Барсукова, Н. В., Решетников, Д. А., Красильников, В. Н. (2011). Пищевая инженерия: технологии безглютеновых мучных изделий. *Процессы и аппараты пищевых производств*, 1, 51–60. [Barsukova, N. V., Reshetnikov, D. A., Krasilnikov, V. N. (2011). Food engineering: Technology of gluten-free baked products. *Processes and Food Production Equipment*, 1, 51–60. (In Russian)]
 18. Huda, N., Lu, S., Jahan, T., Ding, M., Jha, R., Zhang, K. et al. (2021). Treasure from the garden: Bioactive compounds of buckwheat. *Food Chemistry*, 335, Article 127653. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127653>
 19. Sofi, S. A., Ahmed, N., Farooq, A., Rafiq, S., Zargar, S. M., Kamran, F. et al. (2022). Nutritional and bioactive characteristics of buckwheat, and its potential for developing gluten-free products: An updated overview. *Food Science Nutrition*, 11(5), 2256–2276. <https://doi.org/10.1002/fsn.3166>
 20. Музыкин, И. Л., Лаврова, Л. Ю., Ермаков, С. А., Борцова, Е. Л. (2023). Моделирование органолептических показателей качества рецептуры нутевого хлеба с добавлением псиллиума. *Хлебопродукты*, 8, 44–48. [Muzyukin, I. L., Lavrova, L. Yu., Ermakov, S. A., Bortsova, E. L. (2023). Modeling of organoleptic quality indicators recipes for chickpea bread with the addition of psyllium. *Khleboprodukty*, 8, 44–48. (In Russian)]
 21. Резниченко, И. Ю., Бородулин, Д. М., Пикулина, Н. С. (2020). Разработка рецептуры и оценка качества безглютенового мучного изделия. *Ползуновский вестник*, 2, 82–86. [Reznichenko, I. Yu., Borodulin, D. M., Pikulina, N. S. (2020). Development of a recipe and assessment of the quality of a gluten-free flour product. *Polzunovskiy Vestnik*, 2, 82–86. (In Russian)]
 22. Никитин, И. Н., Никитина, М. А., Иванова, Н. Г., Березина, Н. А. (2019). Разработка хлебобулочных изделий на основе композитных смесей для геродиетического питания с учетом предрасположенности к нарушениям косного метаболизма. *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*, 1, 34–43. [Nikitin, I. N., Nikitina, M. A., Ivanova, N. G., Berezina, N. A. (2019). Development of bakery products on the basis of flour composite mixtures for herodietic food with regard to predisposition to disturbances of bone metabolism. *Technology and Merchandising of the Innovative Foodstuff*, 1, 34–43. (In Russian)]
 23. Poshadri, A., Deshpande, H. W., Machewad, G. M., Kshirsagar, R. B., Gadhe, K. S., Kadam, S. D. (2023). Functional properties of selected composite gluten-free pseudocereals flour. *Food and Humanity*, 1, 1200–1205. <https://doi.org/10.1016/j.fooHum.2023.09.015>
 24. Dogruer, I., Coban, B., Baser, F., Gulec, S., Ozen, B. (2023). Techno — functional and in vitro digestibility properties of gluten-free cookies made from raw, pre-cooked, and germinated chickpea flours. *Foods*, 12(15), Article 2829. <https://doi.org/10.3390/foods12152829>
 25. Половцева, А. А., Наумцев, О. Н., Борисова, А. В. (2020). Использование кукурузной, рисовой и амарантовой муки в рецептуре безглютеновых кексов. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 1(373), 48–51. [Polovtseva, A. A., Naumtsev, O. N., Borisova, A. V. (2020). Use of corn, rice and amaranth flour in gluten-free cupcakes recipes. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 1(373), 48–51. (In Russian)] <http://doi.org/10.26297/0579-3009.2020.1.13>
 26. Yeşil, S., Levent, H. (2022). The influence of fermented buckwheat, quinoa and amaranth flour on gluten-free bread quality. *LWT-Food Science and Technology*, 160, Article 113301. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113301>
 27. Парахина, О. И., Савкина, О. А., Кузнецова, Л. И., Гаврилова, Т. А. (2024). Разработка и применение смеси мучной безглютеновой в технологии специализированных хлебобулочных изделий для детского питания. *Хлебопродукты*, 1, 26–34. [Parakhina, O. I., Savkina, O. A., Kuznetsova, L. I., Gavrilova, T. A. (2024). Development and application of gluten-free flour mixture in the technology of specialized bakery products for baby food. *Khleboprodukty*, 1, 26–34. (In Russian)] <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2024-33-1-26-34>
 28. Нечаев, А. П., Траубенберг, С. Е., Кочеткова, А. А., Колпакова, В. В., Витол, И. С., Кобелева, И. Б. (2006). Пищевая химия. Лабораторный практикум. СПб: ГИОРД, 2006. [Nechaev, A. P., Traubenber, S. E., Kochetkova, A. A., Kolpakova, V. V., Vitol I. S., Kobleleva I. B. (2006). Food chemistry. Laboratory practice. St. Petersburg: GIOR, 2006. (In Russian)]
 29. Колпакова, В. В., Фан, К. Ч., Чумикина, Л. В., Васильев, А. В., Арапова, Л. И., Топунов, А. Ф. (2013). Функциональные свойства зерновых белков, гидролизированных ферментными препаратами. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 1(331), 47–50. [Kolpakova, V. V., Fan, K. Ch., Chumikina, L. V., Vasiliev, A. V., Arabova, L. I., Topunov, A. F. (2013). Functional properties of hydrolyzed cereal proteins by enzyme preparations *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 1(331), 47–50. (In Russian)]
 30. Гребенникова, И. В. (2015). Методы математической обработки экспериментальных данных. — Екатеринбург: Уральский Федеральный Университет, 2015. [Grebennikova, I. V. (2015). Methods of mathematical processing of experimental data. Ekaterinburg: Ural Federal University, 2015. (In Russian)]
 31. Попов, В. Г., Хайруллина, Н. Г., Садыкова, Х. Н. (2021). Тенденции использования безглютеновых видов муки в производстве продукции функционального назначения. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 83(1), 121–128. [Popov, V. G., Hairullina, N. G., Sadykova, H. N. (2021). Trends in the use of gluten-free flours in the production of functional products. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 83(1), 121–128. (In Russian)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-1-121-128>
 32. Amalraj, A., Gopi, S. (2016). Biological activities and medicinal properties of Asafoetida: A review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(3), 347–359. <https://doi.org/10.1016/j.jtcm.2016.11.004>
 33. Sonigra, P., Meena, M. (2021). Metabolic profile, bioactivities, and variations in the chemical constituents of essential oils of the Ferula Genus (Apiaceae). *Frontiers Pharmacology*, 11, Article 608649. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.608649>
 34. Базарнова, Ю. Г., Поляков, К. Ю. (2009). Исследование антиоксидантной активности природных веществ. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 31–36. [Bazarnova, Yu. G., Polyakov, K. Yu. (2009). Investigation of antioxidative activity of natural substances. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 31–36. (In Russian)]
 35. O'Brien, R. D. (2009). *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, Third Edition. 2009. <https://doi.org/10.1201/9781420061673>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Дубцова Галина Николаевна — доктор технических наук, профессор, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биорганического синтеза», Российский биотехнологический университет 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел.: +7-915-424-23-82 E-mail: doubtsova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6520-394X	Galina N. Dubtsova , Doctor of Technical Sciences, Professor, Department of Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products, Russian Biotechnological University 11, Volokolamskoe shosse, 125080, Moscow, Russia Tel.: +7-915-424-23-82 E-mail: doubtsova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6520-394X
Витол Ирина Сергеевна — кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * автор для контактов	Irina S. Vitol , Candidate of Biological Sciences, Docent, Senior Researcher, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, 127434, Moscow, Russia Tel.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * corresponding author
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-231-237>

Поступила 05.04.2024

Поступила после рецензирования 13.05.2024

Принята в печать 17.05.2024

© Петрунина И. В., Горбунова Н. А., 2024



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

Обзорная статья

Open access

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИ ЭКОНОМИКИ ЗАМКНУТОГО ЦИКЛА В ОТДЕЛЬНЫХ ОТРАСЛЯХ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА

Петрунина И. В.,* Горбунова Н. А.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

циркуляционная экономика, экология, природные ресурсы, отходы, пищевая промышленность

Пищевая промышленность, от сельскохозяйственного производства до внутреннего потребления продукции, ежегодно образует большое количество отходов, что приводит к загрязнению почвы, воды и воздуха. Отходы, полученные при переработке сельскохозяйственного сырья, а также при использовании вспомогательных материалов (таких как добавки, отдельные химические компоненты, топливо и прочее) усиливают воздействие пищевой цепи на окружающую среду, что приводит к истощению природных ресурсов. В последние годы производственные отрасли экономики, включая агропромышленный комплекс, пытаются поддерживать баланс между своим воздействием на окружающую среду, использованием ресурсов, благосостоянием населения и экономическими выгодами. Эта тенденция стимулирует интенсивное развитие теории циркулярной (циклической) экономики, или экономики замкнутого цикла (ЭЗЦ), и способствует поиску методов ее реализации в реальной экономической системе. В статье обобщены основные особенности, присущие циркулярной экономике: усиленный контроль запасов ограниченных природных ресурсов и соблюдения устойчивого баланса возобновляемых ресурсов; оптимизация процессов потребления путем разработки и использования продукции, комплектующих и материалов, отвечающих самому высокому уровню их повторного использования; выявление и предотвращение негативных внешних эффектов текущей производственной деятельности с целью повышения эффективности экономической и экологической систем. При этом, несмотря на то, что концепция циркуляционной экономики была сформулирована несколько десятилетий назад, ее исчерпывающее определение все еще является предметом дискуссий. Неоднозначность имеющихся определений показывает, что понятие экономики замкнутого цикла имеет разное значение для заинтересованных сторон. В статье рассмотрены несколько аспектов использования элементов ЭЗЦ в отдельных отраслях агропромышленного комплекса, в том числе в мясной промышленности. В данной работе особое внимание уделяется внедрению современных технологий и оборудования для эффективной переработки отходов растениеводства, животноводства и мясного производства с целью их вовлечения в хозяйственный оборот. Отдельно рассмотрены экологические проблемы, возникающие в ходе деятельности предприятий пищевой и перерабатывающей промышленности, а также установлены возможности решения этих проблем путем внедрения модели циркулярной экономики. Выявлены риски и барьеры, препятствующие переходу России к модели циркулярной экономики. Авторами предложены мероприятия и направления научных исследований, нацеленных на разработку и внедрение элементов ЭЗЦ в мясном подкомплексе, включая связанные с ним отрасли АПК.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию НИР FGUS-2024–0001 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 05.04.2024

Accepted in revised 13.05.2024

Accepted for publication 17.05.2024

© Petrunina I. V., Gorbunova N. A., 2024

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

Review article

Open access

USING THE MODEL OF CLOSED-LOOP ECONOMY IN CERTAIN BRANCHES OF THE AGRO-INDUSTRIAL COMPLEX

Irina V. Petrunina,* Nataliya A. Gorbunova

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

KEY WORDS:

circular economy, ecology, natural resources, waste, food industry

ABSTRACT

From agricultural production to domestic consumption of products, the food industry produces huge amounts of waste every year, which leads to contamination of soil, water and air. Waste created upon processing agricultural raw materials and using auxiliary materials, such as additives, certain chemical components, fuel and so on, enhances an impact of the food chain on the environment leading to depletion of natural resources. In the last few years, production branches of economy, including the agro-industrial complex, have made attempts to maintain the balance between their impact on the environment, the use of resources, well-being of the population and economic benefits. This trend stimulates the intensive development of the theory of circular (cyclic) economy or closed-loop economy and facilitates a search for methods of its realization in the real economic system. The paper summarizes the main specific features typical of circular economy: strengthened control of supply of limited natural resources and maintenance of the stable balance of renewable resources; optimization of consumption processes by development and use of products, components and materials that correspond to the highest level of their reuse; detection and prevention of negative external effects of current production activities to increase efficiency of the economic and ecological systems. With that, despite the fact that the concept of circular economy was formulated several decades ago, its comprehensive definition is still a subject of discussions. Ambiguity of the existing definitions shows that the concept of closed-loop economy has different meaning for stakeholders. The paper examines several aspects of using elements of closed-loop economy in certain branches of the agro-industrial complex, including the meat industry. A special attention in this work is given to the introduction of modern technologies and equipment for efficient processing of waste from crop husbandry, animal husbandry and meat production to include it into the economic turnover. In addition, ecological problems arising in the course of activities of enterprises of the food and processing industries are examined and the possibilities of solving these

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Петрунина, И. В., Горбунова, Н. А. (2024). Использование модели экономики замкнутого цикла в отдельных отраслях агропромышленного комплекса. *Пищевые системы*, 7(2), 231–237. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-231-237>

FOR CITATION: Petrunina, I. V., Gorbunova, N. A. (2024). Using the model of closed-loop economy in certain branches of the agro-industrial complex. *Food Systems*, 7(2), 231–237. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-231-237>

problems by introduction of the model of circular economy have been established. Risks and barriers preventing transition of Russia to the model of circular economy have been revealed. The authors propose measures and directions of scientific research aimed at the development and introduction of elements of closed-loop economy in the meat sub-complex, including related branches of the agro-industrial complex.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. № FGUS-2024-0001 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Государства, входящие в Евразийский экономический союз (ЕАЭС), в декабре 2020 года определили Стратегические направления развития своей экономической интеграции на период до 2025 года. Одной из мер по реализации этих задач является внедрение моделей циркулярной экономики при осуществлении технического регулирования в рамках ЕАЭС в целях повышения энергоэффективности и ресурсосбережения¹.

В последние годы производственные отрасли экономики стремятся к поддержанию баланса между экономической выгодой, благосостоянием населения и сохранением окружающей среды. Эта тенденция вызвала интенсивное развитие теории циркулярной (циклической) экономики, или экономики замкнутого цикла, и способствовала поиску методов ее реализации в реальной экономической системе.

Циклическая экономика возникла в процессе эволюции классической модели линейной экономики, она направлена на обеспечение более эффективного потребления ресурсов и на их сбережение. На смену принципу классической линейной экономики «производство — использование — утилизация» на современном этапе развития технологий пришел принцип экономики замкнутого цикла: «производство — использование — регенерация — повторное использование» [1].

К основным факторам, вызвавшим необходимость перехода от принципов классической экономики к циркуляционной, можно отнести обеспечение эффективного ресурсопотребления и ресурсосбережения ввиду ограниченности и ценности природных ресурсов. Разработка и совершенствование новых промышленных технологий и управленческих практик позволяют сократить количество отходов, образующихся в процессе производства, без вреда для окружающей среды. Кроме того, принципы циркуляционной экономики способствуют обеспечению экологической устойчивости для преодоления последствий изменения климата, включая антропогенное воздействие [2,3].

Таким образом, реализация принципов циркулярной экономики направлена на сокращение негативного воздействия на окружающую среду при одновременном улучшении экономических и социальных показателей. В настоящее время большинство развитых и развивающихся стран широко используют меры государственного регулирования в целях перехода к модели циркулярной экономики (МЦЭ) [4].

Наиболее системное применение принципов циркулярной экономики наблюдается в Европейском Союзе, где реализуется План действий по экономике замкнутого цикла. Этот план направлен на формирование в Европе более экологически чистой и конкурентоспособной среды. Указанный План принят в рамках двух других инициатив ЕС в области устойчивого развития — «Зеленой сделки» и «Новой промышленной стратегии», предусматривающих рациональное использование природных ресурсов и достижение климатической нейтральности к 2050 году [5].

В настоящее время развитию экономики замкнутого цикла в России придается важное значение на государственном уровне. Подтверждением этого вывода является принятие Правительством РФ перечня из 42 стратегических инициатив социально-экономического развития страны, которые будут реализовываться в форме федеральных проектов в два этапа — до 2024 года и до 2030 года включительно [6].

В целом экономику замкнутого цикла характеризует деятельность, позволяющая сокращать объемы используемых материалов, осуществлять их повторное применение и переработку в ходе производства, распределения и потребления различных видов продукции [7,8].

В настоящее время необходимо значительно усилить экологический контроль за состоянием окружающей среды в целях снижения риска истощения многих природных ресурсов. Помимо других отрицательных последствий, непринятие должных мер в этих вопросах грозит существенной нехваткой продовольствия для населения многих регионов. Указанную проблему можно решать разными способами, а не только путем максимального увеличения мощности технических средств, используемых для переработки сельскохозяй-

ственного сырья и для производства продукции. В данном случае речь не идет об отказе от определенных видов промышленной деятельности. Предлагается сделать акцент на широком внедрении научно-технических достижений в агропромышленном комплексе и природоохранной сфере, привлекая для этого необходимые интеллектуальные и материальные ресурсы [9].

Цель исследования — представить основные принципы циркулярной экономики в контексте продовольственной системы и оценить эффективность применения модели экономики замкнутого цикла в различных отраслях агропромышленного комплекса, ориентированных на производство продуктов питания.

2. Материалы и методы

Теоретической и методической основой исследования являлись систематизированные (обобщенные) данные из научных статей, опубликованных на английском и русском языках в период с января 2014 года по февраль 2024 года в базах данных Scopus, Google Scholar, Science Direct, eLibrary и РИНЦ. Дополнительно были использованы данные Федеральной службы государственной статистики, а также официальные законодательные и нормативные акты государственных органов РФ и специализированных организаций, регулирующие применение принципов экономики замкнутого цикла в пищевой промышленности с целью максимизации ее ресурсоемкости.

Методика расширенного литературного поиска, использованная для проведения исследования, состояла из двух этапов. На первом этапе был проведен поиск литературы с целью сбора репрезентативных исследований для достижения цели данной статьи; второй этап включал в себя процесс отбора источников, выполненный путем анализа названия и аннотации каждой публикации по ключевым словосочетаниям и фразам: «циркуляционная экономика», связанная с терминами «пищевая цепочка», «сельскохозяйственные и пищевые отходы», «валоризация отходов», «переработка пищевого сырья», «продовольственная система», «ресурсосбережение», «устойчивое развитие».

Первоначально были отобраны документы, описывающие инструменты для анализа цикличности системы и оценки эффективности циркулярных стратегий. Затем внимание было сосредоточено на внедрении стратегий циркуляционной экономики в продовольственной системе, а также на анализе документов, в которых предлагаются и/или оцениваются показатели для измерения эффективности циркулярности в продовольственном секторе.

Для завершения окончательной выборки и отбора статей использовался метод «снежного кома», то есть метод вероятностной (цепной) выборки. В частности, список ссылок или цитат документа был использован для выявления дополнительных публикаций. Во внимание принимались только те документы, в которых был представлен подробный анализ, четко ориентированный на парадигму использования ЭЦЦ применительно к определенным аспектам продовольственной системы. Поиск литературы и нарастание «снежного кома» велись до тех пор, пока новые взаимосвязи и информация не перестали находиться. В результате исследования было отобрано 97 статей для рецензирования, и «снежный ком» завершил набор включением 52 документов. Дубликаты отсеивались и не рассматривались.

В данном исследовании предпринята попытка преодолеть имеющийся пробел в адаптации теоретической базы функционирования принципов циркуляционной экономики (экономики замкнутого цикла) к области агропродовольственного производства: 1) путем адаптации общей структуры и моделей циркуляционной экономики к особенностям сельскохозяйственного и продовольственного сектора; 2) путем сбора имеющихся в настоящее время показателей и индикаторов, а также с помощью анализа их сферы применения для оценки эффективности систем замкнутого цикла агропродовольственного производства.

3. Трактовка понятия «циркулярная экономика»

Становление циркулярной экономики как научно обоснованной концепции происходило в несколько этапов, начиная с 1970 года. В качестве ранних наиболее емких исследований методов и условий перехода к модели циркулярной экономики следует отметить Уол-

¹ Решение Высшего совета Евразийского экономического союза от 11.12.2020 № 12 «О Стратегических направлениях развития евразийской экономической интеграции до 2025 года».

тера Стахеля [10,11] и Эллен Маккартур, которая основала фонд The Ellen MacArthur Foundation, специализирующийся на концептуальных исследованиях в этой области [10,12,13].

Несмотря на то, что концепция циркуляционной экономики была сформулирована несколько десятилетий назад, ее определение и концептуализация до сих пор остаются открытым вопросом [14]. Авторы Kirchherr et al. обнаружили 114 различных определений экономики замкнутого цикла в рецензируемых статьях, программных документах и консультационных отчетах [15]. Разнообразие этих определений показывает, что понятие ЭЗЦ имеет разное значение для разных заинтересованных сторон. Несмотря на то, что большинство определений описывают ЭЗЦ как применение принципов 3R (сокращение, повторное использование, переработка), некоторые из них не учитывают необходимость системных изменений. Кроме того, во многих определениях не подчеркивается роль бизнес-моделей и потребителей в качестве агентов ЭЗЦ. Одним из ключевых недостатков большинства существующих показателей циркулярности [14,16] является то, что лишь немногие эксперты учитывают связь концепции ЭЗЦ с устойчивым развитием во всех трех измерениях — в социальном, экономическом и экологическом [15].

Отдельными исследователями ЭЗЦ определяется в виде возобновляющейся промышленной системы. Такая система должна предусматривать переработку сырья и материалов с обеспечением быстрого устранения отходов и других возможных негативных последствий, возникающих в процессах производства, распределения и потребления. Это достигается путем внедрения усовершенствованных технологий, оборудования, инноваций [6,17].

Несмотря на большое разнообразие мнений по трактовке понятия «циркулярная экономика», целесообразно выделить следующие ее признаки:

- усиление контроля за использованием природных ресурсов с одновременным созданием условий для их постоянного возобновления;
- оптимизация процессов потребления, в том числе с применением продукции и материалов, позволяющих обеспечить их повторное использование;
- выявление и оперативное предотвращение различных негативных последствий производственной деятельности [13].

Использование этих подходов в мясной отрасли означает реализацию возможностей создания полностью замкнутых технологических циклов по переработке не только всех видов сырья, но и возникающих при этом отходов (Рисунок 1).

Следует также отметить, что основные принципиальные положения МЦЭ могут быть выражены в виде особой экономической стратегии, предлагающей инновационные способы преобразования линейной экономической системы, последняя, в свою очередь, базируется на весьма спорном предположении, что многие природные ресурсы легкодоступны и/или возобновляемы, а способы утилизации отходов производства не требуют новаторских решений [18].

Очевидно, что преимущественное использование современных научно-технических достижений будет иметь главное значение для уско-

рения процессов замены линейной модели экономики. В связи с этим многие научные исследования подчеркивают важность практической реализации концепции ЭЗЦ через внедрение наилучших доступных технологий в различных отраслях. Дальнейшее развитие экономики замкнутого цикла неразрывно связано с этим процессом. В первую очередь это относится к сфере производства и потребления [2].

4. Учет экологических факторов при внедрении модели циркулярной экономики

Совокупность многих фактических данных показывает, что производство продовольствия стало существенным фактором глобального изменения окружающей среды не в лучшую сторону. Это связано с рядом негативных процессов, происходящих при земледелии (внесение азота, фосфора, гербицидов и пестицидов), водопользовании (безвозвратное изъятие водных ресурсов), при загрязнении воздуха и сокращении биоразнообразия [19].

Агропродовольственный сектор всегда был одним из основных источников потерь сырья и образования отходов, особенно при переработке сырья на промышленном уровне [20,21]. Это производство влечет за собой экологические, экономические и социальные последствия, влияющие на устойчивость цепочек поставок агропродовольственного производства. Растрата ресурсов приводит к дополнительному потреблению воды и энергии, вызывая выбросы парниковых газов и влияя на глобальное изменение климата [22]. Производство отходов влечет за собой экономические потери для производителей, поскольку они не в состоянии превратить свои инвестиции в сырье и оборудование в прибыль. С социальной точки зрения растрата ресурсов означает сокращение доступности безопасных продуктов питания, способствуя глобальному голоду [23].

Циклическое движение органических материалов позволяет возвращать их в окружающую среду без заметного вреда для нее. Таким образом, внедрение замкнутых процессов при производстве продукции, осуществляемых путем повторного использования, переработки и модифицирования указанных материалов, позволяет более рационально распоряжаться природными и иными ресурсами [24].

Для изучения взаимосвязей между окружающей средой и продовольственной системой применяются специальные разработанные индикаторы экологической устойчивости. В основном они учитывают объемы выбросов парниковых газов, влияние различных технологий землепользования, размеры потребления продуктов и уровень энергетических затрат [25]. В этой связи следует обратить внимание, что для производства мяса требуется значительно большее количество энергии, чем для продуктов питания на растительной основе. Поэтому многие зарубежные эксперты считают, что сокращение потребления мяса значительно снизило бы объем выбросов парниковых газов в продовольственной системе [26].

Следует также отметить, что включение экологических требований в тендерную документацию является важным стимулом развития рынка «зеленых» товаров и услуг, учитывая, что государственные закупки составляют значительную долю национального ВВП (12% в странах ОЭСР и до 30% в развивающихся странах) [27].

В Российской Федерации предпринимаются шаги по увеличению финансирования проектов, связанных с обращением с отходами. Но эти расходы существенно ниже по сравнению с размерами капиталовложений на введение новых мощностей по переработке отходов, полигонов для их размещения и предприятий, занимающихся сжиганием мусора. Некоторые эксперты считают, что для изменения ситуации необходимо существенно увеличить сумму экологического сбора. Для многих производителей уплата сбора оказывается экономически выгоднее по сравнению с организацией сбора и передачи отходов на переработку или утилизацию [28].

Однако следует отметить, что с учетом богатого природно-ресурсного потенциала России экономические и экологические выгоды от применения и масштабирования циклических бизнес-моделей могут стать несопоставимо крупнее. Поскольку наилучшей стратегией борьбы с пищевыми отходами является профилактика. По возможности пищевая промышленность должна внедрять системы, методы и технологии, направленные на предотвращение их производства с самого начала цепочки поставок [29].

Для ускорения решения этих вопросов могут быть предприняты меры самого различного характера. Главным образом необходимо обеспечить более активное участие соответствующих государственных структур, научных организаций и заинтересованных предпринимателей для стимулирования технологического обновления, увеличения финансирования циркулярных проектов и, как следствие, для существенного повышения конкурентоспособности отечественной продукции на мировых рынках [30].

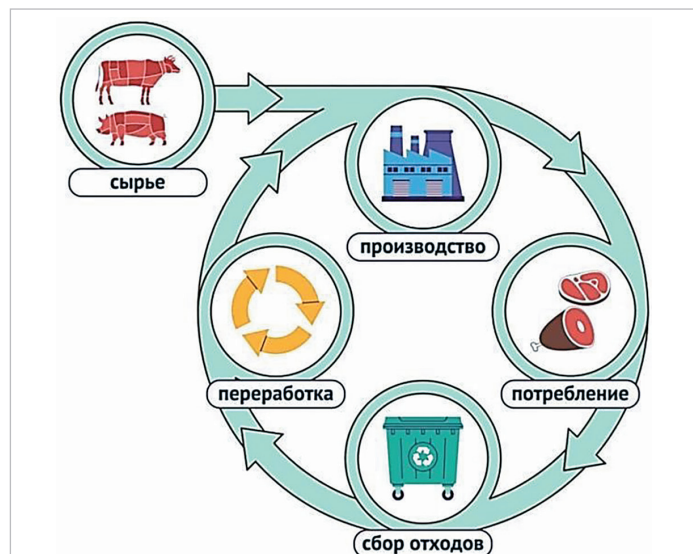


Рисунок 1. Обобщенная схема процессов циркулярной экономики в мясной отрасли

Figure 1. Generalized scheme of the processes of circular economy in the meat industry

Тем более, что на современном этапе развитие страны последовательно держат курс на замыкание производственных цепей и стимулирование осознанного отношения к окружающей среде и потреблению. Это связано с тем, что переход к циркулярной экономике открывает множество возможностей для повышения эффективности использования ресурсов в агропродовольственной системе, что в свою очередь положительно скажется на продовольственной безопасности [31].

5. Циркулярная экономика и продовольственные системы

Сочетание роста населения и повышения благосостояния во многих странах привело к быстрому совокупному увеличению как предложений, так и объема потребления продуктов животного происхождения на душу населения. Для снижения нагрузки на окружающую среду ключевое значение приобретают технологические достижения и процессы повышения эффективности производства, позволяющие производить больше продовольствия с меньшим воздействием на единицу продукции [32].

По расчетам некоторых экспертов, примерно треть продуктов питания, производимых для потребления человеком, либо теряется, либо растрачивается впустую. Неэффективное потребление указанных продуктов приводит к значительному ущербу окружающей среде: от непосредственного ее загрязнения до потери товара и энергии, необходимой для его производства [33].

С учетом этих обстоятельств во многих странах существенно возрос интерес к поиску новых способов обеспечения продовольственной безопасности и ресурсосбережения. Также значительно увеличилось число сторонников парадигмы устойчивого развития, предусматривающей в том числе разработку и принятие серьезных мер по сокращению потерь продуктов питания, что предполагает использование в продовольственных системах принципов экономики замкнутого цикла. В частности, рекомендуется внедрять технологии, направленные на сокращение потерь питательных веществ путем повышения уровня их извлечения из различных органических остатков и последующего повторного использования в сельскохозяйственном производстве [25, 34]. Таким образом, круговорот питательных веществ в системе питания может быть замкнут полностью или частично за счет более полного использования продуктов питания и утилизации побочных продуктов и отходов. Как показала практика, минимизация образования излишков продуктов питания и отходов способствует снижению общего потребления ресурсов в экономике [35].

Следует также отметить, что продовольственный сектор считается весьма актуальным примером такой цепочки поставок, в которой переход к устойчивому развитию и изменению практик управления отраслью становятся особенно важными для преодоления последствий изменения климата. Речь идет о внедрении инноваций с использованием альтернативных стратегий для снижения нагрузки на природную среду и с целью решения социальных проблем посредством различных схем и инициатив в области производства, маркетинга, маркировки, аккредитации в цепочке поставок [36].

Что касается сельского хозяйства, то, по оценочным данным в этой сфере, каждый год образуется примерно 500 млн тонн различных отходов. С их переработкой имеется целый ряд серьезных проблем. В той или иной степени их решение намечено Стратегией развития промышленности по обработке, утилизации и обезвреживанию отходов производства и потребления до 2030 года². В результате реализации данной Стратегии ожидается, что уровень переработки отходов достигнет 80%. В настоящее время этот показатель не превышает 10 процентов [37].

Данные анализа уровня образования отходов в пищевой промышленности и сельскохозяйственной деятельности в Российской Федерации представлены на Рисунке 2.

Однако в продовольственном секторе наблюдается некоторая неопределенность с точки зрения обеспечения стабильных инноваций и использования управленческих практик, ориентированных на устойчивое развитие. Это связано с тем, что на всех этапах производства и реализации разных видов продовольственных товаров возникают особенности. К ним, например, относятся такие факторы, как волатильность цен, различный уровень интеграции среди товаропроизводителей, а также определенная зависимость от импортных поставок [30].

На основании разновидностей базовых бизнес-моделей циркулярной экономики, их описаний и назначений определены три модели,



Рисунок 2. Удельный вес отходов по отдельным отраслям Российской Федерации

Figure 2. Share of waste by certain industries of the Russian Federation

которые можно использовать в сельском хозяйстве и в перерабатывающих отраслях АПК [4]. Для них характерна минимизация потребления первичного сырья и объемов перерабатываемых ресурсов, которая сопровождается снижением отходов, направляемых на захоронение.

6. Особенности применения принципов экономики замкнутого цикла в пищевой промышленности Российской Федерации

6.1. Повышение ценности побочного сырья и отходов мясной отрасли

В мясной промышленности имеется несколько проблем, решение которых также может быть ускорено при внедрении отдельных элементов ЭЦ. Это касается в первую очередь подхода к внедрению современных технических и инновационных решений на крупных предприятиях по переработке мясного сырья и по производству готовой продукции [30]. Данный подход основан на создании и внедрении мало- и безотходных технологий, которые позволяют получать новые виды продуктов с улучшенной пищевой и биологической ценностью, а также значительно снижать негативное воздействие на окружающую среду [38].

Во многих странах уровень потребления мяса на протяжении нескольких лет стабильно увеличивался, одновременно заметно снизился спрос на такие ценные продукты, как кровь и субпродукты. Ранее они более широко использовались для самых различных целей. При этом побочные продукты в мясных отходах составляют около 60–70% от забитой туши. Из них почти 40% являются съедобными и 20% несъедобными [39].

Пищевые отходы и побочные продукты (как съедобные, так и несъедобные) предлагается разделять по источникам их происхождения и по возникновению на разных этапах поставок продовольствия. В зависимости от типа пищевых отходов они могут иметь различное назначение. Например, при хорошем сохранении съедобных частей их целесообразно перенаправить для потребления человеком, а в случае их низкого качества они могут быть отправлены на переработку для последующего использования в животноводстве или для иных целей [40].

Ввиду включения побочных продуктов и биомассы с пастбищ (кормов с низкой альтернативной стоимостью) в продовольственную систему сельскохозяйственные животные могут сыграть решающую роль в обеспечении человечества продовольствием. Предварительные оценки показывают, что данный подход может обеспечить до трети суточной потребности среднестатистического человека в белке (9–23 г из необходимых 50–60 г) [41], при этом не требуется задействовать дополнительные пахотные земли, поскольку они используются для производства продуктов питания, а не кормовых культур.

В отличие от растительных отходов, утилизация побочного сырья мясной промышленности связана с серьезными санитарными ограничениями, так как некоторые из них могут представлять повышенную опасность как для окружающей среды, так и для здоровья человека. В связи с этим отрасль нуждается в современных решениях проблемы утилизации данных отходов. Применяются инновационные технологии, направленные на повышение ценности побочного сырья (субпродуктов) и отходов. Эти технологии позволяют, в частности, обеспечить получение активных молекул в питании (биоактивные пептиды), повысить безопасность пищевых продуктов (антимикробные пептиды).

² Распоряжение Правительства РФ от 25.01.2018 № 84-р «Об утверждении Стратегии развития промышленности по обработке, утилизации и обезвреживанию отходов производства и потребления на период до 2030 года» (ред. от 13.10.2022).

Следует также упомянуть о возможности использования топлового жира в косметическом производстве, а жирных кислот — в целом ряде химических процессов при осуществлении различных видов деятельности [39].

Что касается снижения отдельных видов потерь, то в мясном животноводстве они главным образом возникают в процессе выращивания скота. Этому способствует целый ряд причин, которые в основном носят субъективный характер. В их число входят нарушения режима кормления, технологической дисциплины, санитарно-гигиенических требований [42,43].

На практике определенные побочные продукты убоя и животноводческие отходы во многих случаях используются в качестве удобрения сельскохозяйственных культур. Но есть и другой вариант: сначала скармливать соответствующие виды побочных продуктов сельскохозяйственным животным для производства мясных продуктов, а затем перерабатывать экскременты животных в удобрения, поддерживая качество почвы и повышая урожайность культур [44]. Подсчитано, что изменения в методах производства продуктов питания животного происхождения могут сократить выбросы парниковых газов в сельском хозяйстве к 2050 году примерно на 10% [19].

Разработка технологических сельскохозяйственных систем (в которых результат одного процесса служит исходным материалом для другого в практически бесконечном цикле взаимодействия различных отраслей промышленности) является одним из способов вовлечения и удержания сельскохозяйственного сырья и дополнительных ресурсов в замкнутом цикле.

На Рисунке 3 представлены основные направления использования растениеводческого и животноводческого сырья и отходов в промышленных отраслях.

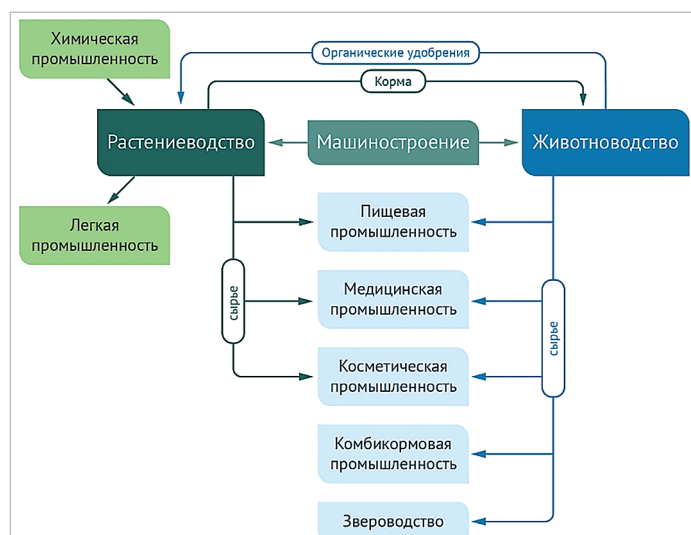


Рисунок 3. Использование сельскохозяйственного сырья и отходов в замкнутом цикле

Figure 3. Use of agricultural raw materials and waste in the closed-loop cycle

Значительные объемы пищевых потерь обусловлены проблемами в производственно-сбытовых цепочках продовольственного сектора АПК. Они остаются нерешенными длительное время из-за недостаточного прогресса как в законодательной сфере, так и в научно-производственной деятельности [45].

6.2. Оценка рисков внедрения МЦЭ в пищевой промышленности

Переход к элементам циркулярной экономики практически всегда требует не только значительных организационных усилий, но и существенных финансовых затрат, включая дополнительные инвестиции в производство и модернизацию оборудования. Очевидно, что указанные факторы не способствуют внедрению принципов ЭЗЦ, поэтому для стимулирования этих процессов необходимо соответствующее вмешательство государственных структур, включая корректировку законодательства [46].

Подводя итоги рассмотрения основных практических подходов к внедрению модели циркулярной экономики и возникающих при этом проблем, отметим следующие аспекты.

Основной целью внедрения МЦЭ является построение экономической системы, являющейся в своей основе восстановительной и воспроизводящей. Речь идет о системе, которая не только рационально

использует природные и другие ресурсы для долгосрочного экономического развития, но и стремится к сокращению отходов и к минимизации негативного воздействия на окружающую среду [47].

Переход к этой модели требует от бизнес-сообщества определенной мировоззренческой трансформации. Пока же этот переход нередко рассматривается предпринимателями лишь как дополнительный источник издержек. Тем не менее стремление снизить зависимость глобальной экономики от углеводородного сырья, а также растущие требования к повышению прозрачности бизнес-процессов, постепенно стимулируют переход к более устойчивым методам производства и к формированию ответственного отношения к ресурсам. Кроме того, переход к МЦЭ может быть связан не только с дополнительными затратами, но и с новыми возможностями создания целого ряда прибыльных проектов [27].

В России для успешного перехода к модели циркулярной экономики следует опираться в первую очередь на собственные возможности и учитывать реальные финансовые и материально-технические средства. В целом, помимо качественной модернизации производства и повышения его технологичности, необходимо также усиление государственной поддержки. Важным шагом является субсидирование компаний, работающих по принципам МЦЭ, а также значительное увеличение финансирования целевых научно-исследовательских проектов в этой области [48].

Кроме того, на законодательном уровне необходимо установить предметные и адресные меры, стимулирующие ресурсосбережение, использование вторичного сырья и обновление производственных мощностей. К сожалению, в настоящее время многие нормативные акты, затрагивающие эти вопросы, содержат лишь декларативные положения [42].

Имеются и другие барьеры, препятствующие переходу России к модели циркулярной экономики. Среди них можно выделить следующие: высокая энергоемкость при низкой ресурсной эффективности многих производств; преобладание в экономике сырьевого сектора, активно поддерживаемого государством; недостаточное финансирование модернизационных процессов, включая трудности с привлечением частных инвестиций; неприятие многими представителями бизнес-сообщества перспектив, предусматривающих расширение совместной деятельности на долгосрочной основе [49].

Однако есть примеры положительных решений, в том числе со стороны государственных органов, которые способствуют внедрению элементов экономики замкнутого цикла в конкретных сферах деятельности. Одним из таких примеров является принятая в 2022 году отраслевая программа (ответственный исполнитель Минсельхоз России), направленная на широкое применение вторичных ресурсов и сырья из отходов, возникающих в сельском хозяйстве³. Эта программа разработана в рамках реализации федерального проекта «Экономика замкнутого цикла», входящего в состав инициатив социально-экономического развития Российской Федерации в период до 2030 года⁴. В рамках реализации этой программы запланированы дополнительные меры экономического стимулирования, направленные на развитие инфраструктуры утилизации сельскохозяйственных отходов и переработки побочных продуктов животноводства. В ходе реализации указанных мер уже достигнуты определенные результаты. Поэтому целесообразно разработать аналогичную программу для пищевой промышленности.

Также актуальной является разработка специальной межотраслевой программы, охватывающей широкий круг вопросов, связанных с внедрением элементов экономики замкнутого цикла в мясном подкомплексе, включая такие связанные с ним отрасли и подотрасли АПК, как растениеводство, животноводство и кормопроизводство. Следует учесть, что в настоящее время решаются многие задачи по практически безотходному циклу выращивания и производства в агрокомплексах растениеводческой и животноводческой продукции. С учетом этого обстоятельство новая межотраслевая программа может содержать (по мнению авторов данной статьи) следующие этапы работ:

- стимулирование научно-исследовательских проектов, направленных на развитие циркулярной экономики в мясном подкомплексе и в смежных отраслях сельского АПК;
- утверждение основных направлений создания и внедрения технологий, направленных на увеличение глубины переработки мясного сырья, побочных продуктов при производстве готовой продукции;

³ Паспорт отраслевой программы «Применение вторичных ресурсов и вторичного сырья из отходов в сфере сельского хозяйства на 2022–2030 годы» — утвержден Правительством РФ 29.12.2022 № 16133п-П11.

⁴ Распоряжение Правительства РФ от 06.10.2021 № 2816-р, утвердившее Перечень инициатив социально-экономического развития Российской Федерации до 2030 года.

- разработка комплекса мер по эффективному использованию отходов, образующихся в мясной промышленности, в животноводстве и в кормопроизводстве;
- разработка новых безопасных технологий при производстве удобрений, а также для утилизации отходов мясного производства и животноводства при невозможности их дальнейшего использования;
- определение конкретных хозяйствующих субъектов регионального и межрегионального значения, осуществляющих деятельность в мясном подкомплексе для их адресной поддержки по внедрению элементов циркулярной экономики;
- предоставление льготных инвестиционных кредитов на реконструкцию, модернизацию и техническое перевооружение предприятий, занятых переработкой мясного сырья и тех видов отходов, которые обладают потенциалом вовлечения в новый хозяйственный оборот.

Для разработки концепции такой межотраслевой программы целесообразно привлечь специализированные научные организации, а также соответствующие отраслевые союзы и ассоциации в сфере АПК.

Никто не оспаривает, что экономика замкнутого цикла — это направление международного сотрудничества всех заинтересованных сторон, стремящихся к повышению эффективности производства, к снижению антропогенной нагрузки на природную среду и к решению социальных проблем. Концепция высокопроизводительного общества, стремящегося к безотходному производству, обладает несомненным потенциалом. Однако идеализированная модель экономики замкнутого цикла не лишена критики. Некоторые исследователи считают ее утопической идеей, сравнивая с концепцией вечного двигателя, недостижимой в реальных условиях [50]. Даже если концепция экономики замкнутого цикла не будет реализована в полной мере, ее стремление к сокращению отходов и к ограничению потребления ценных ресурсов делает ее полезным инструментом. Она стимулирует позитивные изменения, направленные на достижение устойчивого развития. Аналогичная логика применима

к концепции устойчивого производства мяса, которая также способствует более ответственному подходу к потреблению [51].

7. Выводы

Необходимость совершенствования методов регулирования экономики обуславливается целым рядом глобальных процессов, оказывающих существенное влияние на выбор дальнейших путей общественного развития. Ожидается, что реализация концепции ЭЗЦ станет оптимальным путем к устойчивому развитию. Несмотря на то, что в центре внимания большинства стратегий замкнутого цикла находится увеличение материального цикла системы, такой цикл должен быть одновременно устойчивым для окружающей среды, экономики и общества.

Переход к модели циркулярной экономики открывает возможности для более эффективного решения актуальных проблем. В первую очередь, это касается ресурсосбережения, сокращения объемов отходов производства и потребления, а также снижения антропогенного давления на природную среду. При реализации указанной модели могут быть достигнуты значимые результаты в социальной и экономической сферах. Но для этого должны быть приняты специальные законодательные меры, стимулирующие развитие элементов циркулярной экономики, включая усиление государственной поддержки технологического обновления промышленных и иных производств. Со стороны предпринимательского сообщества также необходимы дополнительные действия в этом направлении.

Следует отметить немногочисленность исследований, в которых анализируется применение моделей ЭЗЦ в АПК, уделяя особое внимание особенностям этого сектора экономики. В настоящее время не существует ни стандартизированных рамок, ни четкого определения концепции, принципов и стратегий, ни практического применения в этом направлении исследований. Следовательно, область применения существующих показателей ЭЗЦ в сельском хозяйстве и в пищевой промышленности ограничена, что подразумевает необходимость разработки новых, более всеобъемлющих показателей и критериев применения моделей экономики замкнутого цикла в АПК.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Van Zanten, H. H. E., Van Ittersum, M. K., De Boe, I. J. M. (2019). The role of farm animals in a circular food system. *Global Food Security*, 21, 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.06.003>
2. Бобылев, С. Н., Соловьева, С. В. (2020). Циркулярная экономика и ее индикаторы для России. *Мир новой экономики*, 14(2), 63–72. [Bobylev, S. N., Solovyeva, S. V. (2020). Circular economy and its indicators for Russia. *The World of New Economy*, 14(2), 63–72. (In Russian)] <https://doi.org/10.26794/2220-6469-2020-14-2-63-72>
3. Velasco-Muñoz, J. F., Mendoza, J. M. F., Aznar-Sánchez, J. A., Gallego-Schmid, A. (2021). Circular economy implementation in the agricultural sector: Definition, strategies and indicators. *Resources, Conservation and Recycling*, 170, Article 105618. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105618>
4. Пахомова, Н. В., Рихтер, К. К., Ветрова, М. А. (2017). Переход к циркулярной экономике и замкнутым цепям поставок как фактор устойчивого развития. *Вестник СПбГУ. Экономика*, 33(2), 244–268. [Pakhomova, N. V., Richter, K. K., Vetrova, M. A. (2017). Transition to circular economy and closed-loop supply chains as driver of sustainable development. *St Petersburg University Journal of Economic Studies*, 33(2), 244–268. (In Russian)] <https://doi.org/10.21638/11701/spbu05.2017.203>
5. EU (2020). Changing how we produce and consume: New Circular Economy Action Plan shows the way to a climate-neutral, competitive economy of empowered consumers. Retrieved from https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_20_420 Accessed December 12, 2023
6. Качанова, Л. С., Бондаренко, А. М. (2022). Вовлечение потенциальных органических отходов в экономику замкнутого цикла как инструмент обеспечения экономической безопасности государства. *Экономическая безопасность*, 5(4), 1517–1530. [Kachanova L. S., Bondarenko A. M. (2022). Involvement of potential organic waste into the circular economy as a tool ensuring the economic security of the state. *Ekonomicheskaya Bezopasnost*, 5 (4), 1517–1530. (In Russian)] <https://doi.org/10.18334/ecsec.5.4.115059>
7. Blomsma, F., Brennan, G. (2017). The emergence of circular economy: A new framing around prolonging resource productivity. *Journal of Industrial Ecology*, 21(3), 603–614. <https://doi.org/10.1111/jiec.12603>
8. Rajković, M. B., Popović Minić, D., Milinčić, D., Zdravkovi M. (2020). Circular economy in food industry. *Zastita Materijala*, 61(3), 229–250. <http://doi.org/10.5937/zasmat2003229R6> (In Bosnian)
9. Петрунина, И. В., Горбунова, Н. А. (2021). Защитники природы и промышленности: возможен ли консенсус? *Мясная индустрия*, 5, 32–37. [Petrunina, I. V., Gorbunova, N. A. (2021). Environmentalists and industrialists: Is consensus possible? *Meat Industry*, 5, 32–37. (In Russian)] <https://doi.org/10.37861/2618-8252-2021-05-32-37>
10. Гурьева, М. А. (2019). Теоретические основы концепта циркулярной экономики. *Экономические отношения*, 9(3), 2311–2336. [Gureva, M. A. (2019). The theoretical basis of the concept of circular economy. *Journal of International Economic Affairs*, 9(3), 2311–2336. (In Russian)] <https://doi.org/10.18334/eo.9.3.40990>
11. Reike, D., Vermeulen W. J. V., Witjes, S. (2018). The circular economy: New or Refurbished as CE3.0? — Exploring controversies in the conceptualization of the circular economy through a focus on history and resource value retention options. *Resources, Conservation and Recycling*, 135, 246–264. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.08.027>
12. Barros, M. V., Salvador, R., do Prado, G. F., de Francisco, A. C., Piekarski, C. M. (2021). Circular economy as a driver to sustainable businesses. *Cleaner Environmental Systems*, 2, Article 100006. <https://doi.org/10.1016/j.cesys.2020.100006>
13. Goddin, J., Marshall, K., Pereira, A., Tuppen, C., Herrmann, S., Sam Jones, S. et al. (2019). Circularity Indicators: An Approach to Measuring Circularity, Methodology. Ellen MacArthur Foundation, ANSYS Granta, 2019. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29213.84962>
14. Corona, B., Shen, L., Reike, D., Carreón, J.R., Worrell, E. (2019). Towards sustainable development through the circular economy — A review and critical assessment on current circularity metrics. *Resources, Conservation and Recycling*, 151, Article 104498. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104498>
15. Kirchherr, J., Reike, D., Hekkert, M. (2017). Conceptualizing the circular economy: An analysis of 114 definitions. *Resources, Conservation and Recycling*, 127, 221–232. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.09.005>
16. Pauliuk, S. (2018). Critical appraisal of the circular economy standard BS8001:2017 and a dashboard of quantitative system indicators for its implementation in organizations. *Resources, Conservation and Recycling*, 129, 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.019>
17. Rajković, M. B., Popović Minić, D., Milinčić, D., Zdravkovi M. (2020). Circular economy in food industry. *Zastita Materijala*, 61(3), 229–250. <https://doi.org/10.5937/zasmat2003229R6> (In Bosnian)
18. Синельникова, А. В. (2022). Переход к циркулярной экономике: проблемы и перспективы. *Экономический вестник ИИУ РАН*, 3(1), 64–75. [Sinelnikova A. V. (2022). Transition to a circular economy: Problems and prospects. *Economic Bulletin of IPU RAS*, 3(1), 64–75. (In Russian)] <https://doi.org/10.25728/econbull.2022.1.6-sinelnikova>
19. Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S. et al. (2019). Food in the Anthropocene: The EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet*, 393(10170), 447–492. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31788-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31788-4)
20. Agnusdei, L., Krstić, M., Palmi, P., Miglietta, P. P. (2023). Digitalization as driver to achieve circularity in the agroindustry: A SWOT-ANP-ADAM approach. *Science of The Total Environment*, 882, Article 163441. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163441>
21. Chiaraluca, G., Bentivoglio, D., Finco, A. (2023). The circular economy model in the agri-food sector: A new strategy for the regional development. *AIMS Agriculture and Food*, 8(3), 851–872. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2023045>
22. Tonini, D., Albizzati, P. F., Astrup, T. F. (2018). Environmental impacts of food waste: Learnings and challenges from a case study on UK. *Waste Manage*, 76, 744–766. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.03.032>

23. Rosenberg, M. (2021). Thoughts about food security, food loss and waste and what has to be done. *AIMS Agriculture and Food*, 6, 797–798. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2021048>
24. Kristensen, H. S., Mosgaard, M. A. (2020). A review of micro level indicators for a circular economy — moving away from the three dimensions of sustainability? *Journal of Cleaner Production*, 243, Article 118531. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118531>
25. Fassio, F., Chirilli, C. (2023). The circular economy and the food system: A Review of Principal Measuring Tools. *Sustainability*, 15(13), Article 10179. <https://doi.org/10.3390/su15131017>
26. Boehm, R., Wilde, P. E., Ver Ploeg, M., Costello, C., Cash, S. B. (2018). A comprehensive life cycle assessment of greenhouse gas emissions from U.S. household food choices. *Food Policy*, 79, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2018.05.004>
27. Департамент многостороннего экономического сотрудничества и специальных проектов Минэкономразвития России. (2021). Экономика замкнутого цикла. Обзор международных подходов. Электронный ресурс: <https://www.economy.gov.ru/material/file/55fc716c49b06e62a652d101b1be8442/220414.pdf> Дата доступа 11.03.2024. [Department for Multilateral Economic Cooperation and Special Projects of the Ministry of Economic Development of the Russian Federation (2021). Closed-loop economy. Overview of international approaches. Retrieved from <https://www.economy.gov.ru/material/file/55fc716c49b06e62a652d101b1be8442/220414.pdf> Accessed March 11, 2024. (In Russian)]
28. Кудрявцева, О. В., Митенкова, Е. Н., Солодова, М. А. (2019). Циркулярная экономика как инструмент устойчивого развития России. *Экономическое возрождение России*, 3(61), 115–126. [Kudryavtseva, O. V., Mitenkova, E. N., Solodova, M. A. (2019). Circular economy: Prospects for sustainable development in Russia. *Economic Revival of Russia*, 3(61), 115–126. (In Russian)]
29. Cristóbal, J., Castellani, V., Manfredi, S., Sala, S. (2018). Prioritizing and optimizing sustainable measures for food waste prevention and management. *Waste Manage*, 7, 3–16. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.007>
30. Небурчилова, Н. Ф., Петрунина, И. В., Шербинина, Е. О. (2016). Эффективное использование сырья животного происхождения на предприятиях мясной промышленности. *Все о мясе*, 6, 18–21. [Neburchilova, N. F., Petrunina, I. V., Scherbinina, E. O. (2016). Efficient using of raw materials of animal origin at the enterprises of the meat industry. *Vsyo o Myase*, 6, 18–21. (In Russian)]
31. Muscio, A., Sisto, R. (2020). Are agrifood systems really switching to a circular economy model? Implications for European research and innovation policy. *Sustainability*, 12(14), Article 5554. <https://doi.org/10.3390/su12145554>
32. Röösa, E., Bajželj, B., Smith, P., Patel, D., Little, D., Garnett, T. (2018). Greedy or needy? Land use and climate impacts of food in 2050 under different livestock futures. *Global Environmental Change*, 47, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2017.09.001>
33. D'Amato, D., Korhonen, J., Toppinen, A. (2019). Circular, green, and bio economy: How do companies in land-use intensive sectors align with sustainability concepts? *Ecological Economics*, 158, 116–133. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2018.12.026>
34. Harder, R., Giampietro, M., Smukler, S. (2021). Towards a circular nutrient economy. A novel way to analyze the circularity of nutrient flows in food systems. *Resources, Conservation and Recycling*, 172, Article 105693. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105693>
35. Jurgilevich, A., Birge, T., Kentala-Lehtonen, J., Korhonen-Kurki, K., Pietikäinen, J., Saikku, L. et al. (2016). Transition towards circular economy in the food system. *Sustainability*, 8(1), Article 69. <https://doi.org/10.3390/su8010069>
36. Caccialanza, A., Cerrato, D., Galli, D. (2023). Sustainability practices and challenges in the meat supply chain: A systematic literature review. *British Food Journal*, 125(12), 4470–4497. <https://doi.org/10.1108/BFJ-10-2022-0866>
37. Кузнецова, Н. А. (2023). Концептуальные положения развития циркулярной экономики в сельском хозяйстве. *Продовольственная политика и безопасность*, 10(1), 109–120. [Kuznetsova N. A. (2023). Conceptual provisions of the circular economy development in agriculture. *Food Policy and Security*, 10 (1), 109–120. (In Russian)] <https://doi.org/10.18334/ppib.10.1.116923>
38. Петров, К. А., Кузнецова, Н. Г. (2015). Проблемы и перспективы развития глубокой переработки продукции животноводства. *Евразийский Союз Ученых*, 5–2(14), 25–28. [Petrov, K. A., Kuznetsova, N. G. (2015). Problems and prospects of the development of deep processing of animal husbandry products. *Eurasian Union of Scientists*, 5–2(14), 25–28. (In Russian)]
39. Mirabella, N., Castellani, V., Sala, S. (2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. *Journal of Cleaner Production*, 65, 28–41. <http://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>
40. Roy, P., Mohanty, A. K., Dick, P., Misra, M. (2023). A review on the challenges and choices for food waste valorization: Environmental and economic impacts. *ACS Environmental Au*, 3(2), 58–75. <https://doi.org/10.1021/acsenvironau.2c00050>
41. Van Zanten, H. H. E., Herrero, M., Van Hal, O., Röösa, E., Muller, A., Garnett, T. et al. (2018). Defining a land boundary for sustainable livestock consumption. *Global Change Biology*, 24(9), 4185–4194. <https://doi.org/10.1111/gcb.14321>
42. Петрунина, И. В., Горбунова, Н. А. (2024). Использование элементов циркулярной экономики в мясной промышленности. *Мясная индустрия*, 2, 9–12. [Petrunina, I. V., Gorbunova, N. A. (2024). The usage of circular economy elements in the Russian meat industry. *Meat Industry*, 2, 9–12. (In Russian)] <https://doi.org/10.37861/2618-8252-2024-02-09-12>
43. Петрунина, И. В. (2023). Потери сырья и продуктов его переработки в животноводстве и мясной отрасли. *Всё о мясе*, 1, 8–11. [Petrunina, I. V. (2023). Losses of raw materials and products of their processing in animal husbandry and meat industry. *Vsyo o Myase*, 1, 8–11. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2023-1-8-11>
44. Van Zanten, H. H. E., Van Ittersum, M. K., De Boe, I. J. M. (2019). The role of farm animals in a circular food system. *Global Food Security*, 21, 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.06.003>
45. Petrunina, I. V., Gorbunova, N. A., Zakharov, A. N. (2023). Assessment of causes and consequences of food and agricultural raw material loss and opportunities for its reduction. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(1), 51–61. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-1-51-61>
46. Ветрова, М. А. (2021). Формирование циркулярной экономики: передовой опыт и рекомендации для России. *Проблемы современной экономики*, 1(77), 167–171. [Vetrova, M. A. (2021). Formation of circular economy: Cutting-edge experience and recommendations for Russia. *Problems of Modern Economics*, 1(77), 167–171. (In Russian)]
47. Jakhar, S. K., Mangla, S. K., Luthra, S., Kusi-Sarpong, S. (2018). When stakeholder pressure drives the circular economy: Measuring the mediating role of innovation capabilities. *Management Decision*, 57 (1), 904–920. <https://doi.org/10.1108/MD-09-2018-0990>
48. Александрова, В. Д. (2017). Актуальность перехода к модели циркулярной экономики в России. *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*, 11, 106–110. [Alexandrova, V. D. (2017). The actuality of transition to the model of circular economy in Russia. *International Journal of Humanities and Natural Sciences*, 11, 106–110. (In Russian)]
49. Мерзлякова, Е. А., Колмыкова, Т. С. (2019). Циркулярное воспроизводство и экологические инновации в обеспечении устойчивого роста региональной экономики. *Регион: системы, экономика, управление*, 3(46), 104–111. [Merzlyakova E. A., Kolmykova T. S. (2019). Circular reproduction and environmental innovations in ensuring sustainable growth of the regional economy. *Region: Systems, Economy, Management*, 3(46), 104–111. (In Russian)]
50. Cullen, J. M. (2017). Circular Economy: Theoretical benchmark or perpetual motion machine? *Journal of Industrial Ecology*, 21(3), 483–486. <https://doi.org/10.1111/jiec.12599>
51. Sherwood, J. (2020). The significance of biomass in a circular economy. *Bioresour Technology*, 300, Article 12275. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122755>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Петрунина Ирина Всеволодовна — старший научный сотрудник, Центр «Экономико-аналитических исследований и информационных технологий», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 доб. 253 E-mail: i.petrulina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7287-3511 * автор для контактов	Irina V. Petrunina, Senior Researcher, Center of Economic and Analytical Research and Information Technologies, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (253) E-mail: i.petrulina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7287-3511 * corresponding author
Горбунова Наталья Анатольевна — кандидат технических наук, ученый секретарь, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 доб. 316 E-mail: n.gorbunova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4249-9316	Nataliya A. Gorbunova, Candidate of Technical Sciences, Scientific Secretary, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (316) E-mail: n.gorbunova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4249-9316
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-238-245>

Поступила 10.04.2024

Поступила после рецензирования 20.05.2024

Принята в печать 24.05.2024

© Барковская И. А., Кручинин А. Г., Рожкова И. В., 2024

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

Обзорная статья

Open access

ДЕФИЦИТ ЙОДА В РОССИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ, МИРОВАЯ ПРАКТИКА И НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ

Барковская И. А.*, Кручинин А. Г., Рожкова И. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

йод, цинк, дефицит
микроэлементов,
направленный
гидролиз,
сывороточные белки,
пищевая добавка

Йод выполняет ряд важных функций в организме, участвуя в процессе синтеза гормонов щитовидной железы, что создает необходимость постоянного восполнения элемента в адекватных количествах. Постоянный мониторинг дефицита микронутриентов в Российской Федерации выявляет низкое среднесуточное потребление йода и рост числа случаев заболеваний щитовидной железы в период с 2010 по 2020 гг. Это актуализирует необходимость разработки новых терапевтических и профилактических подходов к восполнению дефицита йода. Цель обзора — анализ проблемы дефицита йода в России и существующих практик его нивелирования для разработки нового подхода к профилактике и лечению йоддефицитных состояний. В выборку включены публикации на русском и английском языках в период с 2002 по 2023 гг. с применением ресурсов наукометрических баз данных Elibrary, Google Scholar, CyberLeninka, PubMed и ScienceDirect. Исследовательская работа показала, что общепринятая практика ликвидации дефицита йода заключается в повышении уровня потребления микроэлемента в рационе питания, следствием чего является наличие на рынке широкого спектра йодированных пищевых добавок и продуктов. Однако анализ современного сектора функционального питания выявил ряд недостатков, ассоциированных с низкой биодоступностью элемента и с его устойчивостью к технологическим факторам при производстве пищевой продукции. В статье представлены ключевые факторы, оказывающие влияние на эффективность пищевых добавок, разрабатываемых для коррекции питания при йоддефицитах. Они основаны на оценке существующих средств профилактики. В исследовании предложена разработка технологии гидролизатов молочной сыворотки, обогащенных йодом и цинком. Применение в производстве продуктов питания пищевой добавки на основе белковых компонентов молочной сыворотки открывает новые возможности для переработки вторичного молочного сырья и для полноценного использования всех компонентов молока. Богатый аминокислотный состав добавки способствует повышению концентрации эссенциальных микроэлементов в продуктах, поскольку аминокислотные остатки способны связывать йод и хелатировать цинк.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда № 24–26–00220.

Received 10.04.2024

Accepted in revised 20.05.2024

Accepted for publication 24.05.2024

© Barkovskaya I. A., Kruchinin A. G., Rozhkova I. V., 2024

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

Review article

Open access

IODINE DEFICIENCY IN RUSSIA: CURRENT STATE OF THE PROBLEM, GLOBAL PRACTICE AND NEW APPROACHES TO THERAPY

Irina A. Barkovskaya*, Alexander G. Kruchinin, Irina V. Rozhkova

All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia

KEY WORDS:

iodine, zinc,
micronutrient
deficiency, directed
hydrolysis, whey
proteins, food additive

ABSTRACT

Iodine performs a number of important functions in the body, participating in the synthesis of thyroid hormones, which creates the need for constant replenishment of the element in adequate amounts. Continuous monitoring of micronutrient deficiency in the Russian Federation reveals low average daily iodine intake and an increase in the number of cases of thyroid diseases in the period from 2010 to 2020. This actualizes the need to develop new therapeutic and preventive approaches to replenish iodine deficiency. The aim of the review is to analyze the problem of iodine deficiency in Russia and existing practices of its leveling in order to develop a new approach to the prevention and treatment of iodine deficiency conditions. The sample includes publications in Russian and English in the period from 2002 to 2023, using the resources of scientific metric databases Elibrary, Google Scholar, CyberLeninka, PubMed and ScienceDirect. The research work showed that the common practice of eliminating iodine deficiency is to increase the level of consumption of the trace element in the diet, the consequence of which is the availability of a wide range of iodized food supplements and products on the market. However, the analysis of the current functional nutrition sector has revealed a number of drawbacks associated with low bioavailability of the element and its resistance to technological factors in the production of food products. The article presents the key factors influencing the effectiveness of nutritional supplements being developed for nutritional correction of iodine deficiency. They are based on the evaluation of existing means of prevention. The study proposes the development of the technology of whey hydrolysates enriched with iodine and zinc. Application in food production of a food additive based on protein components of milk whey opens new opportunities for processing of secondary dairy raw materials and for full utilization of all milk components. The rich amino acid composition of the additive helps to increase the concentration of essential trace elements in products, as amino acid residues are able to bind iodine and chelate zinc.

FUNDING: This work was performed under the Russian Science Foundation grant No. 24–26–00220.

1. Введение

Дефицит микронутриентов, в том числе йода, распространен среди всех возрастных групп населения Российской Федерации, при этом йоддефицитные состояния различной степени тяжести

встречаются у россиян повсеместно [1,2]. Согласно статистическим данным, потребление данного элемента в среднем составляет 40–80 мкг/сутки, что в 2–3 раза меньше рекомендуемой дневной нормы [3]. Недостаток микронутриента в организме ведет к формированию

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Барковская, И. А., Кручинин, А. Г., Рожкова, И. В. (2024). Дефицит йода в России: современное состояние проблемы, мировая практика и новые подходы к терапии. *Пищевые системы*, 7(2), 238–245. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-238-245>

FOR CITATION: Barkovskaya, I. A., Kruchinin, A. G., Rozhkova, I. V. (2024). Iodine deficiency in Russia: Current state of the problem, global practice and new approaches to therapy. *Food Systems*, 7(2), 238–245. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-238-245>

ряда негативных последствий, большая часть которых представлена патологиями щитовидной железы (ШЖ) и нарушениями в работе эндокринной системы (различные формы зоба, гипотиреоз, тиреотоксикоз и др.). Согласно данным Росстата, заболеваемость дисфункциями щитовидной железы в 2020 году увеличилась вдвое по сравнению с 2010 годом. Причем фактическая распространенность зоба в 10 раз превышает регистрируемые показатели [4]. Таким образом, сведения официальной государственной статистики актуализируют разработку новых подходов в профилактике и терапии дефицита йода.

Наиболее экономически эффективным и целесообразным подходом в решении проблемы восполнения эссенциального элемента в организме является включение в рацион питания продуктов с высоким содержанием йода [5]. Пищевая индустрия предлагает широкий спектр йодсодержащих продуктов и добавок, производимых из сельскохозяйственного сырья с применением механизмов образования комплекса «матрица-микроэлемент». В качестве наиболее простого и доступного средства для нивелирования йододефицитных состояний рекомендуют использовать йодированную соль [6]. Также существует множество других добавок на основе сырья растительного и животного происхождения [7–9]. Несмотря на их доступность, проблема дефицита йода остается актуальной, что может быть связано с недостатками состава обогащенных пищевых продуктов и добавок. Так, например, йодированная соль характеризуется низкой биодоступностью йода, содержание которого значительно снижается во время хранения, транспортировки и приготовления пищи [10]. Ряд органических источников данного микроэлемента (полисахариды, белки и др.) требуют длительной подготовки перед добавлением их в продукт. Кроме того, они не содержат элементов, необходимых для метаболизма йода в организме, таких как селен, цинк и кобальт [11].

Таким образом, разработка новых подходов к нивелированию и профилактике йододефицита считается актуальным направлением научных исследований. В этой связи целью работы является оценка современного состояния проблемы дефицита йода в Российской Федерации и его негативных последствий для разных групп населения. Для достижения поставленной цели представлены: описание роли данного микроэлемента в организме человека и особенности его метаболизма; анализ существующей практики терапии йододефицита; ключевые факторы, влияющие на разработку новых эффективных подходов к профилактике и коррекции йододефицита.

2. Объекты и методы

Для достижения поставленной цели проведен литературный обзор современного состояния описанной проблемы, а также мирового опыта ее решения с применением ресурсов электронных библиотек Elibrary, Google Scholar, CyberLeninka, PubMed и ScienceDirect. Анализ включал эмпирические и обзорные научные статьи, а также главы из книг на русском и английском языках за период 2002–2023 гг. Источники содержали информацию по вопросам обзора и описывали роль йода в организме человека, метаболизм органической и неорганической формы микроэлемента, в том числе участие других веществ в этом процессе. Также рассматривалась мировая практика терапии йододефицита и оценивался рынок йодированных продуктов и добавок. Ряд литературных источников содержал информацию о механизмах взаимодействия микроэлементов с органическими субстратами, позволяющую моделировать новые подходы к созданию средств профилактики дефицита йода. Поиск осуществлялся с использованием ключевых слов: «iodine deficiency», «дефицит йода», «iodine deficiency diseases», «йододефицитные заболевания», «amino acid-iodine interaction», «взаимодействие йода с аминокислотами», «whey production», «производство сыворотки», «protein hydrolysis», «гидролиз белков», «zinc chelation», «хелатирование цинка».

3. Результаты и обсуждение

3.1. Роль йода в организме человека и последствия его дефицита

Основная физиологическая роль йода в организме человека — участие в синтезе гормонов щитовидной железы, которые регулируют различные процессы, включая репродуктивную функцию, рост и развитие [организма]. Гормоны щитовидной железы увеличивают энергетический обмен в большинстве тканей и повышают базальный уровень метаболизма [12]. Ввиду того, что йод является важным эссенциальным микроэлементом для жизнедеятельности человека, следует осуществлять мониторинг уровня его потребления и проводить мероприятия, направленные на профилактику дефицита йода (информирование населения о важности потребления достаточного количества йода и разработка новых подходов к профилактике и лечению йододефицитных состояний).

Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) установлены нормы суточного потребления йода для каждой возрастной группы населения (Таблица 1), которые обусловлены различиями в биохимических и физиологических процессах, характерных для каждого возрастного периода. Например, в пожилом возрасте на фоне снижения скорости метаболизма потребность в микроэlemente уменьшается [13].

Таблица 1. Суточная потребность в йоде в зависимости от возраста и физиологического состояния человека
MP 2.3.1.0253–21 [14]

Группа	Потребность в йоде, мкг/сутки
Дети дошкольного возраста: 0–6 лет	90
Дети школьного возраста: 7–12 лет	120
Взрослые и подростки старше 12 лет	150
Пожилые люди	100
Беременные и кормящие женщины	250

Беременные и кормящие женщины нуждаются в повышенном потреблении йода. Это связано с тем, что развивающийся плод полностью зависит от гормонов щитовидной железы матери (трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4)) с эмбриональной фазы развития и до середины беременности, а новорожденный ребенок получает йод через грудное молоко [15]. Недостаток йода во время беременности может негативно сказаться на развитии нервной системы и когнитивных функций ребенка [16]. Это подтверждают мировые исследования [17–19], отражающие корреляцию между адекватным количеством потребления йода беременными женщинами и антропометрическими показателями (вес, размер конечностей и щитовидной железы) новорожденных детей, а также их уровнем развития. Данная особенность связана с тем, что дефицит микроэлемента (даже легкой степени) приводит к снижению уровня синтеза гормонов щитовидной железы, которые напрямую влияют на формирование нервной системы плода, активируя транскрипцию и экспрессию генов, участвующих в развитии аксонов и дендритов, в миграции клеток, в формировании синапсов и в миелинизации [20]. Исследование [19] также подчеркивает важность достаточного потребления йода еще на этапе планирования беременности, начиная с подросткового возраста (14–19 лет). Это способствует нормализации гормонального фона щитовидной железы и снижает риск развития ее патологий во время беременности.

Дети и подростки также наиболее подвержены негативным последствиям дефицита йода в рационе питания, так как данный микроэлемент необходим для соматического роста и развития их нервной системы. Рядом исследований [21–25] установлена причинно-следственная связь между нормальным потреблением йода детьми и их когнитивным развитием, а также риском возникновения йододефицитных заболеваний. Показано, что недостаток микроэлемента может индуцировать эндемический зоб, задержку роста и развития центральной нервной системы у детей (кретинизм), различные интеллектуальные нарушения [21].

Недостаток микронутриента у взрослых также ведет к формированию патологических процессов в организме, в число которых входят дисфункции щитовидной железы (тиреоидит, гипотиреоз, тиреотоксикоз, зоб), при которых орган адаптируется к дефициту йода. Орган обеспечивает снижение синтеза тироксина посредством повышения всасывания йодида и усиления внутреннего метаболизма в результате повышения уровня тиреотропного гормона, что в результате ведет к увеличению размеров железы [3,20,26]. Кроме того, в условиях йодного дефицита возрастает риск развития рака щитовидной и молочной желез и других тяжелых заболеваний, таких как поражения головного мозга [17]. Помимо этого, в работе [27] автор сообщает об U-образной зависимости нормального функционирования щитовидной железы от уровня потребления йода. Это означает, что как низкие, так и высокие концентрации потребляемого йода могут привести к дисфункциям систем организма и к различным патологиям. При этом в организме обнаружен защитный механизм (эффект Вольфа-Чайкова), регулирующий процесс избыточного синтеза гормонов щитовидной железы при высоком потреблении йода [28]. Однако при длительных нарушениях в работе эндокринной и других систем избыточные концентрации йода в организме потенцируют гипертиреоз и папиллярный рак [20]. Механизм ток-

сического действия избытка йода в настоящее время не определен. В некоторых исследованиях предполагается, что избыток йода может стимулировать синтез цитокинов и хемокинов, что приводит к миграции иммунокомпетентных клеток к щитовидной железе и к развитию тиреоидита. Другие механизмы формирования патологий щитовидной железы представлены утилизацией избытка йода в эпителиальных клетках органа, приводящей к повышению уровня окислительного стресса, к производству токсичных продуктов распада липидов и к повреждению тканей железы [29].

Исследованиями последних 20 лет, освещающими вопросы микронутриентной недостаточности, установлено, что среднесуточное потребление йода среди населения России составляет приблизительно 40–80 мкг/сутки, что значительно меньше рекомендованной нормы [30]. При этом специалисты НМИЦ эндокринологии Минздрава сообщают о более чем 14 млн граждан (на май 2022 года), страдающих заболеваниями щитовидной железы. Эти заболевания занимают второе место по распространенности среди эндокринных патологий после сахарного диабета [4].

Таким образом, выше представленные данные показывают важность нивелирования йододефицита у населения Российской Федерации. Это необходимо для предотвращения прогрессирования патологий щитовидной железы и сопутствующих осложнений в работе иных систем организма, а также с целью снижения численности пациентов, страдающих йододефицитными заболеваниями. При этом важно применять подходы, позволяющие предотвратить избыточное потребление йода, способного стимулировать развитие йодиндуцированных дисфункций.

3.2. Метаболизм йода в организме человека

Йод, поступающий из пищи в неорганической форме, всасывается в желудке и в верхних отделах кишечника в течение 30 минут, поступая в кровотоки в форме йодид-иона [17,26]. Органический йод отщепляется от молекулы носителя в печени и поступает в кровь также в виде йода со степенью окисления «-1» [31]. Впоследствии йод из плазмы поглощается щитовидной железой, либо выводится почками. При этом клиренс микроэлемента почками стабилен, тогда как биотрансформация йода в железе имеет непостоянный характер. Поглощение йода щитовидной железой главным образом зависит от уровня его потребления и концентрации в плазме. Так, при достаточном потреблении йода органом утилизируется не более 10%, а при низкой концентрации микроэлемента в организме это значение может превышать 80% [32]. Сообщается, что более 90% микроэлемента в организме поступает в кровотоки в виде йодида. Однако в некоторых случаях метаболизма йодтирозинов йодированная аминокислота поступает в кровотоки без изменений. Данная особенность показана в работе [30] при исследовании переваривания йодированных молочных белков лабораторными животными.

Натрий-йодный симпортер, обнаруженный в базальной мембране клеток щитовидной железы (тироцитов), активно транспортирует йодиды к клеткам щитовидной железы по градиенту концентрации в 20–50 раз выше, чем в плазме. Далее ионы йодида переносятся в коллоид переносчиками пендрином и апикальным транспортером йодида, где фермент тиреоидная пероксидаза (тиреопероксидаза) в присутствии перекиси водорода на апикальной поверхности тироцита окисляет йодид до молекулярного йода. Затем с помощью фермента тиреопероксидазы йод присоединяется к тирозильным остаткам тиреоглобулина (около 120 остатков). Тиреоглобулин синтезируется в шероховатой эндоплазматической сети и транспортируется в коллоид путем экзоцитоза. В результате образуются монойодтирозин и дийодтирозин — предшественники гормонов щитовидной железы. Тиреопероксидаза и перекись водорода катализируют соединение фенильных групп йодтирозинов через диэфирный мостик, создавая гормоны щитовидной железы Т4 и Т3 [33]. Установлено, что процесс синтеза белков тиреоглобулина и тиреопероксидазы, а также натрий-йодного симпортера регулирует тиреотропный гормон [26].

Весь комплекс транспортируется в фолликулярную клетку путем эндоцитоза в цитоплазму, в которой под влиянием различных протеаз высвобождаются молекулы тироксина и трийодтиронина, поступающие в кровь через транспортер монокарбоксилата. Т4 является основным секреторным продуктом щитовидной железы: его суточная секреция составляет примерно 80 мкг, тогда как Т3 секретруется в количестве примерно 4–6 мкг/день и в основном вырабатывается в результате превращения из Т4, который является прогормоном. В тканях Т4 деиодинируется в 5'-положении до Т3 при участии ферментов дейодиназы типа 1 или типа 2 или до метаболически неактивного обратного Т3 под влиянием дейодиназы типа 1 или типа 3 [34]. Йод выделяется обратно в плазму в результате тка-

невого разложения свободных форм гормонов щитовидной железы и может быть повторно трансформирован щитовидной железой в гормоны, а может быть выведен из организма естественным путем [32,35]. При этом в условиях дефицита микроэлемента йод из гормонального обмена более эффективно повторно используется щитовидной железой, чем при достаточном его потреблении, а клиренс эссенциального элемента почками, соответственно, снижается [27].

Помимо этого, ряд исследований [36–38] отражает участие других веществ и микроэлементов в метаболизме йода в организме. Так, мио-инозитол регулирует усвоение йода в организме и биосинтез гормонов щитовидной железы посредством участия в регулировании активности тиреотропного гормона и выработке гормонов Т3 и Т4 [36]. Селен экспрессирует специфические селенопротеины (глутатионпероксидаза и йодтирониндейодиназа), принимающие участие в адекватном функционировании щитовидной железы [37]. Цинк также играет важную роль в синтезе гормонов щитовидной железы, контролируя активность тиреотропин-рилизинг-гормона, дейодирования ферментов и синтез тиреотропного гормона. Цинк формирует структуры важнейших транскрипторных факторов, принимающих участие в синтезе тиреоидных гормонов [38].

Исходя из вышесказанного, йод выполняет ряд жизненно важных функций в организме человека, обеспечивая адекватную работу эндокринной системы. Особенно критична недостаточность потребления микроэлемента для беременных женщин и детей до 12 лет. В связи с этим вопрос нивелирования йодного дефицита посредством разработки новых эффективных подходов приобретает высокую значимость.

3.3. Мировая практика в борьбе с дефицитом йода

В 1994 году ВОЗ призвала все государства внедрить программы всеобщего йодирования соли на законодательном уровне. Реализация масштабного распространения йодированной соли (с 1993 по 2019 год) показала резкое сокращение числа стран, классифицируемых как йододефицитные: со 116 стран в 1993 году до 19 в 2019 году [39,40]. Так, национальные и международные медицинские мониторинги, проводившиеся в 2016–2020 гг., оценивали медианные концентрации йода в моче у детей школьного возраста. Нормируемый диапазон, соответствующий достаточному потреблению йода, составляет 100–299 мкг/л. Результаты этих исследований показали, что благодаря программам всеобщего йодирования соли адекватный уровень потребления йода был достигнут в следующих странах: Армения (242 мкг/л), Беларусь (191 мкг/л), Северная Македония (236 мкг/л), Косово (148 мкг/л), Грузия (298 мкг/л), Сербия (187 мкг/л), Монте-Негро (173 мкг/л), Молдова (134 мкг/л), Киргизия (103 мкг/л), Албания (136 мкг/л) [41], Китай (207 мкг/л) [42], Канада (111 мкг/л) [43] и др. Однако, несмотря на значительный положительный эффект от употребления населением планеты йодированной соли, в ряде государств фиксируется как дефицит микроэлемента, так и его избыточное количество.

На Мадагаскаре уровень потребления йода характеризуется как самый низкий, поскольку программа йодирования соли была приостановлена ввиду политической нестабильности (53 мкг/л) [44]. Политическая и экономическая ситуации в Ираке способствовали нарушению внедрения и постоянного мониторинга йодного статуса населения, в связи с чем последние сведения об уровне потребления йода населением зафиксированы в 2012 году (92 мкг/л) [45]. Производство йодированной соли в Камбодже сократилось из-за недостаточного финансирования программы, следствием чего стало усугубление состояния вопроса дефицита йода. Во Вьетнаме снижение потребления йода возникло на фоне ослабления законодательства, обязывающего осуществлять обогащение всего объема реализуемой соли. Количество потребляемой йодированной соли в России варьируется в зависимости от региона, что приводит к различиям уровней потребления йода. В среднем по стране этот показатель составляет 78 мкг/л. [46,47]. В Норвегии медианное значение содержания йода в моче у молодых женщин (18–30 лет) снижено на фоне изменений в питании (включение в рацион заменителей продуктов животного происхождения, обедненные микро- и макронутриентами диеты) [48] и составляет 75 мкг/л [49], что на 25 мкг/л меньше нижнего порога нормы [50]. Кроме того, в результате мониторинга выявлены страны с избыточным потреблением йода, обусловленным высокими концентрациями йода в питьевой воде и пище, среди которых Южная Корея (449 мкг/л), Джибути (335 мкг/л), Камерун (> 300 мкг/л), Гондурас (356 мкг/л) и Колумбия (407 мкг/л) [40,51].

Следует обратить внимание на тот факт, что Российская Федерация не вводила на законодательном уровне программы всеобщего йодирования соли, однако начиная с 1997 года в различных регионах правительство проводит мероприятия, направленные на ликви-

дацию йододефицита. Так, в период 2016–2018 гг. были организованы региональные акции «Соль + йод IQ сэкономит», освещающие население о важности достаточного потребления микронутриента. В марте 2019 г. был разработан проект «О популяционной профилактике заболеваний, связанных с дефицитом йода», в рамках которого был создан проект Федерального Закона «О профилактике заболеваний, вызванных дефицитом йода». Данный проект подразумевает проведение профилактических действий по нивелированию дефицита путем повсеместного распространения пищевой соли, обогащенной йодатом калия. На данный момент проект находится на стадии устранения замечаний и последующего направления на рассмотрение в Правительство РФ.

Кроме того, с 2020 года в России в силу вступили СанПиН 2.3/2.4.3590–20 «Санитарно-эпидемиологические требования к организации общественного питания населения», согласно которым для приготовления пищи в школьных столовых по всей стране обязательно использование йодированной соли [4]. Наряду с этим, в 2022 году Национальным медицинским исследовательским центром эндокринологии был представлен проект Региональной целевой программы «Профилактика йододефицитных заболеваний на 202х–202х годы», целью которой является разработка и обеспечение функционирования системы профилактики, диагностики и лечения заболеваний, обусловленных дефицитом йода, на территории Российской Федерации [52].

Несмотря на повсеместное распространение программ йодирования соли, существуют опасения относительно использования неорганической формы йода в качестве добавки. Длительное потребление йода в такой форме, даже в физиологических дозах, может привести к развитию йодизма, к токсическому поражению печени и почек, а также к йодиндуцированной патологии щитовидной железы [53]. Кроме того, некоторые группы населения исключают соль из рациона, что в свою очередь актуализирует ее замену на другие пищевые продукты, обогащенные микроэлементами [54]. В работе [55] сообщается о недостаточном уровне потребления йода с йодированной солью среди беременных и кормящих женщин. Однако исследование [56] демонстрирует, что обогащение пищевой соли йодом в концентрации 25 мг/кг обеспечивает кормящих матерей и детей до двух лет необходимым количеством микроэлемента. Кроме того, авторы работы [30] подчеркивают сниженный уровень утилизации йода из неорганических носителей в сравнении с органической формой микроэлемента. В связи с этим учеными разрабатываются новые, более эффективные технологии различных добавок и продуктов, содержащих йод в органической форме [9,57,58].

Органический йод связан с высокомолекулярными носителями, в связи с чем процесс отщепления микроэлемента замедлен. При этом риск передозировки отсутствует, так как излишний органический йод без метаболических изменений выводится из организма естественным путем [59]. На российском рынке представлен широкий спектр добавок как растительного, так и животного происхождения, обогащенных йодом: препараты на основе морских водорослей [7], «Йодонорм» [8], «Бийод», «Йод-гликозид», «Йодказеин», а также йодированные инулин, арабиногалактан, пищевые волокна пшеницы, растительные белки и белки животного происхождения [9,57,60]. Помимо пищевых добавок, на продовольственном рынке осуществляется продажа обогащенных рыбных [61], хлебобулочных и кондитерских [62,63], мясных [64] и молочных продуктов [54].

Представленные выше пищевые добавки имеют ряд недостатков: длительность подготовки перед внесением в пищевой продукт, низкая растворимость, низкое удельное содержание йода, присутствие неорганических форм йода, отсутствие сопутствующих метаболизму йода веществ (например, цинка) [11]. В этой связи актуальным вопросом для специалистов отрасли остается разработка новых подходов к профилактике и нивелированию дефицита йода, в том числе технологий пищевых добавок с использованием органических иммобилизованных матриц для эффективной коррекции йододефицитных состояний.

3.4. Разработка новых подходов к терапии дефицита йода

Анализ состояния рынка йодсодержащих добавок, их недостатков, а также рекомендаций по коррекции йододефицитных состояний позволил определить ключевые факторы, которые необходимо учитывать при разработке новых подходов к терапии дефицита йода.

1. Применение органического носителя микроэлемента;
2. Дополнительное обогащение субстрата веществами, участвующими в метаболизме йода в организме;
3. Использование безопасных источников микроэлементов;
4. Технологическая устойчивость пищевой добавки.

Наиболее перспективным носителем для обогащения йодом являются органические соединения, в том числе белки. При этом медицинское сообщество подчеркивает более эффективную терапию йододефицитных состояний при употреблении добавок и пищевых продуктов, содержащих не только органические формы микроэлемента, но и сопутствующие его метаболизму вещества, например, цинк. Исходя из этого, перспективным сырьем для обогащения эссенциальными микроэлементами являются сыровоточные белки молока ввиду наличия в них значительного количества аминокислотных остатков (глицин, пролин, аргинин, тирозин, фенилаланин, триптофан, метионин и др.), способных связывать йод и хелатировать цинк. Одновременно с этим применение сыровоточных белков для проектирования новой пищевой добавки открывает дополнительные возможности для переработки вторичного молочного сырья, что является актуальной задачей для молочной отрасли [65]. В исследовании [30] отражена возможность повышения способности молочных белков связывать ионы йода при частичном гидролизе, что может быть ассоциировано с увеличением количества ионогенных групп и сорбционной активности. На данный момент наиболее эффективным методом подбора ферментных препаратов или их комплексов для направленного гидролиза белков является биоинформатическое моделирование (*in silico*) [66]. При этом в аспекте настоящего исследования ключевым фактором при выборе ферментов является получение пептидов с наибольшей потенциальной способностью к связыванию ионов йода и хелатированию цинка. В связи с этим необходимо определение механизмов взаимодействия ионов микроэлементов с аминокислотными остатками белковых фрагментов.

Йод обладает специфическим распределением электронов, формирующих область анизотропного электрического потенциала вокруг атома, называемую δ -hole (δ -область). Исследованиями [67,68] белок-галогеновые взаимодействия рассматриваются как формирование галогеновой связи с участком δ -hole йода, поскольку считается, что именно эта зона способствует образованию нековалентных взаимодействий и реакционноспособных групп белковых соединений, боковые и главные цепи которых состоят из аминокислотных остатков, содержащих Льюисовские основания — S, O, N (карбонил, гидроксил, тиол, ароматическое кольцо, заряженный карбоксилат, группа фосфата или амин) [69,70]. При этом отмечается, что кислород является наилучшим донором с высокой электронной плотностью в сравнении с азотом, в особенности для галогенов с большим значением радиуса Ван-дер-Ваальса, таких как йод. Перечень аминокислотных остатков пептидной цепи представлен аланином, метионином, глицином, валином, треонином, аргинином. При этом сообщается, что прочность галогеновой связи в комплексе йод-белок является самой высокой по отношению к другим галогенам [67]. Перечисленные функциональные участки белковой цепи дополняются в исследованиях [71–73] пролином, гистидином, а также аспарагиновой и глутаминовой кислотами. Для данных аминокислот авторы описывают модель взаимодействия йода с азотом.

Помимо галогеновых связей йод способен формировать более прочные ковалентные взаимодействия с ароматическим кольцом аминокислот тирозина, фенилаланина и триптофана [58,64,74]. Большаковой Л. С. и соавторами [31] описан механизм ковалентного связывания иона йода с аминокислотными остатками ароматических аминокислот в молочных белках, основанный на встраивании галогена в молекулу с одновременным изменением отрицательного заряда на положительный (1^+) и с образованием моно- или дийод-производных. Реакция в щелочной среде протекает благодаря наличию в молекуле аминокислоты гидроксильной группы, которая является сильным орто-пара-ориентантом, способствующим протеканию процесса электрофильного замещения [31]. Однако авторами исследования [73] ставится под сомнение возможность присоединения йода к бензольному кольцу, поскольку данное взаимодействие не подтверждено по результатам ИК-спектрометрического анализа. Несмотря на подобное утверждение, при прогнозировании связывания иона йода с фрагментами сыровоточных белков ароматические аминокислоты будут также включены в модель, поскольку строение йодированных белковых молекул, представленных в базе данных Protein Data Base, отражает потенциальную возможность формирования ковалентных связей.

Цинк обладает способностью к формированию внутрикомплексных соединений (хелатов) с аминокислотными остатками белковых цепей. Металлы связывают аминокислотные остатки, содержащие кислород, азот или серу, входящие в состав белковой цепи (свободные остатки цистеина, не задействованные в формировании дисульфидных связей, гистидин, пролин). В исследованиях [75–78] также подтверждаются способности гистидина и цистеина к хелатирова-

нию ионов цинка. Мавлоновым Г. Т. с соавторами [75] приведены аффинные свойства цинксодеждающего сорбента на основе цинковой формы минерала бетонита по отношению к гистидин-богатым пептидам с применением коммерческих препаратов цинксвязывающих пептидов «Церебролизин» и рекомбинантного инсулина. Авторами показано, что насыщенные Zn^{2+} ионообменные центры селективно связывали белковые компоненты, содержащие по два остатка аминокислот цистеина и гистидина («цинковые пальцы») [75]. Кутяков Б. А. и Салмина А. Б. описали механизм хелатирования цинка цистеином на примере белков металлотиионеинов, заключающийся в координации иона двухвалентного металла сульфгидрильными группами [77].

В работе [78] исследователи описывают механизм формирования амилоидных агрегатов в мозге при болезни Альцгеймера. Ключевую роль в этом процессе играет цинк, который связывается с боковыми группами аминокислотных остатков бета-амилоида: глутаминовой кислоты (положение 11), аргинина (положение 5) и трех остатков гистидина (положения 6, 13 и 14). Участие остатков глутаминовой кислоты, наряду с аминокислотными остатками аспарагиновой кислоты, цистеина и метионина, в хелатировании двухвалентных металлов, в том числе цинка, подчеркивается в исследовании [79]. Согласно описанному механизму, в хелатировании цинка участвуют минимум две аминокислоты с двумя функциональными группами: кислород карбоксильной группы и азот аминной группы (для глутаминовой кислоты), кислород гидроксильной группы и азот аминной группы (для аспарагиновой кислоты), азот аминной группы и кислород карбоксильной группы (для метионина). Важно отметить, что в координации цинка участвуют функциональные группы, обеспечивающие координационное число четыре. Такое координационное число характерно для комплексов цинка с белками и обуславливает их устойчивость [80].

Помимо вышеперечисленных аминокислот, авторами работы [73] отмечено формирование устойчивого хелатного комплекса цинка с четырьмя аминокислотными остатками аргинина при участии четырех атомов азота аминных групп, находящихся в молекуле кислоты рядом с карбоксильной группой. Кроме аргинина учеными также рассмотрены варианты хелатирования металла аспарагиновой, глутаминовой кислотами и фенилаланином по такой же схеме, как в случае с аргинином. Согласно данным, приведенным в исследовании [81], комплексы цинка с аминными группами аргинина обладают большим значением энергии связи, чем комплексы с азотом фенилаланина, глутаминовой и аспарагиновой кислот. Несмотря на меньшие значения энергии связи, данные аминокислотные остатки будут учитываться при *in silico* моделировании направленного гидролиза сывороточных белков ввиду способности хелатировать цинк, в том числе в комплексе с другими аминокислотными остатками. Кроме того, следует обратить внимание на противоречие данных в работах [79] и [81] в аспекте функциональных групп, участвующих в хелатировании цинка для глутаминовой и аспарагиновой кислот. В связи с этим можно предположить вероятность участия не только аминного азота, но и кислорода карбоксильной группы в хелатировании цинка аргинином и фенилаланином.

Важно подчеркнуть высокую биодоступность хелатов цинка для организма человека даже при условии нарушения метаболических процессов [82]. В исследовании [83] показана устойчивость координационных соединений с биоглигандами и высокая аффинность взаимодействия с белками катионами Zn^{2+} . Эти данные позволяют предположить потенциальную прочность хелата металла, формируемого с аминокислотными остатками белковых гидролизатов сывороточных белков.

Не менее важными факторами при разработке пищевой добавки, обогащенной йодом и цинком, являются подбор безопасного источника йода и цинка, а также определение последовательности и условий внесения препаратов микроэлементов в систему для обеспечения максимально возможной степени связывания ионов. По литературным данным, наиболее подходящими [для этих целей] источниками йода и цинка являются йодид калия и сульфат цинка [73]. Кроме того, полученная добавка должна обладать устойчиво-

стью к воздействию термомеханических факторов в условиях производственной среды, а также не терять своих свойств как при хранении в чистом виде, так и в составе обогащенного продукта. В работе [84] отражена устойчивость белковых веществ, обогащенных йодом, которая объясняется образованием прочной ковалентной связи C–I. Однако эта связь легко разрушается в процессе переваривания пищевой добавки в организме человека.

Представленные данные однозначно характеризуют белки молочной сыворотки как перспективные носители микронутриентов ввиду наличия в их структуре большого количества аминокислотных остатков, способных потенциально связать йод и хелатировать цинк. Кроме того, прочность химических связей соединений с биоглигандами предполагает возможность достижения необходимой технологической устойчивости разрабатываемой пищевой добавки. Имобилизованная матрица обладает высокой биологической доступностью, которая сохраняется даже при наличии метаболических нарушений в организме человека. При этом сывороточные белки являются органическими веществами, употребление которых в качестве пищевой добавки, обогащенной эссенциальными микроэлементами, не способно привести к их избыточному уровню в плазме крови.

4. Выводы

Последние статистические данные мониторинга йодной недостаточности и количества граждан, страдающих йоддефицитными заболеваниями, в Российской Федерации отражают низкое среднесуточное потребление йода и увеличение уровня заболеваемости патологиями щитовидной железы. Недостаток микронутриента в питании ведет к формированию ряда негативных последствий в работе эндокринной и других систем организма. При этом наиболее уязвимыми группами населения являются беременные и кормящие женщины, а также дети. В связи с этим актуализируется вопрос нивелирования дефицита йода.

Включение в диету пищевых продуктов и добавок с высоким содержанием микронутриента определяется как наиболее распространенный метод восполнения уровня йода в организме. При этом анализ рынка йодированных пищевых добавок и продуктов отражает необходимость разработки новых подходов к терапии и профилактике йоддефицитных состояний ввиду ряда недостатков существующих на данный момент средств ликвидации нехватки микроэлемента, снижающих их эффективность. В статье представлен перечень факторов, которые необходимо учитывать при разработке новых подходов предупреждения или устранения йоддефицитных состояний: использование в производстве органических субстратов для обогащения йодом и цинком и безопасных источников микроэлементов (йодид калия, сульфат цинка); обогащение матрицы не только йодом, но и веществами, участвующими в метаболизме йода в организме (например, цинк, селен, мио-инозитол). При этом готовая добавка должна обладать высокой устойчивостью к технологическим нагрузкам при условии ее использования в производстве пищевой продукции.

Сформированный перечень факторов, оказывающих влияние на эффективность алиментарных подходов в профилактике дефицита йода, позволяет рассматривать белки молочной сыворотки в качестве перспективного носителя эссенциальных микроэлементов. Это обосновано большим количеством аминокислотных остатков в пептидной последовательности, способных связывать йодид-ионы (аланин, метионин, глицин, валин, треонин, аргинин, пролин, гистидин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, тирозин, фенилаланин и триптофан) и хелатировать цинк-ионы (цистеин, гистидин, пролин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аргинин, метионин, фенилаланин). Следует отметить потенциальную возможность повышения степени связывания микроэлементов с сывороточными белками при проведении процесса частичного гидролиза ввиду высвобождения большого количества реакционноспособных групп. Важным фактором также является высокая биодоступность йода и цинка, соединенных с биоглигандами, а также их устойчивость к технологическим факторам (температура, pH и т. д.) ввиду формирования прочных химических связей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Яшин, А. Н., Петров, А. Н. (2023). Актуальность разработки обогащенных микроэлементами продуктов питания для диетотерапии при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Пищевые системы*, 6(3), 272–278. [Yashin, A. N., Petrov, A. N. (2023). The relevance of the development of food products enriched with trace elements for diet therapy in cardiovascular disease. *Food Systems*, 6(3), 272–278. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-3-272-278>
2. Коденцова, В. М., Вржесинская, О. А., Рисник, Д. В., Никитюк, Д. Б., Тутельян, В. А. (2017). Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы. *Вопросы питания*, 86(4), 113–124. [Kodentsova, V. M., Vrzhesinskaya, O. A., Risnik, D. V., Nikityuk, D. B., Tutelyan, V. A. (2017). Micronutrient status of population of the Russian Federation and possibility of its correction. State of the problem. *Voprosy*

- Pitaniia (*Problems of Nutrition*), 86(4), 113–124. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00067>
3. Абдулхабилова, Ф. М., Безлепкина, О. Б., Бровин, Д. Н., Вадина, Т. А., Мельниченко, Г. А., Нагаева, Е. В. и др. (2021). Клинические рекомендации «Заболевания и состояния, связанные с дефицитом йода». *Проблемы эндокринологии*, 67(3), 10–25. [Abdulhabirova, F. M., Bezlepina, O. B., Broyin, D. N., Vadina, T. A., Melnichenko, G. A., Nagaeva, E. V. et al. (2021). Clinical practice guidelines "Management of iodine deficiency disorders". *Problems of Endocrinology*, 67(3), 10–25.] <https://doi.org/10.14341/probl12750>
 4. Трошина, Е. А. (2022). Устранение дефицита йода – забота о здоровье нации. Экскурс в историю, научные аспекты и современное состояние правового регулирования проблемы в России. *Проблемы эндокринологии*, 68(4), 4–12. [Troshina, E. A. (2022). Elimination of iodine deficiency – care for the health of the nation. Elimination of iodine deficiency is a concern for the health of the nation. An excursion into the history, scientific aspects and the current state of the legal regulation of the problem in Russia. *Problems of Endocrinology*, 68(4), 4–12. (In Russian)] <https://doi.org/10.14341/probl13154>
 5. Маюрикова, Л. А., Кокшаров, А. А., Крапива, Т. В., Новоселов, С. В. (2020). Обогащение пищевых продуктов как фактор профилактики микронутриентной недостаточности. *Техника и технология пищевых производств*, 50(1), 124–139. [Mayurnikova, L. A., Koksharov, A. A., Krapiva, T. V., Novoselov, S. V. (2020). Food fortification as a preventive factor of micronutrient deficiency. *Food Processing: Techniques and Technologies*, 50(1), 124–139. (In Russian)] <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-124-139>
 6. Трошина, Е. А., Мазурина, Н. В., Сеньюшкина, Е. С., Маколина, Н. П., Галиева, М. О., Никанкина, Л. В. и др. (2021). Мониторинг эффективности программы профилактики заболеваний, связанных с дефицитом йода в Республике Тыва. *Проблемы эндокринологии*, 67(1), 60–68. [Troshina, E. A., Mazurina, N. V., Senyushkina, E. S., Makolina, N. P., Galieva, M. O., Nikankina, L. V. et al. (2021). Monitoring of iodine deficiency disorders in the Republic of Tyva. *Problems of Endocrinology*, 67(1), 60–68. (In Russian)] <https://doi.org/10.14341/probl12715>
 7. Blikra, M. J., Altintzoglou, T., Løvdal, T., Rognsæ, G., Skjipes, D., Skåra, T. et al. (2021). Seaweed products for the future: Using current tools to develop a sustainable food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 118 (Part B), 765–776. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.002>
 8. Поповичева, Н. Н. (2021). Функциональный обогащенный кисломолочный напиток с йодированным пищевым композитом. *Пищевые системы*, 4(3S), 228–231. [Popovicheva, N. N. (2021). Functional fortified fermented milk drink with iodized food composite. *Food Systems*, 4(3S), 228–231. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-228-231>
 9. Dydykin, A. S., Zubarev, Y. N., Logunova, E. I., Kuzlyakina, Y. A. (2023). Modern forms of iodine-containing food components. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(3), 172–182. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-3-172-182>
 10. Szymandera-Buszkka, K., Waszkowiak, K., Kaczmarek, A., Zaremba, A. (2021). Wheat dietary fibre and soy protein as new carriers of iodine compounds for food fortification — the effect of storage conditions on the stability of potassium iodide and potassium iodate. *LWT*, 137, Article 110424. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110424>
 11. Мамцев, А. Н., Козлов, В. Н., Динякова, М. В. (2016). Технология производства кисломолочного напитка, обогащенного йодом. *Переработка молока*, 11(205), 42–45. [Mamtsev, A. N., Kozlov, V. N., Dinyakova, M. V. (2016). Technology of production of fermented milk drink enriched with iodine. *Milk Processing*, 11(205), 42–45. (In Russian)]
 12. Grouff-Jacobsen, S., Hess, S. Y., Aakre, I., Gjengedal, E. L. F., Pettersen, K.B., Henjum, S. (2020). Vegans, vegetarians and pescatarians are at risk of iodine deficiency in Norway. *Nutrients*, 12(11), Article 3555. <https://doi.org/10.3390/nu12113555>
 13. Tattari, S., Gavaravarapu, S. M., Pullakhandam, R., Bhatia, N., Kaur, S., Sarwal, R. et al. (2022). Nutritional requirements for the elderly in India: A status paper. *Indian Journal of Medical Research*, 156(3), 411–420. https://doi.org/10.4103/ijmr.ijmr_2784_21
 14. Попова, А. Ю., Тутельян, В. А., Никитюк, Д. Б. (2021). О новых (2021) Нормах физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. *Вопросы питания*, 90(4), 6–19. [Popova, A. Yu., Tutelyan, V. A., Nikityuk, D. B. (2021). On the new (2021) Norms of physiological requirements in energy and nutrients of various groups of the population of the Russian Federation. *Voprosy Pitaniia (Problems of Nutrition)*, 90(4), 6–19. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-6-19>
 15. Torres-Sánchez, L., Gamboa, R., Bassol-Mayagoitia, S., Huesca-Gómez, C., Nava, M. P., Vázquez-Potisek, J. I. et al. (2019). Para-occupational exposure to pesticides, PON1 polymorphisms and hypothyroxinemia during the first half of pregnancy in women living in a Mexican floricultural area. *Environmental Health*, 18(1), Article 33. <https://doi.org/10.1186/s12940-019-0470-x>
 16. Bertinato, J. (2021). Iodine nutrition: Disorders, monitoring and policies. Chapter in the book: *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press, 2021. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.01.004>
 17. Krela-Kaźmierczak, I., Czarnywojtek, A., Skoracka, K., Rychter, A. M., Ratajczak, A. E., Szymczak-Tomczak, A. et al. (2021). Is there an ideal diet to protect against iodine deficiency? *Nutrients*, 13(2), Article 513. <https://doi.org/10.3390/nu13020513>
 18. Censi, S., Watutantrige-Fernando, S., Groccia, G., Manso, J., Plebani, M., Fagian, D. et al. (2019). The effects of iodine supplementation in pregnancy on iodine status, thyroglobulin levels and thyroid function parameters: Results from a randomized controlled clinical trial in a mild-to-moderate iodine deficiency area. *Nutrients*, 11(11), Article 2639. <https://doi.org/10.3390/nu11112639>
 19. Мохорт, Т. В. (2021). Йодный дефицит и беременность: проблема и решения. *Репродуктивное здоровье. Восточная Европа*, 11(4), 410–421. [Mokhort, T. V. (2021). Iodine deficiency and pregnancy: Problem and solutions. *Reproductive Health. Eastern Europe*, 11(4), 410–421. (In Russian)] <http://doi.org/10.34883/PI.2021.11.4.005>
 20. Hatch-McChesney, A., Lieberman, H. R. (2022). Iodine and iodine deficiency: A comprehensive review of a re-emerging issue. *Nutrients*, 14(17), Article 3474. <https://doi.org/10.3390/nu14173474>
 21. Дедов И. И., Трошина Е. А., Платонова Н. М., Маколина Н. П., Беловалова И. М., Сеньюшкина Е. С. и др. (2022). Профилактика йоддефицитных заболеваний: в фокусе региональные целевые программы. *Проблемы эндокринологии*, 68(3), 16–20. [Dedov I. I., Troshina E. A., Platonova N. M., Makolina N. P., Belovalova I. M., Senyushkina E. S. et al. (2022). Prevention of iodine deficiency diseases: Focus on regional targeted programs. *Problems of Endocrinology*, 68(3), 16–20. (In Russian)] <https://doi.org/10.14341/probl13119>
 22. Дракина, С. А., Перевощикова, Н. К., Бурмистрова, Е. Ю., Зинчук, С. Ф. (2022). Состояние здоровья организованных детей раннего возраста в зависимости от уровня обеспечения йодом. возможности коррекции. *Вопросы практической педиатрии*, 17(1), 128–134. [Drakina, S. A., Perevoschikova, N. K., Burmistrova, E. Yu., Zinchuk, S. F. (2022). Health status of young children depending on their iodine level. Opportunities for correction. *Clinical Practice in Pediatrics*, 17(1), 128–134. (In Russian)] <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2022-1-128-134>
 23. Cesar, A. J., Santos, S. I., Black, E. R., Chrestani, D. M. A., Duarte, A. F., Nilson, F. E. A. (2020). Iodine status of Brazilian school-age children: A national cross-sectional survey. *Nutrients*, 12(4), Article 1077. <https://doi.org/10.3390/nu12041077>
 24. Цукарева, Е. А., Авчинникова, Д. А. (2021). Сравнительная характеристика фактического питания младших школьников с различными показателями пищевого статуса. *Гигиена и санитария*, 100(5), 512–518. [Tsukareva, E. A., Avchinnikova, D. A. (2021). Comparative characteristics of the actual nutrition of younger schoolchildren with different indices of nutritional status. *Hygiene and Sanitation*, 100(5), 512–518. (In Russian)] <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-5-512-518>
 25. Manousou, S., Andersson, M., Eggertsen, R., Hunziker, S., Hulthén, L., Nyström, H. F. (2020). Iodine deficiency in pregnant women in Sweden: a national cross-sectional study. *European Journal of Nutrition*, 59, 2535–2545. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-02102-5>
 26. Lisco, G., De Tullio, A., Triggiani, D., Zupo, R., Giagulli, V. A., De Pergola, G. et al. (2023). Iodine Deficiency and Iodine Prophylaxis: An Overview and Update. *Nutrients*, 15(4), Article 1004. <https://doi.org/10.3390/nu15041004>
 27. Zimmermann, M. B. (2019). Iodine deficiency. Chapter in the book: *The thyroid and its diseases: A comprehensive guide for the clinician*. Springer, Cham, 2019. https://doi.org/10.1007/978-3-319-72102-6_8
 28. Karbownik-Lewińska, M., Stepniak, J., Iwan, P., Lewiński, A. (2022). Iodine as a potential endocrine disruptor — a role of oxidative stress. *Endocrine*, 78(2), 219–240. <https://doi.org/10.1007/s12020-022-03107-7>
 29. Saha, A., Mukherjee, S., Bhattacharjee, A., Sarkar, D., Chakraborty, A., Banerjee, A. et al. (2019). Excess iodine-induced lymphocytic impairment in adult rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(2), 110–118. <https://doi.org/10.1080/1576516.2018.1528647>
 30. Bolshakova, L. S., Lukin, D. E. (2020). Absorption of iodotyrosine from iodized milk protein in animals. *Foods and Raw Materials*, 8(1), 60–66. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-60-66>
 31. Большакова, Л. С., Лисицын, А. Б., Чернуха, И. М., Зубцов, Ю. Н., Лукин, Д. Е., Люблинский, С. Л. (2018). Исследование метаболизма йодтирозинов, входящих в состав молочного йодированного белка, у крыс. *Вопросы питания*, 87(3), 12–17. [Bolshakova, L. S., Lisitsyn, A. B., Chernukha, I. M., Zubtsov, Y. N., Lukin, D. E., Lyublinsky, S. L. (2018). The study of the metabolism of iodotyrosines included in the iodized milk protein in rats. *Voprosy pitaniia (Problems of Nutrition)*, 87(3), 12–17. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10026>
 32. Zimmermann, M. B. (2020). Iodine and the iodine deficiency disorders. Chapter in the book: *Present Knowledge in Nutrition: Basic Nutrition and Metabolism*. Academic Press, 2020.
 33. Barbaro, D., Orrù, B., Unfer, V. (2019). Iodine and myo-inositol: A novel promising combination for iodine deficiency. *Frontiers in Endocrinology*, 10, Article 457. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00457>
 34. Winder, M., Kosztyla, Z., Boral, A., Kocełak, P., Chudek, J. (2022). The impact of iodine concentration disorders on health and cancer. *Nutrients*, 14(11), Article 2209. <https://doi.org/10.3390/nu14112209>
 35. Rayman, M. P. (2019). Multiple nutritional factors and thyroid disease, with particular reference to autoimmune thyroid disease. *Proceedings of the Nutrition Society*, 78(1), 34–44. <https://doi.org/10.1017/S0029665118001192>
 36. Bonofiglio, D., Catalano, S. (2020). Effects of iodine intake and nutraceuticals in thyroidology: Update and prospects. *Nutrients*, 12(5), Article 1491. <https://doi.org/10.3390/nu12051491>
 37. Gharibzadeh, S. M. T., Jafari, S. M. (2017). The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nano-encapsulation. *Trends in Food Science and Technology*, 62, 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.017>
 38. Arias-Borrego, A., Velasco, I., Gómez-Ariza, J. L., García-Barrera, T. (2022). Iodine deficiency disturbs the metabolic profile and elemental composition of human breast milk. *Food Chemistry*, 371, Article 131329. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131329>
 39. Shaaban, E. S., Yamamah, G. A. N., Bassuoni, R. A., Hussien, L., Mohamed, M. S., Gad, M. (2022). Iodine deficiency and anemia levels of urban and rural Egyptian children: Follow up study. *Advances in Public Health Communication and Tropical Medicine*, 2022(6), 1–7. <https://doi.org/10.37722/APHCTM.2022601>
 40. Суплотова, Л. А., Макарова, О. В., Трошина, Е. А. (2022). Неонатальный тиреотропный гормон-индикатор мониторинга тяжести йодного дефицита. Что считать «точной отсечкой»? *Проблемы эндокринологии*, 68(6), 12–21. [Suplotova, L. A., Makarova, O. V., Troshina, E. A. (2022). Neonatal thyrotropin — indicator of monitoring of iodine deficiency severity. What's level is considered a «cutoff point»? *Problems of Endocrinology*, 68(6), 12–21. (In Russian)] <https://doi.org/10.14341/probl12892>
 41. Цуркан Л., Герасимов Г. А., Парванта И., Тиммер А. (2021). Прогресс в профилактике и устранении йоддефицитных заболеваний (ЙДЗ) в регионе Европы и Центральной Азии (ЕЦАЯ) в 2010–2020 годах. *Клиническая и экс-*

- периментальная тиреоидология, 17(4), 4–16. [Turcan, L., Gerasimov, G. A., Parvanta, I., Timmer, A. (2021). Progress in Iodine Deficiency Disorders (IDD) Control and Elimination in Europe and Central Asia Region (ECAR) in 2010–2020. *Clinical and Experimental Thyroidology*, 17(4), 4–16. (In Russian)] <https://doi.org/10.14341/ket12713>
42. Liu, P., Fan, L., Meng, F., Su, X., Liu, S., Shen, H. et al. (2020). Prevention and control of iodine deficiency disorders — China, 1995–2020. *China CDC Weekly*, 2(20), 345–349. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2020.090>
 43. Mathiaraman, S., de Macedo, A. N., Mente, A., Poirier, P., Lear, S. A., Wielgosz, A. et al. (2022). The prevalence and risk factors associated with iodine deficiency in Canadian adults. *Nutrients*, 14(13), Article 2570. <https://doi.org/10.3390/nu14132570>
 44. Randremanana, R. V., Bastaraud, A., Rabarijaona, L. P., Piola, P., Rakotonirina, D., Razafimanana, J. O. et al. (2019). First national iodine survey in Madagascar demonstrates iodine deficiency. *Maternal and Child Nutrition*, 15(2), Article e12717. <https://doi.org/10.1111/mcn.12717>
 45. World Health Organization. (2024). Microelements Data Base. Retrieved from <https://platform.who.int/nutrition/micronutrients-database/search-by-micro-nutrient> Accessed January 28, 2024
 46. Zimmermann, M. B. (2023). The remarkable impact of iodisation programmes on global public health. *Proceedings of the Nutrition Society*, 82(2), 113–119. <https://doi.org/10.1017/S0029665122002762>
 47. Адельмурзина, А. И., Викторов, В. В., Билалов, Ф. С., Тимофеева, Е. А. (2023). Результаты скрининга на врожденный гипотиреоз и транзиторные формы гипотиреоза у новорожденных в условиях йододефицитного региона-Республики Башкортостан. *Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования*, 2, 9–13. [Adelmurzina, A. I., Viktorov, V. V., Bilalov, F. S., Timofeeva, E. A. (2023). Screening results for congenital hypothyroidism and transitional forms of hypothyroidism in newborn in iodine-deficient region of the Republic of Bashkortostan. *Medicine. Sociology. Philosophy. Applied Research*, 2, 9–13. (In Russian)]
 48. Henjum, S., Brantsæter, A. L., Kurniasari, A., Dahl, L., Aadland, E. K., Gjengedal, E. L. F. et al. (2018). Suboptimal iodine status and low iodine knowledge in young Norwegian women. *Nutrients*, 10(7), Article 941. <https://doi.org/10.3390/nu10070941>
 49. Vasiljev, V., Subotić, A., Glavić, M. M., Juraga, D., Bilajac, L., Jelaković, B. et al. (2022). Overview of iodine intake. *Southeastern European Medical Journal*, 6(1), 12–20. <https://doi.org/10.26532/seemedj.v6i1.241>
 50. Гerasimov, Г. А., Цуркан, Л. Г., Асланян, Г., Шалару, И., Демискан, Д. (2021). Моделирование потребления йода с пищевыми продуктами промышленного производства, изготовленными с йодированной солью, у взрослого населения и беременных в Армении и Молдове. *Вопросы питания*, 90(1), 49–56. [Gerasimov, G. A., Tsurkan, L., Aslanian, H., Salaru, I., Demiscan, D. (2021). Modeling of iodine consumption with industrial processed foods made with iodized salt in the adults and pregnant in Armenia and Moldova. *Voprosy Pitaniia (Problems of Nutrition)*, 90(1), 49–56. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-1-49-56>
 51. Koukkou, E. K., Roupas, N. D., Markou, K. B. (2017). Effect of excess iodine intake on thyroid on human health. *Minerva Medica*, 108(2), 136–146. <https://doi.org/10.23736/S0026-4806-17-04923-0>
 52. Трошина, Е. А., Дедов, И. И., Платонова, Н. М., Маколина, Н. П., Беловалова, И. М., Сенюшкина, Е. С. и др. (2022). Региональная целевая программа «Профилактика йододефицитных заболеваний на 202X–202X годы» (Проект). *Проблемы эндокринологии*, 68(3), 21–29. [Troshina, E. A., Dedov, I. I., Platonova, N. M., Makolina, N. P., Belovalova, I. M., Senyushkina, E. S. et al. (2022). Regional target program «Prevention of iodine deficiency diseases for 202X–202X» (Draft). *Problems of Endocrinology*, 68(3), 21–29. (In Russian)] <https://doi.org/10.14341/probl13120>
 53. Беспалов, В. Г., Туманян, И. А. (2019). Дефицит йода в питании как мультидисциплинарная проблема. *Лечащий врач*, 3, 8–13. [Bespalov, V. G., Tumanyan, I. A. (2019). Iodine deficiency in the diet as a multidisciplinary problem. *Lechaschi Vrach*, 3, 8–13 (In Russian)]
 54. Зобкова, З. С. (2020). Внедрение и коммерциализация результатов научно-исследовательских работ в целномолочной отрасли. *Актуальные вопросы молочной промышленности, межотраслевые технологии и системы управления качеством*, 1(1), 199–204. [Zobkova, Z. S. (2020). Implementation and commercialization of the investigations results in whole milk branch. *Current Issues in the Dairy Industry, Intersectoral Technologies and Quality Management Systems*, 1(1), 199–204. (In Russian)] <https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-199-204>
 55. Trofimiuk-Müldner, M., Konopka, J., Sokołowski, G., Dubiel, A., Kieć-Klimczak, M., Kluczyński, Ł. et al. (2020). Current iodine nutrition status in Poland (2017): Is the Polish model of obligatory iodine prophylaxis able to eliminate iodine deficiency in the population? *Public Health Nutrition*, 23(14), 2467–2477. <https://doi.org/10.1017/S1368980020000403>
 56. Rodriguez-Diaz, E., Pearce, E. N. (2020). Iodine status and supplementation before, during, and after pregnancy. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 34(4), Article 101430. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2020.101430>
 57. Антипова, Л. В., Чубирко, М. И., Кульнева, Н. Г., Сторублевцев, С. А. (2018). Обеспечение безопасности и функциональности пищевых систем на основе сорбционных свойств коллагеновых белков. *Гигиена и санитария*, 97(8), 772–777. [Antipova, L. V., Chubirko, M. I., Kulneva, N. G., Storublevyev, S. A. (2018). Ensuring the safety of food systems based on the sorption properties of collagen proteins *Hygiene and Sanitation*, 97(8), 772–777. (In Russian)] <http://doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-8-772-777>
 58. Куликовский, А. В., Лисицын, А. Б., Кузнецова, О. А., Вострикова, Н. Л., Горлов, И. Ф. (2016). Методические аспекты определения органического йода (йодтирозина) в пищевых продуктах. *Вопросы питания*, 85(4), 91–97. [Kulikovsky, A. V., Lisitsyn, A. B., Kuznetsova, O. A., Vostrikova, N. L., Gorlov, I. F. (2016). Methodological aspects of determining organic iodine (iodotyrosines) in food products. *Voprosy Pitaniia (Problems of Nutrition)*, 85(4), 91–97. (In Russian)]
 59. Савлукова, Ю. О., Ковалева, Е. Г. (2023). Получение функционального йогурта, обогащенного йодом в биодоступной форме. *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии*, 11(2), 83–92. [Savlukova, Y. O., Kovaleva, E. G. (2023). Production of functional yogurt enriched with iodine in a bioavailable form. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology*, 11(2), 83–92. (In Russian)]
 60. Хотимченко, С. А., Шарафетдинов, Х. Х. (2020). О профилактике йоддефицитных состояний. Сообщение 2. *Вопросы питания*, 89(3), 126–128. [Khotimchenko, S. A., Sharafetdinov, Kh. Kh. (2020). On the prevention of iodine deficiency. Message 2. *Voprosy Pitaniia (Problems of Nutrition)*, 89(3), 126–128. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10037>
 61. Кобзева, С. Ю., Жмурина, Н. Д., Подкопаева, З. П., Ашихина, Л. А., Тихойкина, И. М. (2016). Применение порошка ламинарии для повышения качества кулинарных изделий. *Вопросы питания*, 85(52), 193–193. [Kobzeva, S. Yu., Zhmurina, N. D., Podkopaeva, Z. P., Ashikhina, L. A., Tikhoykina, I. M. (2016). Application of the kelp powder to increase quality of culinary products. *Voprosy Pitaniia (Problems of Nutrition)*, 85(52), 193–193. (In Russian)]
 62. Табаторович, А. Н., Резниченко, И. Ю. (2016). Технология и оценка качества пасты, обогащенной органическим йодом. *Техника и технология пищевых производств*, 1(40), 61–67. [Tabatorovich, A. N., Reznichenko, I. Yu. (2016). Technology and quality estimation of marshmallow enriched with organic iodine. *Food Processing: Techniques and Technology*, 1(40), 61–67. (In Russian)]
 63. Славянский, А. А., Грибова, В. А., Николаева, Н. В., Митрошина, Д. П. (2021). Исследование возможности применения гранулированного сахара содержащего продукт с функциональными добавками при производстве желе из начинки. *Техника и технология пищевых производств*, 51(4), 859–868. [Slavyanskiy, A. A., Gribova, V. A., Nikolaeva, N. V., Mitroshina, D. P. (2021). Granulated sugar-containing functional products in jelly fillings. *Food Processing: Techniques and Technology*, 51(4), 859–868. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-859-868>
 64. Giro, T. M., Kulikovskiy, A. V., Andreeva, S. V., Gorlov, I. F., Giro, A. V. (2020). Production of enriched lamb in biodegradable packaging. *Foods and Raw Materials*, 8(2), 312–320. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-312-320>
 65. Кручинин, А. Г., Бигаева, А. В., Туровская, С. Н., Илларионова, Е. Е. (2022). Современное состояние рынка вторичных сырьевых ресурсов молочной промышленности. *Ползуновский вестник*, 4(1), 140–148. [Kruchinin, A. G., Bigaeva, A. V., Turovskaya, S. N., Illarionova, E. E. (2022). Current state of the market of secondary raw material resources of the dairy industry. *Polzunovskiy Vestnik*, 4(1), 140–148. (In Russian)] <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2022.04.018>
 66. Kruchinin, A. G., Bolshakova, E. I. (2022). Hybrid strategy of bioinformatics modeling (in silico): Biologically active peptides of milk protein. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(1), 46–57. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-46-57>
 67. Sirimulla, S., Bailey, J. B., Vegesna, R., Narayan, M. (2013). Halogen interactions in protein–ligand complexes: Implications of halogen bonding for rational drug design. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(11), 2781–2791. <https://doi.org/10.1021/ci400257k>
 68. Shinada, N. K., de Brevin, A. G., Schmidtke, P. (2019). Halogens in protein–ligand binding mechanism: A structural perspective. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(21), 9341–9356. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01453>
 69. Costa, P. J., Nunes, R., Vila-Viçosa, D. (2019). Halogen bonding in halocarbon–protein complexes and computational tools for rational drug design. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 14(8), 805–820. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1619692>
 70. Nunes, R. S., Vila-Viçosa, D., Costa, P. J. (2021). Halogen bonding: An underestimated player in membrane–ligand interactions. *Journal of the American Chemical Society*, 143(11), 4253–4267. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c12470>
 71. Ибрагимова, З. Р., Базрова, Ф. С. (2007). Обогащение йодом полуфабрикатов из пресноводной рыбы. *Пищевая промышленность*, 3, 59–60. [Ibragimova, Z. R., Baerova, F. S. (2007). Iodine enrichment of semi-finished products from freshwater fish. *Food Industry*, 3, 59–60. (In Russian)]
 72. Lukin, D. E., Utyanov, D. A., Milushev, R. K., Vostrikova, N. L., Knyazeva, A. S. (2023). Effect of organically bound iodine in cattle feed on health indicators. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(1), 26–33. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-1-26-33>
 73. Сордонова, Е. В., Жамсаранова, С. Д., Лыгденов, Д. В. (2018). Разработка и характеристика органических производных йода и цинка. *Вестник ВСИТУ*, 2(69), 73–79. [Sordonova, E. V., Zhamsaranova, S. D., Lygdenov, D. V. (2018). Development and characterization of organic iodine and zinc derivatives. *ESSUTM Bulletin*, 2(69), 73–79. (In Russian)]
 74. Лескова, С. Ю., Данилов, М. Б., Гомбожапова, Н. И. (2016). Создание обогащенной белково-жировой эмульсии для мясopодуков. *Техника и технология пищевых производств*, 2(41), 55–61. [Leskova, S. Yu., Danilov, M. B., Gombozhapova, N. I. (2016). Creation of enriched protein-and-fat emulsion for meat products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 2(41), 55–61. (In Russian)]
 75. Мавлонов, Г. Т., Рустамов, Н. Ф., Шарипов, А. Т., Аминов, С. Н. (2019, 29 ноября). Активированный цинком бентонит–природный неорганический сорбент для гистидин содержащих пептидов. Материалы международной научно-практической конференции (67-й годичной), посвященной 80-летию ТГМУ им. Абули ибни Сино и «Годам развития села, туризма и народных ремесел (2019–2021)», Душанбе, Таджикистан. Электронный ресурс: https://www.researchgate.net/profile/Ruslan-Aminov/publication/337843573/IMMUNE_SYSTEM_OF_MALE_RAT_AFTER_HIRUDOLOGICAL_INTERVENTION/links/5dee94af92851c8364704b3c/IMMUNE-SYSTEM-OF-MALE-RAT-AFTER-HIRUDOLOGICAL-INTERVENTION.pdf?page=186 Дата доступа 10.03.2024 [Mavlonov, G. T., Rustamov, N. F., Sharipov, A. T., Aminov, S. N. (November 19, 2019). Zinc-activated bentonite — a natural inorganic sorbent for histidine-containing

peptides. Proceedings of the International scientific-practical conference (67th annual) dedicated to the 80th anniversary of Avicenna Tajik State Medical University and “Years of the development of rural areas, tourism and folk crafts (2019–2021)”, Dushanbe, Tajikistan. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Ruslan-Aminov/publication/337843573_IMMUNE_SYSTEM_OF_MALE_RAT_AFTER_HIRUDOLOGICAL_INTERVENTION/links/5dee94af92851c8364704b3c/IMMUNE-SYSTEM-OF-MALE-RAT-AFTER-HIRUDOLOGICAL-INTERVENTION.pdf#page=186 Accessed March 10, 2024 (In Russian)]

76. Кельсиева, О. А., Гладилович, В. Д., Подольская, Е. П. (2013). Металл-аффинная хроматография. Основы и применение. *Научное приборостроение*, 23(1), 74–85. [Keltsieva, O. A., Gladilovich, V. D., Podolskaya, E. P. (2013). Immobilized metal ion affinity chromatography (imac). principle and applications. *Scientific Instrumentation*, 23(1), 74–85. (In Russian)]

77. Кутяков, В. А., Салмина, А. Б. (2014). Металлотионеины как сенсоры и регуляторы обмена металлов в клетках. *Бюллетень сибирской медицины*, 13(3), 91–99. [Kutyakov, V. A., Salmina, A. B. (2014). Metallothioneins as sensors and controls exchange of metals in the cells. *Bulletin of Siberian Medicine*, 13(3), 91–99. (In Russian)]

78. Popov I. A., Indeikina M. I., Kononikhin A. S., Starodubtseva N. L., Nikolaev E. N., Kozin S. A. et al. (2013). ESI–MS identification of the minimal zinc-binding center in natural isoforms of β -amyloid domain 1–16. *Molecular Biology*, 47(3), 440–445. <https://doi.org/10.1134/S002689331302012X>

79. Pinto, L. D., Puppini, P. A., Behring, V. M., Alves, O. C., Rey, N. A., Felcman, J. (2012). Solution and solid state study of copper (II) ternary complexes containing amino acids of interest for brain biochemistry-2: Homocysteine with aspartate, glutamate or methionine. *Inorganica Chimica Acta*, 386, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.01.025>

80. Скугорева, С. Г., Ашихмина, Т. Я., Фокина, А. И., Лялина, Е. И. (2016). Химические основы токсического действия тяжёлых металлов (обзор). *Теоретическая и прикладная экология*, 1, 4–13. [Skugoreva, S. G., Ashihmina, T. Y., Fokina, A. I., Lyalina, E. I. (2016). Chemical groups of toxic effect of heavy metals (review). *Theoretical and Applied Ecology*, 1, 4–13. (In Russian)]

81. Жамсаранова, С. Д., Лыгденов, Д. В., Соколов, Д. В., Болхонов, Б. А. (2019). Создание гипотетической компьютерной модели органических форм микроэлементов. *Вестник ВСГТУ*, 3(74), 26–34. [Jamsaranova, S. D., Lygdenov, D. V., Sokolov, D. V., Bolkhonov, B. A. (2019). Creation of a hypothetical computer model of organic forms of microelements. *ESSUTM Bulletin*, 3(74), 26–34. (In Russian)]

82. Шишкова, В. Н., Нарциссов, Я. Р., Титова, В. Ю., Шешегова, Е. В. (2022). Молекулярные механизмы, определяющие применение комбинации глицина и цинка в коррекции основных проявлений стресса и тревоги. *Фармация и фармакология*, 10(5), 404–415. [Shishkova, V. N., Narcissov, Y. R., Titova, V. Y., Sheshegova, E. V. (2022). Molecular mechanisms defining application of glycine and zinc combination in correction of stress and anxiety main manifestations. *Pharmacy and Pharmacology*, 10(5), 404–415. (In Russian)] <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2022-10-5-404-415>

83. Чекнев, С. Б. (2021). Белки γ -глобулиновой фракции, хелатирующие катионы металлов, в физиологической иммунорегуляции. Сонаправленное действие меди и цинка. *Иммунология*, 42(5), 546–551. [Cheknyov, S. B. (2021). The proteins of γ -globulin fraction binding metal ions, in physiological immune regulation. Mutual action of copper and zinc. *Immunologiya*, 42(5), 546–551. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-5-546-551>

84. Цыб, А. Ф., Тутельян, В. А., Онищенко, Г. Г., Шахтарин, В. В., Силаев, А. В., Розиев, Р. А. и др. (2004). Новые подходы к решению проблемы ликвидации йоддефицитных состояний. *Пищевая промышленность*, 11, 84–86. [Tsib, A. F., Tutelyan, V. A., Onishchenko, G. G., Shakhtarin, V. V., Silaev, A. V., Rozyev, R. A. et al. (2004). A new approach to settling the problem of liquidation Iodium deficit. *Food Industry*, 11, 84–86. (In Russian)]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Барковская Ирина Александровна — аспирант, младший научный сотрудник, Лаборатория технологий биотрансформации и консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7–499–236–02–36 E-mail: i_barkovskaya@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4779-1076 * автор для контактов	Irina A. Barkovskaya , Postgraduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Biotransformation and Preservation Technologies, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel: +7–499–236–02–36 E-mail: i_barkovskaya@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4779-1076 * corresponding author
Кручинин Александр Геннадьевич — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Лаборатория технологий биотрансформации и консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7–499–236–02–36 E-mail: a_kruchinin@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3227-8133	Alexander G. Kruchinin , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Biotransformation and Preservation Technologies, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel: +7–499–236–02–36 E-mail: a_kruchinin@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3227-8133
Рожкова Ирина Владимировна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Лаборатория прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35/7 Тел.: +7–499–236–72–16 E-mail: i_rozhkova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4441-4515	Irina V. Rozhkova , Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Applied Microbiology and Genomics of Microorganisms, Laboratory of Applied Microbiology and Microbial Genomics, All-Russian Dairy Research Institute 35/7, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel: +7–499–236–72–16 E-mail: i_rozhkova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4441-4515
Критерии авторства	Contribution
Концептуализация — Кручинин А. Г. и Барковская И. А. ; Обработка данных — Кручинин А. Г. и Барковская И. А. ; Исследование — Барковская И. А. ; Управление проектом — Кручинин А. Г. и Рожкова И. В. ; Контроль — Кручинин А. Г. и Рожкова И. В. ; Написание — первоначальная версия — Барковская И. А. и Кручинин А. Г. ; Написание — рецензирование и редактирование — Кручинин А. Г. и Рожкова И. В.	Conceptualization — Kruchinin A. G. и Barkovskaya I. A. ; Data curation — Kruchinin A. G. и Barkovskaya I. A. ; Investigation — Barkovskaya I. A. ; Project administration — Kruchinin A. G. и Rozhkova I. V. ; Supervision — Kruchinin A. G. и Rozhkova I. V. ; Writing — original draft — Barkovskaya I. A. и Kruchinin A. G. ; Writing — review and editing — Kruchinin A. G. и Rozhkova I. V.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-246-252>

Поступила 13.02.2024

Поступила после рецензирования 20.05.2024

Принята в печать 24.05.2024

© Мельникова Е. И., Станиславская Е. Б., Богданова Е. В., Шабалова Е. Д., 2024



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

Научная статья

Open access

ОБОСНОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ИЗОЛЯТА СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ

Мельникова Е. И., Станиславская Е. Б.*, Богданова Е. В., Шабалова Е. Д.

Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

микрофильтрация,
ультрафильтрация,
диафильтрация,
сывороточные
белки, керамические
мембраны,
фракционирование

Работа посвящена изучению совместного влияния технологических параметров микро- и ультрафильтрации для обоснования рациональных режимов при производстве изолята сывороточных белков. Установлена последовательность технологических операций в производстве изолята сывороточных белков: очистка молочной сыворотки от казеиновой пыли и жира, пастеризация, ультрафильтрация, микрофильтрация, ультрафильтрация (совмещенная с диафильтрацией), распылительная сушка. Концентрирование проводили от массовой доли сухих веществ 5,4–5,6% до 11,3–12,6% (фактор концентрирования по белку — 6,5–13). Полученный ретентат направляли на микрофильтрацию для максимального удаления молочного жира. Процесс проводили с применением керамических мембран (размер пор от 0,14 мкм до 1,4 мкм). Задерживающая способность мембран по белку составляла 0,2–0,4%, по жиру 64,6–76,2%. Установлены рациональные режимы микрофильтрации: входящее давление 0,15–0,2 МПа, температура — 10–15 °С. Микрофильтрационный пермеат подвергали повторной ультрафильтрации, совмещая ее с диафильтрацией. При диафильтрации половинным объемом воды удавалось достигнуть содержания белка в сухом веществе продукта не более 87%, что не соответствовало требованиям к изоляту. Увеличение количества воды для диафильтрации способствовало повышению содержания белка в сухом веществе концентрата. Массовая доля белка изолята сывороточных белков перед сушкой составляла не менее 17%. Сухой изолят сывороточных белков характеризовался высоким содержанием белка — 93% (в пересчете на СОМО), показатели качества и безопасности соответствовали требованиям нормативной документации.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена в рамках проекта с использованием мер государственной поддержки развития кооперации российской образовательной организации высшего образования и организации реального сектора экономики с целью реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства, предусмотренного ПП Российской Федерации от 09 апреля 2010 г. № 218, по теме «Создание высокотехнологичного импортозамещающего производства белковых ингредиентов на основе молочного сырья для продуктов здорового питания» (соглашение № 075–11–2022–020 от 07.04.2022). Проект выполняется при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России). НИОКР проводятся во ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий» (ВГУИТ).

Received 13.02.2024

Accepted in revised 20.05.2024

Accepted for publication 24.05.2024

© Melnikova E. I., Stanislavskaya E. B., Bogdanova E. V., Shabalova E. D., 2024

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

Review article

Open access

JUSTIFICATION OF MEMBRANE FILTRATION PARAMETERS IN THE PRODUCTION OF WHEY PROTEIN ISOLATE

Elena I. Melnikova, Ekaterina B. Stanislavskaya*, Ekaterina V. Bogdanova, Ekaterina D. Shabalova

Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia

KEY WORDS:

microfiltration,
ultrafiltration,
diafiltration, whey
proteins, ceramic
membranes,
fractionation

ABSTRACT

The research was aimed at studying the combined effect of micro- and ultrafiltration technological parameters for justification of rational modes in the production of whey protein isolate. The process flow of whey protein isolate production was determined. It includes whey purification from casein dust and fat, pasteurization, ultrafiltration, microfiltration, ultrafiltration (combined with diafiltration), spray drying. Concentration was carried out from a dry matter mass fraction of 5.4–5.6% to 11.3–12.6% (protein concentration factor is 6.5–13). Microfiltration of the resulting retentate was used to maximize disposal of milk fat. The process was carried out using ceramic membranes (pore size from 0.14 µm to 1.4 µm). Their protein retention capacity was 0.2–0.4%, fat retention capacity was 64.6–76.2%. Rational microfiltration modes were selected. They are inlet pressure 0.15–0.2 MPa and temperature 10–15 °C. The microfiltration permeate was treated via repeated ultrafiltration combining it with diafiltration. It was possible to achieve the protein content in dry matter of the product not more than 87% using diafiltration with half the volume of water. However, it does not meet the requirements for the isolate. Increasing the amount of water for diafiltration caused a rise in the protein content in dry matter of the concentrate. The protein mass fraction in the whey protein isolate before drying was at least 17%. The whey protein isolate powder was characterized by the high protein content (93% in terms of SNF), quality and safety indicators met the requirements of regulatory documentation.

FUNDING: The research was performed within the framework of the project using state support for the development of cooperation between Russian institutions of higher education and real sector of economy with the aim of realization of the complex project on creation of hi-tech production envisaged by the Decree of the Russian Federation Government (April 09, 2010, No. 218) on the theme “Creation of the high-tech import-substituting production of protein ingredients based on dairy raw materials for healthy food products” (Agreement No. 075–11–2022–020, April 07, 2022). The project has been carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. R&D has been performed in the FSBEI HE Voronezh State University of Engineering Technologies (VSUET).

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мельникова, Е. И., Станиславская, Е. Б., Богданова, Е. В., Шабалова, Е. Д. (2024). Обоснование параметров мембранной фильтрации при производстве изолята сывороточных белков. *Пищевые системы*, 7(2), 246–252. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-246-252>

FOR CITATION: Melnikova, E. I., Stanislavskaya, E. B., Bogdanova, E. V., Shabalova, E. D. (2024). Justification of membrane filtration parameters in the production of whey protein isolate. *Food Systems*, 7(2), 246–252. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-246-252>

1. Введение

Развитие индустрии продуктов функционального и специализированного питания — основной драйвер в разработке и практической реализации технологий пищевых ингредиентов, в т. ч. концентратов и изолятов сывороточных белков [1]. Сывороточные белки содержат оптимальный набор незаменимых аминокислот, в том числе с разветвленной цепью (валин, лейцин и изолейцин) и превосходят альтернативные белки животного и растительного происхождения по своей биологической ценности [2]. Наиболее значимыми фракциями сывороточных белков являются β-лактоглобулин, α-лактоальбумин, иммуноглобулины, альбумин сыворотки крови, лактоферрин, лактопероксидаза и др. Сывороточные белки демонстрируют широкий диапазон биологической активности, положительно влияя на пищеварение, метаболизм нутриентов, резистентность к заболеваниям [3]. β-лактоглобулин является источником пептидов, обладающих антигипертензивной, антимикробной, антиоксидантной, противораковой, иммуномодулирующей, опиоидной и гипохолестеринемической активностью [4]. Одной из важных физиологических функций этого белка является транспортировка и защита ретинола. Кроме того, β-лактоглобулин связывает свободные жирные кислоты и тем самым способствует липолизу, поскольку жирные кислоты являются сильными ингибиторами липаз [5]. Вторым белком сыворотки по количественному соотношению является α-лактоальбумин. Это компактный глобулярный белок, который характеризуется самыми малыми размерами по сравнению с другими сывороточными белками. Биологическая функция α-лактоальбумина заключается в регулировании синтеза лактозы из УДФ-Д-галактозы и Д-глюкозы [6]. В присутствии α-лактоальбумина активизируется фермент галактозилтрансфераза, который катализирует перенос галактозы в N-ацетилглюкозаминиловые остатки на боковых углеводных цепях гликопротеина. α-лактоальбумин и его гидролизаты обладают антистрессовой активностью, антимикробным и иммуномодулирующим действием, гипотензивной активностью, способностью регулировать рост клеток. Лактоферрин и церулоплазмин — белки, связывающие железо и медь. Лактоферрин является гликопротеидом, имеет два участка для связывания металла, по структуре и функциям идентичен трансферрину крови. Главной функцией лактоферрина является, в связи с этим, транспорт железа. Кроме того, лактоферрин способен выполнять важнейшую защитную функцию, он проявляет бактериостатическое действие на микрофлору кишечника, способствуя усилению бактерицидного действия лизоцима. Церулоплазмин является медьсодержащим белком с молекулярной массой около 15000. Регулирует содержание меди в организме, обладает ферментативными свойствами ферроксидазы — катализирует окисление Fe²⁺ в Fe³⁺. Церулоплазмин является наиболее сильным среди сывороточных белков ингибиторов образования гипохлорита в системе «миелопероксидаза — H₂O₂ — Cl⁻»; супрессивный эффект обусловлен его прямым взаимодействием с миелопероксидазой. В физиологических условиях церулоплазмин на порядок более эффективно захватывает OCl⁻, чем трансферрин, альбумид, супероксиддисмутаза и выполняет, таким образом, ведущую роль в антиоксидантной защите клеток в острой фазе воспаления. Способность церулоплазмينا окислять ионы Fe²⁺, а также эффективно ингибировать гидроксильные радикалы делает его наиболее эффективным сывороточным ингибитором активированных кислородных метаболитов, образующихся в реакции Фентона. Молекулы иммуноглобулинов представляют собой мономерные или полимерные, построенные из одинаковых структурных единиц или субъединиц. Иммуноглобулины относятся к гликопротеидам — к тяжелым цепям субъединиц присоединены олигосахариды. Последние представлены остатками гексоз, гексозаминов и сиаловой кислоты. Иммуноглобулины молока способствуют агглютинации бактериальных клеток и антигенов, связыванию белков системы комплемента, предотвращению адгезии патогенных микроорганизмов к клеткам эндотелия, ингибированию метаболизма бактерий путем блокирования секретируемых бактериальных ферментов, нейтрализации токсинов и вирусов. Антигенин — специфическая рибонуклеаза, являющаяся активным фактором роста кровеносных сосудов и основой создания лекарственных препаратов для лечения ран различного генезиса [7].

Перспективность развития производства белковых сывороточных ингредиентов подтверждена существенным сырьевым потенциалом [8], а также крайне незначительной долей собственного производства, не обеспечивающего продовольственную безопасность страны. Ежегодно в Российскую Федерацию импортируется более 50 тыс. т белковых ингредиентов, в то время как собственное производство составляет не более 25% от потребности в них [9]. Наиболее концентрированной и очищенной формой сывороточных белков яв-

ляется изолят [10]. Его производство характеризуется применением баромембранных методов, основанных на разнице размеров частиц молочной сыворотки (Таблица 1).

Таблица 1. Дисперсная характеристика молочной сыворотки [11]
Table 1. Dispersion characteristic of whey [11]

Компонент сыворотки	Размер молекулы или частицы, нм
Жир	200–10000
Казеин	40–300
α-Лактоглобулин	5–20
β-Лактоглобулин	25–50
Молочный сахар (лактоза)	1,0–1,5
Минеральные соли	0,1–1,0

Мембранная фильтрация (ультра- и микрофильтрация) обеспечивает максимальное удаление из сыворотки жира, лактозы, минеральных веществ, а также концентрирование сывороточных белков [12]. Фракционирование сухих веществ молочной сыворотки с последующим концентрированием белка на практике реализуется, как правило, с применением ультрафильтрации [13]. Удаление из УФ-концентрата молочного жира может быть обеспечено технологической операцией микрофильтрации [14]. Дополнительное снижение доли истинно растворимых веществ возможно с применением диалитической [15]. Особую важность при проведении мембранной фильтрации имеют характеристики мембран, обеспечивающие получение белковых ингредиентов заданного качества. Индикаторами способности мембраны задерживать молекулы определенного размера могут служить размер пор, пропускная и задерживающая способность [16]. На проницаемость мембран влияют параметры эксплуатации: температура, давление, концентрация сухих веществ [17]. Чтобы определить, пройдут ли те или иные вещества через мембрану, важно знать размер, форму, деформируемость и гидродинамический радиус их молекул. Обычно молекулы с линейной, легко деформируемой формой хуже задерживаются мембраной, чем структурированные, жесткие молекулы с той же молекулярной массой. Под действием давления более гибкие молекулы могут деформироваться и проходить через поры, которые иначе были бы слишком малы для них. На кажущийся размер молекулы в свою очередь влияют ионная сила и значение pH раствора. Так, сильно заряженный полиэлектролит легче задерживается мембраной, когда ионная сила раствора меньше. В этих условиях радиус молекулы увеличивается и, следовательно, прохождение молекулы через поры мембраны затрудняется [18]. На проницаемость мембраны влияет также состав фильтруемого материала [19]. Так, низкомолекулярные белки лучше проходят через мембрану, находясь в чистом растворе, чем если бы они подвергались мембранной фильтрации в присутствии высокомолекулярных белков [18].

В известной литературе приводятся разные варианты комбинирования мембранных методов для получения изолятов [20]. Процесс ультрафильтрации изучен более широко, разработаны и апробированы его технологические режимы. Однозначного решения по параметрам микрофильтрации не установлено [21]. Определению ее рациональных режимов посвящен ряд работ российских и зарубежных авторов, в которых изучено влияние размера пор мембран, температуры и давления микрофильтрации. Показано, что данные технологические параметры оказывают наиболее существенное влияние на пропускную и задерживающую способность мембран и возможность достижения конкретного результата по содержанию белка. Определенное значение имеет размер пор [22] и материал, из которого изготовлена мембрана [23]. Так, мембранную фильтрацию проводят с использованием полимерных, керамических и других типов мембран, выбор которых зависит от условий производства и целей процесса. Исследование совместного влияния технологических параметров микро- и ультрафильтрации имеет большое значение при производстве изолята сывороточных белков с заданными качественными показателями.

Цель работы — определение рациональных технологических параметров микро- и ультрафильтрации, позволяющих получить изолят сывороточных белков с заданными качественными показателями. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- определить последовательность операций ультра-, микро- и диалитической при производстве изолята сывороточных белков;
- обосновать выбор мембран (селективную проницаемость), а также рациональных параметров микрофильтрации;

□ исследовать состав продуктов мембранного фракционирования и концентрирования на всех стадиях технологического процесса и конечных продуктов.

2. Объекты и методы

Исследования проводились в экспериментальных, исследовательских и производственных лабораториях ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий» (г. Воронеж, РФ), ПАО Молочный комбинат «Воронежский» (г. Воронеж, РФ), Филиала ПАО МК «Воронежский» «Калачеевский сырзавод» (г. Калач, РФ).

Объекты исследования — очищенная (в т. ч. обезжиренная) пастеризованная подсырная сыворотка, полученная при производстве полутвердых сыров (Российский, Калачеевский, Сливочный), УФ-концентрат и пермеат подсырной сыворотки, микрофильтрационный концентрат и фильтрат, полученные в результате микрофильтрации УФ-концентрата подсырной сыворотки, сгущенный изолят сывороточных белков, сухой изолят сывороточных белков.

Переработке подвергали не менее 600 л очищенной пастеризованной молочной сыворотки. Для проведения процесса диализа применяли питьевую воду, прошедшую обратноосмотическую очистку.

Для проведения процессов мембранной фильтрации применяли следующее оборудование:

1. Установка пилотная мембранная марки «ВОДОПАД УМТКп-1» производства ООО «ФИЛЬТРОПОР ГРУПП» (РФ), оснащенная керамическими микрофильтрационными мембранами с размером пор 0,14 и 1,4 мкм.
2. Установка мембранной фильтрации УУФ-1М19-6 производства компании CEMTRON (Германия), оснащенная керамическими микрофильтрационными мембранами с размером пор 0,1 и 0,8 мкм, полимерными ультрафильтрационными мембранами с размером пор 20 кДа.

Сушку осуществляли на лабораторной распылительной сушилке УС-500 (KHP) при температуре входящего воздуха 160–170 °С, исходящего воздуха — 85–95 °С.

При выполнении экспериментальных исследований использовали стандартные методы. Массовую долю сухих веществ объектов исследования определяли гравиметрическим методом, основанным на высушивании анализируемой пробы продукта при постоянной температуре и вычислении массовой доли сухих веществ по потере массы анализируемой пробы в процентах. Массовую долю общего белка, истинного белка, сывороточных белков оценивали методом Кьельдаля. Метод основан на минерализации органического вещества анализируемой пробы продукта концентрированной серной кислотой в присутствии катализатора с образованием сернокислого аммония, переведении его в аммиак, отгонке последнего в раствор борной кислоты, количественном учете аммиака титриметрическим методом и расчете массовой доли белка в анализируемой пробе. Для определения доли сывороточных белков предварительно проводят осаждение казеина раствором уксусной кислоты. Массовую долю жира определяли кислотным методом Гербера, основанным на выделении жира из продукта под действием концентрированной серной кислоты и изоамилового спирта с последующим центрифугированием и измерении объема выделившегося жира в градуированной части жиромера. Массовую долю углеводов оценивали поляризметрическим методом с помощью автоматического поляриметра-сахариметра AP-300 (ATAGO CO., Япония). Метод основан на измерении степени поляризации света и угла вращения плоскости поляризации света при прохождении его через оптически активные вещества. Определение массовой доли золы проводили весовым методом после озоления пробы продукта при температуре (550±25) °С. Плотность объектов исследования оценивали ареометрическим методом, основанным на определении объема вытесненной жидкости и массы плавающего в ней ареометра. Титруемую кислотность определяли титриметрическим методом, основанным на определении точки эквивалентности в присутствии индикатора фенолфталеина. Значение активной кислотности определяли потенциометрическим методом, основанном на измерении разности потенциалов между двумя электродами (измерительным и электродом сравнения), погруженными в анализируемую пробу. Определение индекса растворимости проводили по методике, основанной на измерении объема нерастворившегося осадка в восстановленной пробе сухого молочного продукта. Количество дрожжей и плесневых грибов определяли методом, основанным на их способности при посеве продукта либо его разведений на плотную питательную среду образовывать видимые характерные колонии через 3–5 сут при температуре (24±1)°С или (30±1)°С. Общее количество микроорганизмов оценивали методом, который основан на подсчете колоний микроорганизмов, вырастающих на твердой

питательной среде КМАФАнМ при температуре (30±1)°С в течение 72 ч. Идентификацию колоний *Salmonella* проводили с помощью биохимических и серологических тестов. Определение листерий было основано на их культивировании при температуре (37±1)°С в течение (24±3) ч и идентификации по соответствующим морфологическим, культуральным и биохимическим признакам. Пропускную способность мембраны определяли как количество пермеата, прошедшего через единицу поверхности мембраны в единицу времени. Задерживающую способность мембраны рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{c_f - c_p}{c_f},$$

где c_f — исходная концентрация некоторого компонента;
 c_p — концентрация компонента в пермеате.

Полученные экспериментальные данные были проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с использованием статистического программного обеспечения STATISTICS (версия 13, StatSoft Inc., США). Различия при $p < 0,05$ считались статистически значимыми, тогда как тенденция рассматривалась, когда $0,05 = p < 0,1$.

3. Результаты и обсуждение

Состав и качественные показатели подсырной сыворотки (Таблица 2), подвергнутой ультрафильтрации, соответствовали требованиям нормативной документации к сыворотке-сырью.

Таблица 2. Физико-химические показатели подсырной сыворотки

Table 2. Physico-chemical characteristics of cheese whey

Наименование показателя	Значение показателя
Вкус и запах	Характерный для молочной сыворотки, сладковатый, без посторонних привкусов и запахов
Внешний вид и консистенция	Однородная непрозрачная или полупрозрачная жидкость. Допускается наличие незначительного белкового осадка
Цвет	от светло-желтого до бледно-зеленого
Массовая доля сухих веществ, %	5,5±0,1
Массовая доля белка, %	0,76±0,2
Массовая доля жира, %	0,01
Массовая доля лактозы, %	4,2±0,5
Массовая доля золы, %	0,52 ±0,03
Плотность, кг / м³	1021 ±1
Кислотность, °Т	10–11
Активная кислотность, ед. pH	6,46 6,53

Концентрирование белков молочной сыворотки на установке ультрафильтрации проводили при следующих параметрах: температура в интервале 10–15 °С, давление 0,1–0,5 МПа, что согласуется с известными литературными данными. В процессе ультрафильтрации в концентрате наблюдали закономерное увеличение массовой доли сухих веществ и белка (Таблица 3, Рисунок 1).

Таблица 3. Состав и свойства продуктов ультрафильтрационного фракционирования подсырной сыворотки

Table 3. Composition and properties of the products of ultrafiltration fractionation of cheese whey

Наименование показателя	Значение показателя	
	концентрат	фильтрат
Массовая доля сухих веществ, %	12,00±0,60 ^a	4,48±0,22 ^b
Массовая доля общего белка, %	7,50±0,37 ^a	0,27±0,01 ^b
Массовая доля жира, %	0,2±0,1 ^a	менее 0,02 ^b
Массовая доля лактозы, %	3,70±0,18 ^b	4,00±0,20 ^a
Массовая доля золы, %	0,54±0,02 ^a	0,52±0,02 ^b
Титруемая кислотность, °Т	20±1 ^a	9 ^b
Плотность, кг / м³	1040±3 ^a	1019±2 ^b
Активная кислотность, ед. pH	6,57±0,01 ^b	6,67 ±0,01 ^a

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы $n = 5$. Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются ($p < 0,05$) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

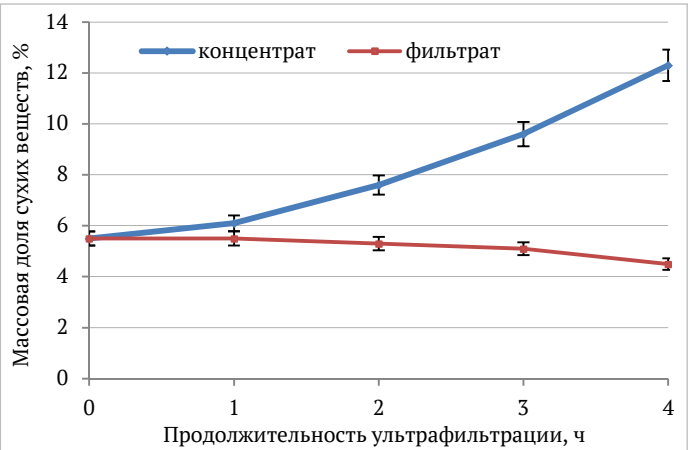


Рисунок 1. Изменение массовой доли сухих веществ молочной сыворотки в процессе ультрафильтрации
Figure 1. Changes in the mass fraction of dry substances of whey during ultrafiltration

Содержание сухих веществ в фильтрате незначительно снижалось за счет перехода белков в концентрат, массовая доля белка уменьшалась на 50–70%.

Процесс ультрафильтрации проводили до массовой доли сухих веществ концентрата 11,3–12,6%, в том числе белка 5–10%, продолжительность ультрафильтрации в среднем составила 4 ч. Вязкость получаемого ретентата повышалась, что существенно снижало производительность ультрафильтрационной мембраны. Далее ретентат направляли на микрофильтрацию с целью максимального удаления молочного жира при минимальных потерях белка и микробиологической очистки.

Единого мнения по размеру пор мембран, предназначенных для микрофильтрации сыворотки, в литературных источниках нет. Так, Babenyshev с соавторами [24] отмечает возможность микрофильтрации сыворотки с использованием мембран 0,1 и 0,2 мкм. Результаты оптимизации процесса, вместе с тем, показывают целесообразность применения мембран 0,3–0,4 мкм и более [24]. Mourouzidis-Mourouzidis и др. использует керамические мембраны с размером пор 0,8 мкм [25]. В исследовании Barukčić с соавторами [26] наилучшие результаты микрофильтрации были получены для мембран с размером пор 0,1 мкм и 0,5 мкм.

При проведении экспериментов изучали селективную проницаемость мембран с разным размером пор. Микрофильтрация на мембранах с размером пор 0,1 мкм обеспечивала полный переход молочного жира в ретентат. Вместе с тем, было установлено значительное перераспределение и других компонентов сухих веществ (Рисунок 2), в том числе белка, между концентратом и фильтратом.

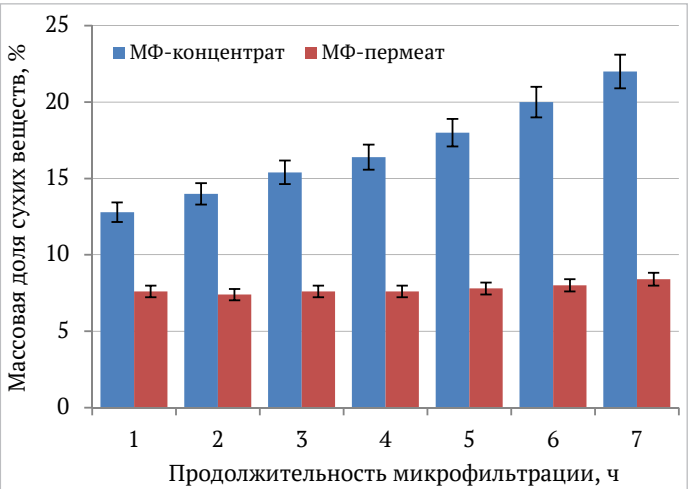


Рисунок 2. Изменение массовой доли сухих веществ концентрата и фильтрата в процессе микрофильтрации УФ-концентрата подсырной сыворотки
Figure 2. Changes in the mass fraction of dry substances of the concentrate and filtrate during microfiltration of the UF-concentrate of cheese whey

Повышение массовой доли сухих веществ концентрата в процессе микрофильтрации обусловлено переходом не только молочного жира в концентрат, но и белка (Таблица 4).

Таблица 4. Состав и физико-химические свойства микрофильтрационного концентрата и пермеата
Table 4. Composition and physico-chemical properties of the microfiltration concentrate and permeate

Наименование показателя	Значение показателя	
	МФ-концентрат	МФ-пермеат
Массовая доля сухих веществ, %	21,98 ± 1,09 ^a	8,21 ± 0,41 ^b
Массовая доля общего белка, %	12,18 ± 0,60 ^a	1,52 ± 0,07 ^b
Массовая доля жира, %	0,50 ± 0,02 ^a	0 ^b
Массовая доля лактозы, %	8,7 ± 0,4 ^a	4,98 ± 0,24 ^b
Массовая доля золы, %	0,60 ± 0,03 ^a	0,35 ± 0,01 ^b
Титруемая кислотность, °Т	35 ± 1 ^a	11 ^b
Активная кислотность, ед. рН	6,45 ± 0,32 ^a	6,38 ± 0,31 ^b

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 5. Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются (p < 0,05) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Эффективность мембранного фракционирования (размер пор 0,1 мкм) по белку — (70,3 ± 3,5)%, по жиру 100%.

Применение мембраны с размером пор 1,4 мкм приводило к максимальному сохранению белков в фильтрате. Однако, МФ-пермеат содержал значительное количество жира (Таблица 5).

Задерживающая способность мембраны с размером пор 1,4 мкм по белку составила 0,2%, по жиру (68 ± 3,4)%.

Таблица 5. Состав и физико-химические свойства микрофильтрационного концентрата и пермеата
Table 5. Composition and physico-chemical properties of the microfiltration concentrate and permeate

Наименование показателя	Значение показателя	
	МФ-концентрат	МФ-пермеат
Массовая доля сухих веществ, %	13,00 ± 0,65 ^a	10,09 ± 0,50 ^b
Массовая доля общего белка, %	7,48 ± 0,37 ^a	5,37 ± 0,26 ^b
Массовая доля жира, %	0,50 ± 0,02 ^a	0,16 ^b
Массовая доля истинного белка, %	7,26 ± 0,36 ^a	5,42 ± 0,27 ^b
Массовая доля казеина, %	3,18 ± 0,15 ^a	1,51 ± 0,07 ^b
Массовая доля сывороточных белков, %	4,09 ± 0,20 ^a	3,91 ± 0,19 ^b
Массовая доля небелкового азота, %	0,056 ± 0,002 ^a	0,005 ^b

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 5. Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются (p < 0,05) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Исследовали возможность микрофильтрации УФ-концентрата подсырной сыворотки на мембранах с размером пор 0,14 мкм. Установлено, что применение такой мембраны позволяло максимально сохранить белковую составляющую при значительном удалении жира из фильтрата (Таблица 6).

Таблица 6. Состав и физико-химические свойства микрофильтрационного концентрата и пермеата
Table 6. Composition and physico-chemical properties of the microfiltration concentrate and permeate

Наименование показателя	Значение показателя	
	МФ-концентрат	МФ-пермеат
Массовая доля сухих веществ, %	13,94 ± 0,69 ^a	10,41 ± 0,35 ^b
Массовая доля общего белка, %	8,78 ± 0,43 ^a	5,13 ± 0,13 ^b
Массовая доля жира, %	0,42 ± 0,02 ^a	0,1 ^b
Массовая доля истинного белка, %	8,21 ± 0,41 ^a	5,06 ± 0,20 ^b
Массовая доля казеина, %	7,57 ± 0,37 ^a	0,18 ± 0,01 ^b
Массовая доля сывороточных белков, %	0,64 ± 0,03 ^b	4,88 ± 0,24 ^a
Массовая доля небелкового азота, %	0,090 ± 0,004 ^a	0,070 ± 0,003 ^b

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 5. Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются (p < 0,05) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Задерживающая способность мембраны с размером пор 0,14 мкм по белку составила 0,4%, по жиру 76,2%.

Таким образом, можно сделать вывод о рациональном использовании керамических мембран с размером пор от 0,14 мкм до 1,4 мкм для микрофльтрации УФ-концентрата подсырной сыворотки в технологии изолята сывороточных белков.

Давление микрофльтрации оказывает существенное влияние на эффективность процесса. В работе [27] приводится оптимальное значение рабочего давления для микрофльтрации сыворотки — 1,5 бар (0,15 МПа). В то же время, Heidebrecht с соавторами [28] проводили микрофльтрацию при трансмембранном давлении в интервале от 0,6 до 3 бар (0,06–0,3 МПа). Для определения эффективных параметров микрофльтрации в нашей работе процесс осуществляли при различных значениях входящего давления: от 0,15 МПа до 0,25 МПа. Как показали результаты исследований, при давлении 0,25 МПа и более осуществлялся существенный переход белков, в том числе сывороточных, в ретентат (Рисунок 3).

Выбор температурных режимов микрофльтрации обусловлен необходимостью поддержания высокой пропускной способности мембран при максимальном сохранении свойств целевого продукта. В известной литературе приводятся различные сведения по выбору температуры микрофльтрации. Так, Carter с соавторами [29, 30] придерживались режима 50 °С. В то время, как Barukčić с соавторами [26] отмечали резкое увеличение толщины поляризационного слоя на поверхности мембран при температуре выше 40 °С. В другом исследовании эти же авторы рекомендуют температуру 20 °С, объясняя это повышением производительности мембраны и минимизацией уровня ее загрязнения [31]. В работе [32] рекомендуется не превышать 10 °С при микрофльтрации подсырной сыворотки.

В нашей работе установлено, что изменение температуры в диапазоне 10–30 °С не оказывало значимого влияния на пропускную способность мембраны, она изменялась в пределах 82–87 кг/м² · ч. Различия в температурных режимах не влияли и на состав продуктов мембранного фракционирования УФ-концентрата подсырной сыворотки (Рисунок 4).

Более высокие температурные режимы, однако, отрицательно сказывались на титруемой кислотности полуфабрикатов. При температуре микрофльтрации 40 °С и выше происходило снижение пропускной способности мембраны. Это обусловлено удержанием кальция в ретентате, который переходил из ионной формы в коллоидную, связываясь с белками. Растворимость фосфатов кальция снижалась, что являлось причиной быстрого загрязнения мембран и снижения их производительности. Пониженная температура микрофльтрации способствовала кристаллизации молочного жира, он переходил в твердое состояние и более легко отделялся в концентрат. Низкие температуры снижали буферную емкость концентрата, что способствовало удалению растворимых кальция и фосфора.

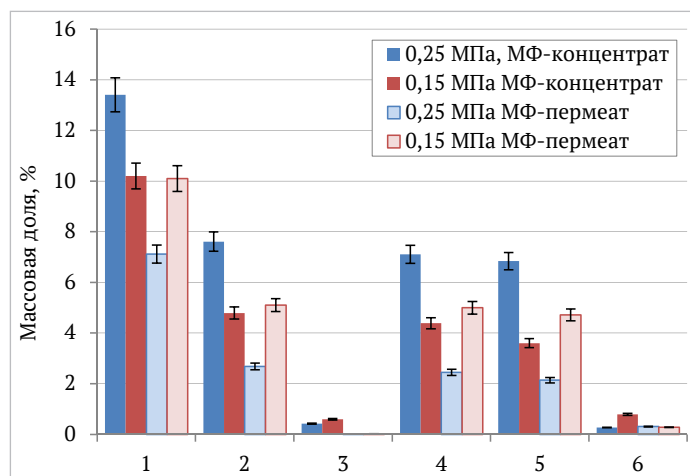


Рисунок 3. Состав концентрата и пермеата при разных значениях входящего давления: 1 — сухие вещества, 2 — общий белок, 3 — жир, 4 — истинный белок, 5 — сывороточные белки, 6 — казеин

Figure 3. Composition of the concentrate and permeate upon different values of inlet pressure: 1 — dry substances, 2 — total protein, 3 — fat, 4 — true protein, 5 — whey proteins, 6 — casein

Для дальнейшего повышения массовой доли белка МФ-пермеат направляли на повторную ультрафльтрацию, совмещая ее с диафльтрацией. Диафльтрация представляет собой один из способов улучшения разделения соединений с разными коэффициентами задерживания. Качество разделения улучшается путем добавления к исходному раствору воды для снижения концентрации веществ, попадающих в пермеат. Как отмечается в работе [33], диафльтрация позволяет не только повысить долю белка в концентрате, но и значительно снизить содержание минеральных солей в нем.

Проводили 2 стадии диафльтрации: воду вносили в исходный МФ-фильтрат, направляемый на ультрафльтрацию и в полученный после первой стадии УФ-концентрат. Итоговую ультрафльтрацию осуществляли до массовой доли белка в концентрате не менее 17% (Таблица 7).

Таблица 7. Усредненный состав УФ-концентрата в процессе ДФ
Table 7. Average composition of the UF concentrate in the process of DF

Наименование показателя	Значение показателя для концентрата при соотношении МФ-пермеат: вода от 2:1 до 1:2			
	ДФ 1 стадия		ДФ 2 стадия	
	2:1	1:2	2:1	1:2
Массовая доля сухих веществ, %	8,3±0,4 ^c	7,9±0,4 ^d	20,7±1,0 ^a	19,3±1,0 ^b
Массовая доля общего белка, %	5,9±0,3 ^c	6,2±0,3 ^b	17,9±0,9 ^a	17,9±0,9 ^a
Средняя массовая доля белка в сухом веществе, %	71,00 ^d	78,51 ^c	86,50 ^b	93,12 ^a
Массовая доля жира, %	менее 0,02	менее 0,02	менее 0,02	менее 0,02

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 5. Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются (p < 0,05) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

При диафльтрации половинным объемом воды удавалось достигнуть содержания белка в сухом веществе продукта не более 87%, что не соответствовало требованиям к изоляту. Увеличение количества воды для диафльтрации позволяло повысить содержание белка в сухом веществе концентрата. В процессе диафльтрации происходил максимальный переход лактозы в пермеат (Таблица 8).

Для оценки необходимости корректировки технологических режимов мембранной фильтрации, а также достаточности выполненных операций проводили высушивание образца изолята сывороточных белков. Полученный сухой изолят сывороточных белков, характеризовался высокой массовой долей белка, хорошей растворимостью, а показатели безопасности его соответствовали требованиям Технического регламента Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» (Таблица 9).

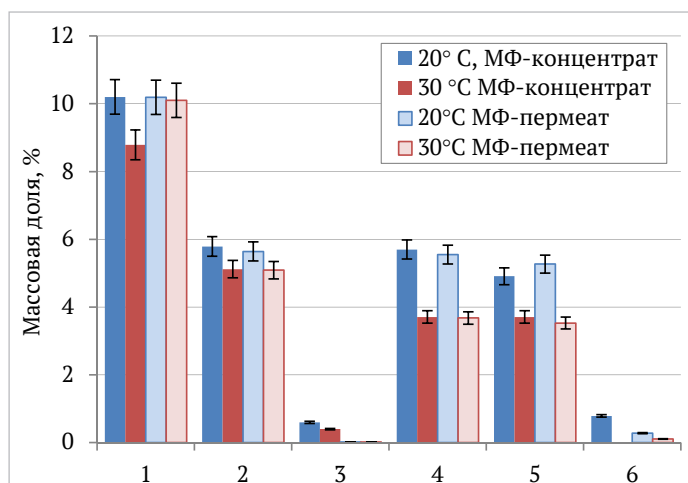


Рисунок 4. Состав концентрата и пермеата при разных значениях температуры: 1 — сухие вещества, 2 — общий белок, 3 — жир, 4 — истинный белок, 5 — сывороточные белки, 6 — казеин

Figure 4. Composition of the concentrate and permeate upon different values of temperature: 1 — dry substances, 2 — total protein, 3 — fat, 4 — true protein, 5 — whey proteins, 6 — casein

Таблица 8. Усредненный состав УФ-пермеата в процессе ДФ
Table 8. Average composition of the UF permeate in the process of DF

Наименование показателя	Значение показателя для пермеата при соотношении МФ-пермеат: вода от 2:1 до 1:2			
	ДФ 1 стадия		ДФ 2 стадия	
	2:1	1:2	2:1	1:2
Массовая доля сухих веществ, %	0,61 ± 0,03 ^b	1,30 ± 0,06 ^a	0,32 ± 0,02 ^c	0,60 ± 0,03 ^b
Массовая доля общего белка, %	0,16 ± 0,01 ^c	0,23 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,01 ^d	0,20 ± 0,01 ^b
Массовая доля жира, %	менее 0,02	менее 0,02	менее 0,02	менее 0,02

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы n = 5. Средние значения в столбце без общей надстрочной буквы различаются (p < 0,05) по данным однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки.

Таблица 9. Показатели качества и безопасности
изолята сывороточных белков

Table 9. Indicators of quality and safety of whey protein isolate

Наименование показателя	Значение показателя
Внешний вид, цвет	сыпучий порошок белого цвета
Массовая доля влаги, %	3,75 ± 0,18
Массовая доля жира, %	менее 0,5
Массовая доля белка (в пересчете на СОМО), %	92,5 ± 1,0
Массовая доля лактозы, %	3,70 ± 0,18
Массовая доля минеральных веществ, %	2,85 ± 0,14
Индекс растворимости, см ³ осадка на 1 см ³ продукта	0,05
Общее количество микроорганизмов, КОЕ / г	1·10 ⁵
Дрожжи и плесени, КОЕ / г	менее 10
Salmonella	отсутствуют в 250 г
Listeria monocytogenes	отсутствуют в 25 г

4. Выводы

Выполненные исследования позволили установить рациональную последовательность технологических операций производства

изолята сывороточных белков: очистка молочной сыворотки от казеиновой пыли и жира, пастеризация, ультрафильтрация, микрофильтрация, ультрафильтрация (совмещенная с диафильтрацией), сушка. Первый этап ультрафильтрации целесообразно проводить до массовой доли сухих веществ 11,3–12,6%, в том числе белка 5–10%. Для микрофильтрации УФ-концентрата подсырной сыворотки при производстве изолята сывороточных белков возможно применять керамические мембраны с размером пор от 0,14 мкм до 1,4 мкм. Рациональные режимы микрофильтрации: входящее давление 0,15–0,2 МПа, температура — 10–15 °С. Второй этап ультрафильтрации необходимо совмещать с двумя стадиями диафильтрации, разбавляя МФ-фильтрат двойным объемом обратноосмотической воды. Массовая доля белка в изоляте сывороточных белков перед сушкой должна составлять не менее 17%.

Сывороточные белковые ингредиенты, в том числе изолят сывороточных белков, представляют собой перспективный ингредиент для производства широкого ассортимента пищевых продуктов, в том числе специального назначения. Сывороточные белки являются эффективными в снижении риска развития многих алиментарно-зависимых хронических заболеваний. Биологические функции сывороточных белков разнообразны, что открывает широкие возможности их реализации в технологии продуктов спортивного, детского и геродиетического питания. Кроме того, изолят сывороточных белков — базовое сырье для производства гидролизатов с различной биологической активностью.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Мельникова, Е.И., Станиславская, Е.Б. (2022). Перспективные сывороточные ингредиенты для пищевой промышленности. *Переработка молока*, 11(277), 12–14. [Melnikova, E.I., Stanislavskaya, E.B. (2022). Promising whey ingredients for the food industry. *Milk Processing*, 11(277), 12–14. (In Russian)] <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2022-11-12-14>

2. Bannikova, A.V., Evdokimov, I.A. (2015). The scientific and practical principles of creating products with increased protein content. *Foods and Raw Materials*, 3(2), 3–12. <https://doi.org/10.12737/13114>

3. Melnikova, E. I., Stanislavskaya, E.B., Fedorova, A. R. (26–29 February, 2020). Modification of the whey protein cluster for the utilization in low-calorie food technology. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. International Conference on Production and Processing of Agricultural Raw Materials. Voronezh, Russian Federation, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032014>

4. Zhao, C., Chen, N., Ashaolu, T.J. (2022). Whey proteins and peptides in health-promoting functions — A review. *International Dairy Journal*, 126, Article 105269. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105269>

5. Töpel, A. (2007). Chemistry and physics of milk. Behr, 2007. (In German)

6. Гунькова, П. И., Горбатова, К. К. (2015). Биотехнологические свойства белков молока. СПб: ГИОРД, 2015. [Gunkova, P. I., Gorbatoва, K. K. (2015). Biotechnological properties of milk proteins. Saint-Petersburg: GIORD, 2015. (In Russian)]

7. Ельчанинов, В.В. (2022). Номенклатура и свойства белков молока коровы (Bos taurus). Барнаул: Издательство Алтайского университета, 2022. [Elchaninov, V.V. (2022). Nomenclature and properties of cow milk proteins (Bos taurus). Barnaul: Altai University Press 2022. (In Russian)]

8. Ahmad, T., Aadil, R. M., Ahmed, H., Rahman, U., Soares, B. C. V., Souza, S. L. Q. et al. (2019). Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 361–372. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.003>

9. Короткий, И. А., Плотников, И. Б., Мазеева, И. А. (2019). Современные тенденции в переработке молочной сыворотки. *Техника и технология пищевых производств*, 49(2), 227–234. [Korotky, I. A., Plotnikov, I. B., Mazeeva, I. A. (2019). Current trends in whey processing. *Food Processing: Techniques and Technology*, 49(2), 227–234. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-227-234>

10. Володин, Д. Н., Гридин, А. С., Евдокимов, И. А. (2020). Перспективы производства сухих белковых ингредиентов на основе молочного сырья. *Молочная промышленность*, 1, 28–30. [Volodin, D. N., Gridin, A. S., Evdokimov, I. A. (2020). Prospects for the production of dry protein ingredients based on dairy raw materials. *Dairy Industry*, 1, 28–30. (In Russian)]

11. Храмов, А. Г. (2011). Феномен молочной сыворотки. СПб.: Профессия, 2011. [Khramtsov, A. G. (2011). The phenomenon of whey. Saint-Petersburg: Profession, 2011. (In Russian)]

12. Володин, Д. Н., Топалов, В. К., Евдокимов, И. А., Куликова, И. К., Шрамко, М. И. (2022). Комплексный подход к производству белковых ингредиентов на основе молочного сырья. *Молочная промышленность*, 1, 34–36. [Volodin, D. N., Topalov, V. K., Evdokimov, I. A., Kulikova, I. K., Shramko, M. I. (2022). An integrated approach to the production of protein ingredients based on dairy raw materials. *Dairy Industry*, 1, 34–36. (In Russian)]

13. Damar, I., Cinar, K., Gulec, H. A. (2020). Concentration of whey proteins by ultrafiltration: Comparative evaluation of process effectiveness based on physicochemical properties of membranes. *International Dairy Journal*, 111, Article 104823. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104823>

14. Cancino, B., Espina, V., Orellana, C. (2006). Whey concentration using microfiltration and ultrafiltration. *Desalination*, 200(1–3), 557–558. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.03.463>

15. Reig, M., Vecino, X., Cortina, J.L. (2021). Use of membrane technologies in dairy industry: An overview. *Foods*, 10(11), Article 2768. <https://doi.org/10.3390/foods10112768>

16. Челноков, В. В., Михайлов, А. В., Заболотная, Е. (2020). Актуальность использования в промышленных масштабах мембранных технологий в Российской Федерации. *Успехи в химии и химической технологии*, 34(6(229)), 69–71. [Chelnokov, V. V., Mikhailov, A. V., Zabolotnaya, E. (2020). The relevance of industrial use of membrane technology in the Russian Federation. *Advances in Chemistry and Chemical Technology*, 34(6(229)), 69–71. (In Russian)]

17. Лялин, В. А., Михеев, М. С. (2020). Мембранные технологии и оборудование в молочной промышленности. *Переработка молока*, 12(254), 28–31. [Lyalin, V. A., Mikheev, M. S. (2020). Membrane technologies and equipment in the dairy industry. *Milk Processing*, 12(254), 28–31. (In Russian)]

18. Tamime, A. Y. (2012). Membrane processing: Dairy and beverage applications. Chichester; Ames, IO: Wiley-Blackwell, 2012.

19. Steinhauer, T., Leeb, E., Birle, D., Kulozik, U. (2016). Determination of a molecular fouling model for the micro- and ultrafiltration of whey: A recombination study from single whey proteins to complex mixtures. *International Dairy Journal*, 52, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.08.006>

20. Володин, Д. Н., Топалов, В.К., Евдокимов, И. А., Куликова, И.К. (2020). Влияние производственных процессов на функционально-технологические свойства концентратов сывороточных белков. *Молочная промышленность*, 5, 46–49. [Volodin, D.N., Topalov, V.K., Evdokimov, I.A., Kulikova, I.K. (2020). The influence of production processes on the functional and technological properties of whey protein concentrates. *Dairy Industry*, 5, 46–49. (In Russian)]

21. Verruck, S., Sartor, S., Marenda, F.B., Barros, E. L. S., Camelo-Silva, C., Canel-la, M. H. M. et al. (2019). Influence of heat treatment and microfiltration on the milk proteins properties. *Advances in Food Technology and Nutritional Sciences*, 5(2), 54–66. <http://doi.org/10.17140/AFTNSOJ-5-157>

22. Ostertag, F., Krolitzki, E., Berensmeier, S., Hinrichs, J. (2023). Protein valorisation from acid whey — Screening of various micro- and ultrafiltration membranes concerning the filtration performance. *International Dairy Journal*, 146, Article 105745. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105745>
23. Arunkumar, A., Molitor, M. S., Etzel, M. R. (2016). Comparison of flat-sheet and spiral-wound negatively-charged wide-pore ultrafiltration membranes for whey protein concentration. *International Dairy Journal*, 56, 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.01.012>
24. Babenyshev, S. P., Evdokimov, I. A., Bratsikhin, A. A., Anisimov, G. S., Zhidkov, V. E., Mamay, D. S. (2019) Experimental determination of parameters for milk whey microfiltration process. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 28, 85–95.
25. Mourouzidis-Mourouzis, S. A., Karabelas, A. J. (2006). Whey protein fouling of microfiltration ceramic membranes — Pressure effects. *Journal of Membrane Science*, 282(1–2), 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.05.012>
26. Barukčić, I., Božanić, R., Kulozik, U. (2014). Effect of pore size and process temperature on flux, microbial reduction and fouling mechanisms during sweet whey cross-flow microfiltration by ceramic membranes. *International Dairy Journal*, 39(1), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.05.002>
27. Rezaei, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A. (2011). Effects of operating parameters on fouling mechanism and membrane flux in cross-flow microfiltration of whey. *Desalination*, 274(1–3), 262–271. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.02.015>
28. Heidebrecht, H.-J., Kulozik, U. (2019). Data concerning the fractionation of individual whey proteins and casein micelles by microfiltration with ceramic gradient membranes. *Data in Brief*, 25, Article 104102. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104102>
29. Carter, B., DiMarzo, L., Pranata, J., Barbano, D. M., Drake, M. (2021). Determination of the efficiency of removal of whey protein from sweet whey with ceramic microfiltration membranes. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7534–7543. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18698>
30. Carter, B., DiMarzo, L., Pranata, J., Barbano, D. M., Drake, M. (2021). Efficiency of removal of whey protein from sweet whey using polymeric microfiltration membranes. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8630–8643. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18771>
31. Barukčić, I., Božanić, R., Kulozik, U. (2015). Influence of process temperature and microfiltration pre-treatment on flux and fouling intensity during cross-flow ultrafiltration of sweet whey using ceramic membranes. *International Dairy Journal*, 51, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.07.002>
32. Steinhauer, T., Hanély, S., Bogendörfer, K., Kulozik, U. (2015). Temperature dependent membrane fouling during filtration of whey and whey proteins. *Journal of Membrane Science*, 492, 364–370. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.05.053>
33. Baldasso, C., Barros, T.C., Tessaro, I.C. (2011). Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278(1–3), 381–386. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.05.055>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Мельникова Елена Ивановна — доктор технических наук, профессор, профессор, кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий 394036, Воронеж, пр-т Революции, 19 Тел.: + 7-919-241-44-04 E-mail: melnikova@molvest.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3474-2534 Станиславская Екатерина Борисовна — доктор технических наук, доцент, профессор, кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий 394036, Воронеж, пр-т Революции, 19 Тел.: + 7-905-049-54-77 E-mail: tereshkova-katia@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0955-6238 * автор для контактов Богданова Екатерина Викторовна — доктор технических наук, доцент, профессор, кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий 394036, Воронеж, пр-т Революции, 19 Тел.: + 7-920-406-38-25 E-mail: ek-v-b@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5053-2273 Шабалова Екатерина Дмитриевна — аспирант, кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий 394036, Воронеж, пр-т Революции, 19 Тел.: + 7-903 363-71-94 E-mail: xxx210257@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7802-6150	Elena I. Melnikova, Doctor of Technical Sciences, Professor, Professor of the Department of Technology of Animal Food Products, Voronezh State University of Engineering Technologies 19, Revolution Avenue, Voronezh, 394036, Russia Tel.: + 7-919-241-44-04 E-mail: melnikova@molvest.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3474-2534 Ekaterina B. Stanislavskaya, Doctor of Technical Sciences, Docent, Professor, Department of Technology of Animal Food Products, Voronezh State University of Engineering Technologies 19, Revolution Avenue, Voronezh, 394036, Russia Tel.: + 7-905-049-54-77 E-mail: tereshkova-katia@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0955-6238 * corresponding author Ekaterina V. Bogdanova, Doctor of Technical Sciences, Docent, Professor, Department of Technology of Animal Food Products, Voronezh State University of Engineering Technologies 19, Revolution Avenue, Voronezh, 394036, Russia Tel.: + 7-920-406-38-25 E-mail: ek-v-b@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5053-2273 Ekaterina D. Shabalova, Graduate Student, Department of Technology of Animal Food Products, Voronezh State University of Engineering Technologies 19, Revolution Avenue, Voronezh, 394036, Russia Tel.: + 7-903 363-71-94 E-mail: xxx210257@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7802-6150
Критерии авторства	Contribution
Е. И. Мельникова руководила проектом, предложила методику проведения эксперимента и организовала производственные испытания, проводила консультации в ходе исследования. Е. В. Богданова и Е. Д. Шабалова проводили поиск литературных источников и патентный поиск по исследуемой проблеме. Е. Б. Станиславская написала рукопись и корректировала ее до подачи в редакцию, несет ответственность за плагиат	E.I. Melnikova managed the project, proposed a scheme of the experiment and organized production trials, conducted consultation during the study. E. V. Bogdanova and E. D. Shabalova reviewed the literature and conducted the patent search on an investigated problem. E. B. Stanislavskaya wrote the manuscript, corrected it before filing in editing and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-253-262>

Поступила 10.05.2024

Поступила после рецензирования 24.05.2024

Принята в печать 27.05.2024

© Пчелкина В. А., 2024

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

Обзорная статья

Open access

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА МЯСА И МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ

Пчелкина В. А.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

гистология,
гистохимия,
световая
микроскопия,
электронная
микроскопия,
фальсификация,
морфометрия, анализ
изображения

Для обеспечения высокого качества мясной продукции необходима достоверная информация о качестве мяса на всех этапах производственного процесса. В формировании качества мяса непосредственную роль играет структура мышечной, соединительной и жировой тканей. Методы микроскопии позволяют исследовать структуру мяса, а также определять ее изменение в зависимости от ряда эндо- и экзогенных факторов (вид животного, порода, пол, условия выращивания и убоя) и от вида технологической обработки. В статье представлены основные направления применения микроскопического анализа в исследованиях мяса и готовых мясных продуктов. Преимуществом микроскопии является представление результатов в наглядной форме, а также возможность проведения морфометрии, в том числе с использованием компьютерных систем анализа изображения, и получение количественных характеристик структур. Наиболее распространенными являются световая и электронная микроскопии. Световая микроскопия благодаря разнообразным процедурам окрашивания позволяет определять различные компоненты образца, изучать топографию и морфологию тканей и клеток. Электронная микроскопия предоставляет информацию об ультраструктуре клеток, а также об их химическом составе. В статье рассмотрены возможности микроскопии в оценке состава и выявлении фальсификации готовых мясных продуктов. Отмечено, что применение нескольких подходов и методов окрашивания позволяет достоверно идентифицировать большее количество компонентов, в том числе растительного происхождения. Гистологические методы могут обеспечить выявление фальсификации и контроль состава мясных продуктов на государственном уровне.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова», № FGUS-2024-0002.

Received 10.05.2024

Accepted in revised 24.05.2024

Accepted for publication 27.05.2024

© Pchelkina V. A., 2024

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

Review article

Open access

MICROSCOPIC METHODS TO STUDY MEAT AND MEAT PRODUCT QUALITY

Viktoriya A. Pchelkina

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

KEY WORDS:

histology,
histochemistry,
light microscopy,
electron microscopy,
falsification,
morphometry,
image analysis

ABSTRACT

Reliable information about meat quality at all stages of the production process is necessary to ensure high quality of meat products. The structure of muscle, connective and fat tissues plays a direct role in formation of meat quality. Microscopic methods allow investigating the meat structure and determining its change depending on a range of endo- and exogenous factors (animal species, breed, sex, conditions of raising and slaughter) and on a type of technological processing. The paper presents the main directions of using microscopic analysis in investigation of meat and finished meat products. An advantage of microscopy is presentation of results in a visual form as well as a possibility of performing morphometry, including with the use of computer systems of image analysis, and obtaining quantitative characteristics of structures. Most common are light microscopy and electron microscopy. Due to various staining procedures, light microscopy enables detecting different components of a sample, studying topography and morphology of tissues and cells. Electron microscopy gives information about the ultrastructure of cells and their chemical composition. The paper discusses possibilities of microscopy in assessment of composition and detection of falsification of finished meat products. It has been noted that the use of several approaches and methods of staining allows reliable identification of many components, including components of plant origin. Histological methods can ensure detection of falsification and control of meat product composition at the state level.

FUNDING: This research was funded by state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, No. № FGUS-2024-0002.

1. Введение

Мясо и мясные продукты в рационе человека являются важными источниками энергии и полноценных животных белков, а также витаминов группы В и ряда минеральных веществ [1]. С каждым годом потребление мяса растет как в России, так и во всем мире [2,3]. Одной из задач, стоящих перед мясной промышленностью, является получение достоверной информации о качестве используемого сырья на протяжении всего производственного процесса, что обеспечит гарантированное качество готовой продукции. Для решения этой задачи требуются быстрые и точные методы оценки. Актуальным является контроль качества как самого мясного

сырья, так и продуктов из него. Для этого применяют два основных подхода: субъективный, включающий органолептическую оценку, и объективный, куда относят различные лабораторные исследования, оценивающие физические и химические свойства [4]. Методы микроскопии (греч. *μικρός* — мелкий, маленький и *σκοπέω* — вижу), наряду с физико-химическими, протеомными и молекулярными подходами, представляют собой ценный инструмент исследования, позволяющий получать результаты за короткий промежуток времени без использования сложного и дорогостоящего оборудования [5]. Данные методы относятся к старейшим способам анализа пищевых продуктов. Их применение началось с 1850 года, когда уче-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Пчелкина, В. А. (2024). Применение микроскопических методов в исследованиях мяса и мясных продуктов. *Пищевые системы*, 7(2), 253–262. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-253-262>

FOR CITATION: Pchelkina, V. A. (2024). Microscopic methods to study meat and meat product quality. *Food Systems*, 7(2), 253–262. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-253-262>

ный Arthur Hassall с помощью микроскопа отличил кофе от цикория.

В отношении мяса и мясных продуктов микроскопические методы применяют, как правило, в нескольких направлениях:

- определение микроструктурных особенностей мясного сырья [6];
- изучение влияния технологических режимов обработки на структуру мяса [7];
- анализ качества и состава готовых мясных продуктов [8].

Существует множество способов подготовки образцов для микроскопических исследований, а сама процедура включает как классические подходы, так и использование современного оборудования и программного обеспечения. К преимуществам микроскопии можно отнести представление результатов в наглядной и понятной форме (фотографии структур), а также возможность дополнения качественного анализа рядом морфометрических (числовых) данных, которые легко поддаются статистической обработке [9].

Целью данной работы было рассмотрение основных видов микроскопии, используемых при анализе мяса, а также изучение их возможностей при оценке качества сырья и в процессе исследования состава готовых мясных продуктов.

2. Объекты и методы

Объектом исследования стали научные публикации российских и зарубежных ученых, посвященные микроскопическому анализу пищевых продуктов, в частности, определению качества мяса. Поиск научной литературы проводили в библиографических базах PubMed, Scopus, Web of Science, ResearchGate и в Научной электронной библиотеке (eLIBRARY.RU), а также в открытых интернет-источниках. Основное внимание уделялось полнотекстовым статьям, опубликованным с 2010 года. При выполнении работы использовали следующие научные методы: поиск и скрининг научной литературы, извлечение и анализ полученных данных, систематизация и обобщение результатов. При отборе публикаций приоритет имели высоко цитируемые источники. Для поисковых запросов использовали несколько комбинаций ключевых слов, включая следующие: на русском языке — виды микроскопии, микроскопия мяса, микроструктура мяса, структура мясных продуктов, гистология, гистохимия, иммуногистохимия мяса, световая микроскопия, электронная микроскопия, фальсификация мясных продуктов, гисто(морфо-)метрия, анализ изображения; на английском языке — types of microscopy, microscopy of meat, microstructure of meat, structure of meat products, histology, histochemistry, immunohistochemistry of meat, light microscopy, electron microscopy, falsification of meat products, histo(morpho-)metry, image analysis.

Критерии включения статей:

1. Статья соответствует теме исследования;
2. Тип анализируемых статей — оригинальная исследовательская статья, обзорная статья, краткий отчет;
3. Публикация посвящена использованию микроскопии для анализа мяса и мясных продуктов. В работе рассматриваются такие вопросы, как определение структурных особенностей тканей, выявление компонентного состава, обнаружение фальсификации мясных продуктов и анализ гистологических изображений;
4. Приведены данные о методике микроскопического анализа.

Критерии исключения:

1. Статья не соответствует теме данной работы;
2. Исследование посвящено применению микроскопии для изучения пищевых продуктов агропромышленного комплекса, не относящихся к мясному сырью;
3. Исследования, предполагающие применение микроскопии для изучения неорганических материалов;
4. Исследования, предполагающие применение микроскопии для изучения клеток и тканей животного и человека, а также микроорганизмов.

На первом этапе провели анализ наименования статей, полученных в результате поиска. Часть публикаций исключили ввиду несоответствия критериям включения. Далее были проанализированы рефераты работ, после чего осуществлялось второе исключение. Затем из каждой публикации, включенной в обзор, была отобрана следующая информация: автор(ы), год публикации, страна; цель и методика исследования; полученные результаты. Детальный анализ каждой включенной в обзор публикации проводили на основе конкретных элементов исследовательских вопросов и цели обзора.

3. Виды микроскопии

Микроскопию можно разделить на две области: оптическую и электронную. В зависимости от типа излучения выделяют следующие виды микроскопии: (а) микроскопические методы с использованием светового излучения (классическая световая микроскопия, поляризационная микроскопия); (б) флуоресцентная микроскопия; (в) микроскопические методы с использованием энергии пучка электронов (просвечивающая электронная микроскопия, сканирующая электронная микроскопия); (г) микроскопические методы с использованием других видов излучения; (д) микроскопические методы с использованием сканирующего зонда [10]. В мясной промышленности наиболее распространенным является использование световой (в различных модификациях) и электронной микроскопии.

3.1. Световая микроскопия

Световая микроскопия является самым простым методом получения изображения препарата и используется в пищевой промышленности с момента создания световых микроскопов. Ее основное применение заключается в определении составных компонентов, которое возможно благодаря различным процедурам окрашивания. Данный метод дает возможность изучения топографии и морфологии тканей и клеток, а с применением молекулярно-биологических подходов позволяет выявлять локализацию отдельных химических веществ. В настоящий момент используется целый ряд микроскопов и гистологических техник окрашивания, позволяющих понять взаимодействие компонентов мясных продуктов, влияние технологических процессов на их структуру, идентифицировать отдельные ингредиенты [11,12].

Классическая световая микроскопия позволяет получить изображения с увеличением в 1000 раз, однако для изучения структуры мяса обычно достаточно увеличения в 100–400 раз [5]. Увеличение в 400–1000 раз необходимо для работы с сильно измельченным сырьем, эмульсиями, для оценки наличия микроорганизмов. Современные модифицированные световые микроскопы способны обеспечивать увеличение в 3000 раз. Для проведения анализа необ-

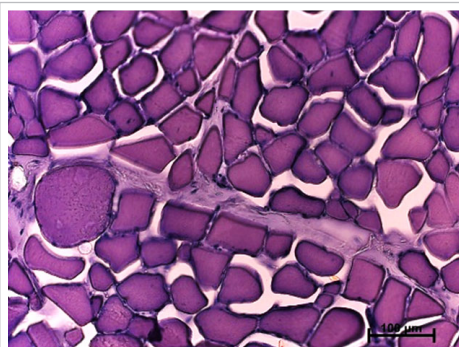


Рисунок 1. Микроструктура *m. L. Dorsi*, поперечный срез, окрашивание гематоксилином и эозином (масштаб 100 мкм)

Figure 1. Microstructure of *m. L. dorsi*, cross section, staining with hematoxylin and eosin (scale bar 100 µm)

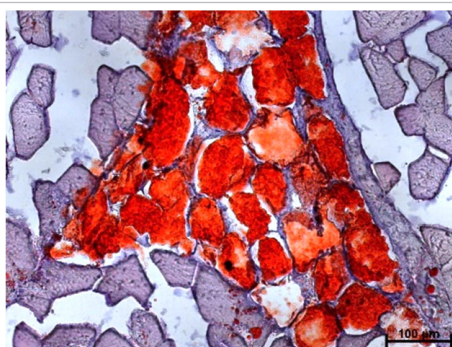


Рисунок 2. Микроструктура *m. L. Dorsi*, поперечный срез, окрашивание Oil Red O (масштаб 100 мкм)

Figure 2. Microstructure of *m. L. dorsi*, cross section, staining with Oil Red O (scale bar 100 µm)

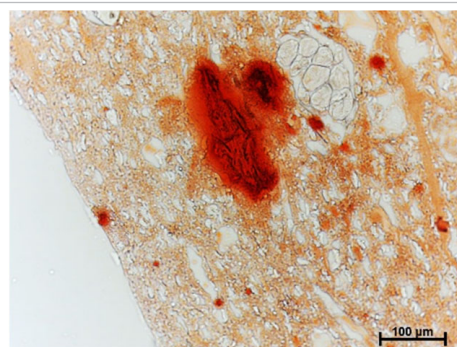


Рисунок 3. Костный фрагмент в структуре вареной колбасы, окрашивание ализариновым красным S (масштаб 100 мкм)

Figure 3. Bone fragment in the structure of cooked sausage, staining with alizarin red S (scale bar 100 µm)

ходимо получить гистологический препарат — тонкий срез (около 5–20 мкм) образца, окрашенный гистологическими / гистохимическими красителями.

Для выявления и дифференциации отдельных структур образца разработаны различные методы окрашивания. При изучении структуры мяса и мясных продуктов наиболее распространенным является классическое окрашивание гематоксилином и эозином [13] (Рисунок 1). Селективные процедуры окрашивания позволяют целенаправленно выделять отдельные компоненты на препарате. В основном это гистохимические методы, основанные на химической реакции красителя с молекулой вещества, например, окрашивание жира красителем *Oil Red O* [14] (Рисунок 2) или костных фрагментов ализариновым красным S [15] (Рисунок 3).

К дифференцирующему окрашиванию относят и иммуногистохимические процедуры (ИГХ), которые основаны на реакции антиген-антитело [16]. По сравнению с гистохимическими, ИГХ методы обладают большей специфичностью и подходят для идентификации различных белков (соединительнотканых, мышечных, растительных) с помощью цветового контраста или флуоресценции [17]. Специфическое связывание антитела с антигеном будет происходить, даже если антиген встроен в организационную структуру клетки или является частью многокомпонентного мясного продукта, прошедшего термообработку [18]. Прямой метод ИГХ предусматривает использование меченых антител и применяется в основном тогда, когда концентрация антигена в исследуемом образце достаточно высока. Более сложными, но и более чувствительными являются непрямые ИГХ процедуры окрашивания [19]. ИГХ служит основным селективным методом выявления нервной ткани ЦНС в мясных продуктах, которая является основным инфекционным источником при губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота [20].

3.1.1. Модификации световой микроскопии

Поляризационная микроскопия предназначена для наблюдения анизотропных (двулучепреломляющих) частиц, к которым относятся волокна (коллагеновые, эластиновые), кристаллические включения (соль, сахар) или крахмал [12] (Рисунок 4). Поляризационная микроскопия применяется также и для изучения структуры и состава упаковки (с содержанием коллагена, целлюлозы и т. д.), применяемой в мясной промышленности [21,22].

Фазово-контрастная микроскопия. Человеческий глаз способен воспринимать различия в амплитуде световых волн как разную интенсивность света и различия в длине волны как разные цвета света. С помощью устройства для фазового контраста можно добиться того, что одновременно с изменением фазы волны изменяется и ее амплитуда: лучи, проходящие сквозь объект, и прямые лучи, проходящие за пределы объекта, разделяются, а затем рекомбинируются в линзе. При проведении фазово-контрастной микроскопии исследуемый препарат не окрашивается [12]. Авторы Liu et al. [23] использовали фазово-контрастную микроскопию для изучения качества свинины, подвергнутой окислительному стрессу в различных условиях технологической обработки. Наблюдаемые динамические ультраструктурные изменения в миофибриллах позволили лучше понять воздействие окисления на гидратацию мяса и связывание воды.

Интерференционная микроскопия объединяет в себе подходы поляризационной и фазово-контрастной микроскопии и позволяет получать контрастные трехмерные изображения неокрашенных объектов. В данной микроскопии используют два отдельных луча света, а в комбинированном пучке происходит интерференция световых волн, которая вызывает изменения в их амплитуде. Таким образом, создаются контрасты оптической плотности, что проявляется в видимости прозрачного фазового объекта. Этот метод позволяет изучать особенно мелкие клеточные структуры [12].

Флуоресцентная микроскопия основана на знании того, что некоторые вещества после поглощения энергии ультрафиолетового света испускают излучение с большей длиной волны, как правило, в видимом диапазоне спектра. Многие компоненты растительных и животных тканей проявляют автофлуоресценцию (хлорофилл, каротиноиды, эластин, липиды, витамины) [10]. При проведении данного вида микроскопии применяют селективные флуоресцентные красители (флуорохромы) для достижения высокой контрастности в образце. На одном гистологическом срезе можно использовать несколько видов флуорохромов, которые можно просматривать с помощью различных фильтров микроскопа, в результате получая структуры с цветовой кодировкой [12].

Вещества антигенной природы (например, соевый белок, пшеничный белок) можно контрастировать с использованием иммуногистофлуоресцентных красителей, обладающих высокой специфичностью и чувствительностью [24]. Swartz et al. [25] использовали флуоресцентную микроскопию для изучения миофибрилл в мышцах крупного рогатого скота (*M. rectus abdominis* и *M. cutaneus trunci*) во время трупного окоченения благодаря разработанным флуоресцентным зондам на основе субфрагментов миозина-1 (S1), актина и альфа-актинина.

В работе [26] применили данный метод для обнаружения и локализации белковых карбониллов, образующихся в бычьей *m. Rectus abdominis* во время воздействия химической системы, генерирующей свободные радикалы, а также при хранении и термообработке. Было установлено, что накопление окисленных белков, наблюдаемое на периферии клетки, связано с окислением мембранных белков, а не с окислением соединительной ткани.

Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия является разновидностью флуоресцентной микроскопии и позволяет с помощью лазерного пучка выполнять трехмерные реконструкции сложных образцов. Метод используется для изучения клеточных структур и тканей. В отличие от других микроскопических методов, он не требует тонких срезов, так как видимость объекта зависит от флуоресценции, которую можно усилить с помощью специальных красителей. Исследователи Straadt et al. [27] применили метод для характеристики микроструктурных изменений и с целью изучения распределения воды в свежей и приготовленной свинине в течение 14-дневной выдержки. Полученные изображения позволили выявить набухание миофибрилл, деградацию и усадку мышечных волокон при варке. Данная микроскопия может быть полезным инструментом для изучения структурных взаимоотношений между элементами соединительной ткани в скелетных мышцах [28].

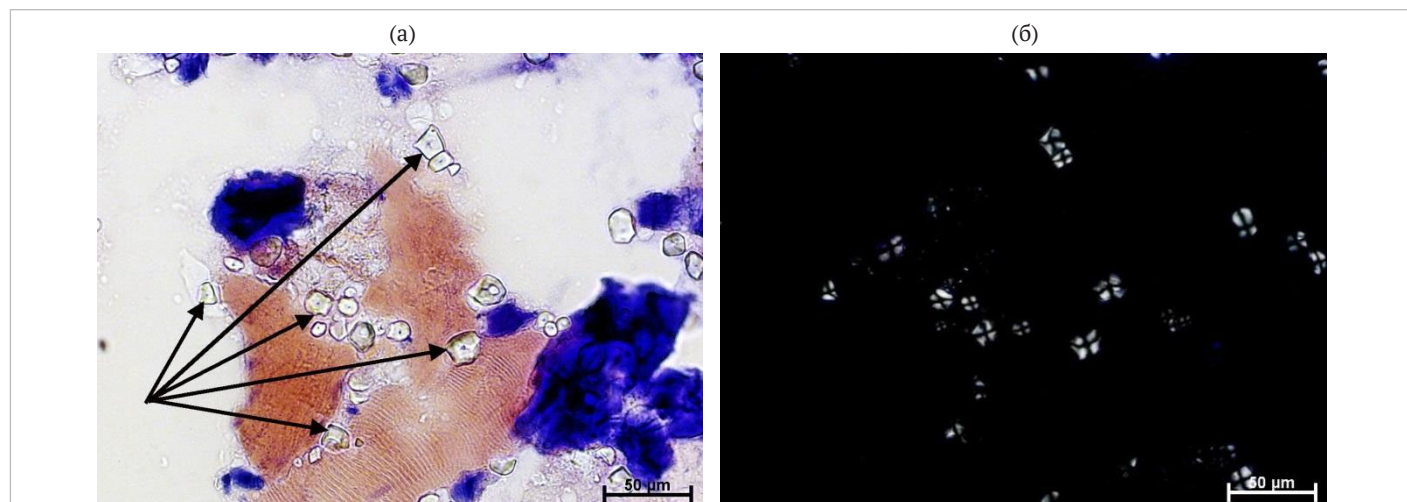


Рисунок 4. Зерна кукурузного крахмала: (а) — окрашивание гематоксилином и эозином; (б) — поляризационная микроскопия (масштаб 50 мкм)

Figure 4. Grains of corn starch: (a) staining with hematoxylin and eosin; (b) polarization microscopy (scale bar 50 µm)

3.2. Электронная микроскопия

Для анализа структур менее 1 мкм из-за недостаточного пропускания света использовать классическую световую микроскопию недостаточно и необходимо выбирать излучение с более высокой проникаемостью — энергию электронов. Электронные микроскопы могут предоставлять исследователям исчерпывающую информацию об ультраструктуре и о химическом составе образца [10]. Соединение рентгеновского зонда с электронным микроскопом дает возможность проводить рентгеновский микроанализ, то есть локально измерять на микроскопическом уровне рентгеновский спектр [29].

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) для создания изображения использует электронный пучок, образуемый катодом в камере микроскопа, который взаимодействует с атомами образца, в результате чего генерируются низкоэнергетичные вторичные электроны, собираемые детектором. Таким образом получается карта рельефа проанализированной зоны. Интенсивность электрического сигнала детектора зависит как от природы образца, так и от топографии образца в области взаимодействия. На мониторе компьютера мы наблюдаем увеличенное изображение отсканированной области (Рисунок 5). Основная проблема заключается в том, что образец находится в вакууме, он не должен содержать воды, а его поверхность должна быть электропроводной [10]. Наиболее распространенными факторами, влияющим на качество получаемого изображения, являются выбор напряжения, угол наклона образца, заряд образца и рабочее расстояние.

Tornberg в своей работе [30] рассматривал влияние нагревания на изменение вторичной, третичной и четвертичной структуры белков и показал, что СЭМ является мощным инструментом для лучшего понимания взаимосвязи между структурой белков и качеством мяса. Метод также применяли для изучения влияния протеолитических ферментов на внутримышечную соединительную ткань [31]. В статье [32] приведены результаты влияния солезаменителей и желатиновой камеди на структуру мясных клеев, полученные при использовании СЭМ.

Криосканирующая электронная микроскопия заключается в наблюдении образца с помощью СЭМ после предварительной криофиксации. Метод хорошо адаптирован к биологическим тканям, на которые относительно не влияет такая подготовка. Криофиксация — это способ визуализации электролитов, которые подавляются при классической подготовке и дегидратации. С использованием крио-СЭМ оценивали микроструктуру эндомизия и перимизия при изучении влияния температуры и времени приготовления на потери, цвет и текстуру говядины [33]. С помощью этого метода также исследовали ультраструктуру мышечных волокон свинины в зависимости от скорости замораживания и времени хранения [34]. В работе [35] при изучении ультраструктурных изменений в ветчине сравнили результаты, полученные с помощью СЭМ, крио-СЭМ и трансмиссионной электронной микроскопии, и пришли к выводу о взаимодополнительности этих методов.

Сканирующая электронная микроскопия окружающей среды (СЭМОС, или электронная микроскопия с переменным давлением — ПД-СЭМ) представляет собой новую разработку в области электронной микроскопии и позволяет наблюдать образцы при

почти нормальном атмосферном давлении (в отличие от классического СЭМ) без необходимости их обезвоживания или замораживания. Авторы Yarmand et al. [36] использовали СЭМОС для изучения изменения структуры телячьей *m. Semimembranosus* при нагревании, а в работе [37] метод применяли для изучения растяжения *m. Semitendinosus* говядины *in situ* после различных предварительных обработок (замораживание, термообработка), что позволило получить изображения разрушения структуры мышцы в режиме реального времени. Несмотря на то, что данный метод предлагает многообещающие возможности для наблюдения за неповрежденными образцами, контраст изображения часто бывает хуже, чем при традиционном СЭМ.

При просвечивающей (трансмиссионной) электронной микроскопии (ПЭМ) электронный пучок проходит через образец (ультратонкий срез толщиной менее 0,1 мкм, окрашенный тяжелыми металлами), при этом происходит неоднородное поглощение электронов разными его частями образца, и далее фокусируется магнитными электронными линзами на регистрирующей поверхности (флуоресцентные экраны со слоем люминофора, фотопленка или фотопластинки, приборы с зарядовой связью (ПЗС-матрицы)) в увеличенном размере. Таким образом, получается двумерная картина распределения плотности электронного потока. Этот метод применяли для наблюдения изменений структуры саркомеров во время обработки говядины протеолитическими ферментами [38] и хлоридом кальция [39]; для изучения влияния электрической стимуляции бычьих туш на посмертные изменения в скелетных мышцах [40]; с целью выявления изменений ультраструктуры мышц буйвола при замораживании / оттаивании [41].

Разработана также иммуноэлектронная микроскопия, позволяющая обнаружить специфические белки в ультратонких срезах тканей [42], однако данное направление не нашло дальнейшего широкого применения в исследованиях мяса.

3.3. Другие виды микроскопии

Атомно-силовая микроскопия относится к группе методов, называемых в совокупности сканирующей зондовой микроскопией. Микрозонд перемещается в области ближнего поля образца, то есть располагается на расстоянии до 100 нм и сканирует рельеф исследуемого образца и его физико-химические свойства (электропроводность, магнитные свойства, температура), а также позволяет обнаружить наличие функциональных групп в некоторых молекулах. Метод использовали для выявления распределения воды в свинине при посоле [43].

Рентгеновская микроскопия работает по тому же принципу, что и рентгеновская компьютерная томография, используя технологию контрастной визуализации изменения поглощения рентгеновского излучения при прохождении через образец. Прошедшая часть излучения отображается на поверхности детектора. Современные рентгеновские микроскопы способны создавать 3D-изображения, анализировать различные по структуре образцы, а также проводить количественные измерения. В области исследований мяса и мясопродуктов этот метод подходит для определения содержания костей [44], мышечной ткани и жира [45–47].

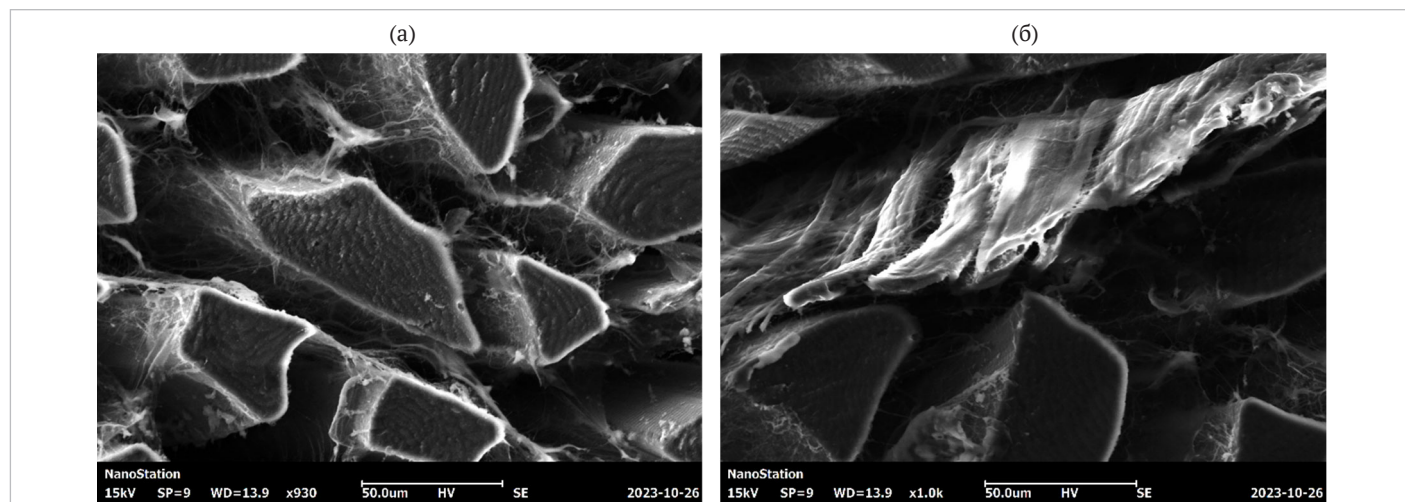


Рисунок 5. Структура *m. L. Dorsi*, поперечный срез, СЭМ (масштаб 50 мкм): (а) — мышечные волокна; (б) — соединительная ткань перимизия

Figure 5. Structure of *m. L. dorsi*, cross section, SEM (scale bar 50 µm): (a) — muscle fibers; (b) — connective tissue of the perimysium

Инфракрасная микроскопия использует инфракрасный свет для изучения образов малых размеров (несколько мкм) и предназначена в первую очередь для идентификации органических и неорганических веществ. Практическое применение метод нашел для дифференциации компонентов в трудноразделяемых смесях. В работе [48] благодаря сочетанию световой и ИК-Фурье-микроскопии продемонстрирована взаимосвязь между микроструктурой, содержанием соли и влаги и вторичной структурой белка (амидной области белка I) в образцах свинины.

Акустическая микроскопия относится к неразрушающим методам исследования и использует сверхвысокую частоту ультразвука. К преимуществам можно отнести возможность получения изображений под поверхностью оптически непрозрачных материалов. Применение данного метода для определения содержания жира в образцах ветчины и салами чоризо показано в работе Watson N. et al. [49].

4. Применение микроскопических методов для определения качественных показателей мясного сырья

Структура мышечной ткани играет непосредственную роль в формировании качества мяса [6,50]. Известно, что площадь поперечного сечения и соотношение типов мышечных волокон влияют на мышечный метаболизм, на цвет, на водоудерживающую способность, на нежность и на органолептические характеристики сырья [51,52]. Молекулярная архитектура саркомера, определяемая взаимодействием актин-миозиновых филаментов и границ между Z-дисками, оказывает непосредственное влияние не только на структурные свойства сырого мяса, но и на качество вареного продукта, на его цвет, вкус [53].

При изучении структуры мышечной ткани чаще всего применяют световую микроскопию с различными вариантами окрашивания, позволяющими наиболее полно охарактеризовать строение мышечных волокон. В работе [54] показано влияние стресса во время предубойного содержания на микроструктуру *m. L. dorsi* свиней. Авторы использовали окрашивание гематоксилином и эозином и получили статистически значимые различия между отдельными группами животных с разной предубойной выдержкой по диаметру мышечных волокон, количеству и площади гигантских волокон, длине саркомера.

При изучении взаимосвязи между микроструктурой и технологическими свойствами разных частей *m. Semitendinosus* свиней для типирования волокон ученые Semenova et al. [55] использовали окрашивание суданом В (черным) и ШИК-реакцию в модификации Шабадаша. Исследование показало, что темная часть мышцы характеризовалась более высокой плотностью расположения волокон и большей длиной саркомеров и имела более высокие значения pH ($6,15 \pm 0,05$). Напротив, светлая часть характеризовалась большим диаметром мышечных волокон, более рыхлой консистенцией и низкими значениями pH ($5,80 \pm 0,02$).

Для типирования волокон можно применять иммуногистохимическое окрашивание, используя антитела к разным изоформам тяжелых цепей миозина, что показано на примере *m. Semimembranosus* и *m. Semitendinosus* [56]. Такое окрашивание позволило показать взаимосвязь саркоплазматических и миофибриллярных белков с качеством мяса в пределах одной мышцы.

Гистохимическое окрашивание на акто-миозиновую АТФазу для различения сократительных типов I, IIA и IIB, а также окрашивание на сукцинодегидрогеназу для идентификации красных окислительных и белых гликолитических мышечных волокон приведены в работе [57]. Авторы установили, что генетические факторы и система выращивания оказывают разное влияние на структуру мышц, при этом содержание внутримышечного жира и типовой состав волокон не взаимосвязаны.

Применение гистохимии (окрашивание на АТФ-азу и НАДФ-тетразолийредуктазу) для типирования волокон при изучении качества мяса показано также в работах [58–60]. Разный профиль мышечных волокон характерен для разных мышц одного животного, а также для разных пород, линий и гибридов и оказывает влияние не только на функциональный характер мышцы, но и на ее функционально-технологические и потребительские характеристики [61,62].

На качество мясного сырья влияет не только строение непосредственно самих мышечных волокон, но и внутримышечная соединительная ткань и внутримышечный жир [63]. Соединительная ткань, располагающаяся как между пучками мышечных волокон (перимизий), так и между отдельными мышечными волокнами (эндомизий) представляет собой трехмерную сеть, морфология и состав которой

варьируются от одного вида (включая вид, пол, возраст) животного к другому и от одной мышцы к другой в зависимости от ее положения и функции, при этом имея сложную связь с нежностью мяса [64]. Внутримышечная соединительная ткань выполняет широкий спектр функций, в том числе координирует деформации между соседними мышечными волокнами, поддерживает связь саркомеров друг с другом, организует и обслуживает каждое мышечное волокно [65].

Структурные изменения внутримышечной соединительной ткани при развитии *m. Semitendinosus* крупного рогатого скота исследовали методом сканирующей электронной микроскопии, позволяющей элиминировать клеточные элементы и выявлять коллагеновые фибриллы и волокна [66]. Результаты работы продемонстрировали, что расположение коллагеновых фибрилл и волокон тесно связано с увеличением механической прочности внутримышечной соединительной ткани в процессе развития скелетной мускулатуры.

Авторы Dubost et al. использовали световую микроскопию и анализ изображения при изучении влияния структурных особенностей внутримышечной соединительной ткани на качество говядины на примере трех мышц (*Longissimus thoracis*, *Semimembranosus* и *Biceps femoris*) [67,68]. Для визуализации перимизия и эндомизия авторы окрашивали срезы по методу Пикро-Сириус красный. Результаты показали, что содержание коллагена в прослойках перимизия отрицательно влияет на сочность, в то время как внутримышечный жир положительно связан с нежностью и вкусом при дальнейшей технологической обработке мяса.

Микроструктурные характеристики мышечной ткани и их изменения в процессе автолиза мясного сырья, устанавливаемые в помощью микроскопических методов, находят свое отражение при проведении протеомных и спектрометрических исследований [69].

5. Применение микроскопии при изучении влияния технологических режимов обработки на структуру мяса

На структуру мяса непосредственное влияние оказывают различные виды технологической обработки: замораживание, посол, созревание, термообработка и др. Замороженное мясо обычно используется в промышленности в качестве сырья для различных мясных продуктов. В зависимости от ряда факторов (температура, влажность и др.) замораживание вызывает химические и структурные изменения тканей, в основном в результате изменения характеристик белка, приводя к снижению их функциональности, что отрицательно сказывается на качестве готовых продуктов [70]. Медленное замораживание приводит к образованию небольшого количества крупных внеклеточных кристаллов льда, в то время как быстрое замораживание производит множество мелких кристаллов, распределенных по всему объему сырья. Одним из последствий образования кристаллов льда является физическое повреждение микроструктур, которое продолжается на протяжении всего периода хранения и размораживания из-за непрерывной рекристаллизации [7]. Использование как оптической, так и электронной микроскопии позволяет наиболее наглядно оценить степень повреждения клеток впоследствии замораживания и размораживания, а также установить размеры и расположение кристаллов льда.

В работе [71] применяли СЭМ для изучения структурных изменений в свинине при различных методах размораживания. Микроволновое размораживание индуцировало заметно больший зазор между мышечными волокнами и приводило к разрывам большего числа пучков по сравнению с другими методами размораживания, а размораживание в холодильнике (4 °C) оказывало наименьшее негативное влияние на микроструктуру мышцы.

Ученые Oliveira et al. [72] оценивали влияние разных способов размораживания на структуру куриной грудки с помощью световой микроскопии и окрашивания гематоксилином и эозином. Размораживание погружением в холодную воду (в полиэтиленовых пакетах) было методом, который показал наилучшие результаты из-за меньшего повреждения мышечных волокон, что привело к меньшим капельным потерям и большей нежности образцов.

ПЭМ совместно со световой микроскопией использовали при изучении влияния многократного замораживания-размораживания на структуру *m. L. dorsi* овец [73]. Изображения электронной микроскопии позволили установить, что многократное замораживание-оттаивание привело к ослаблению связей между тонкими нитями актина и Z-линиями, к ослаблению M-линий, к распаду миофибрилл и к изменению размеров саркомеров (уменьшение с 1,71 мкм до 1,49 мкм в течение первых 10 циклов и дальнейшее увеличение до 1,54 мкм между 10 и 15 циклами). Результаты световой микроскопии показали, что многократное замораживание-размораживание индуцировало разрыв эндомизия, появление промежутков между воло-

нами, а также уменьшение диаметра мышечных волокон с 30,93 мкм до 21,87 мкм после 15 циклов.

Крио-СЭМ применяли для исследования изменений микроструктуры говяжьих мышц, подвергнутых различным циклам замораживания-размораживания [74]. Результаты показали, что увеличение циклов замораживания-размораживания вызывало усиление разрывов эндомизия, увеличение промежутков между волокнами и полостей внутри волокон. Изменения микроструктуры могут служить доказательством, объясняющим уменьшение количества иммобилизованной воды после нескольких циклов замораживания-размораживания.

Таким образом, применение микроскопии позволило установить основные структурные изменения, происходящие в мясе в процессе замораживания: уменьшение диаметра мышечного волокна и длины саркомеров, увеличение межклеточных пространств, распад миофибрилл и характерной исчерченности мышечных волокон, признаки клеточной дезорганизации. Условия замораживания и размораживания оказывают большое влияние на степень разрушения микроструктуры, однако основным недостатком микроскопического анализа при дифференциации охлажденного и размороженного мяса является то, что при определенных условиях замораживания-размораживания не наблюдаются явные структурные повреждения мышечных волокон, в связи с чем требуется применение других аналитических методов [7].

Способ и время хранения мясного сырья также влияют на его структуру и, как следствие, на качество. Кратковременное хранение в замороженном виде приводит к менее выраженным микроструктурным изменениям, чем хранение в микрозаморозке и при температуре льда [75].

Влияние процессов инъектирования, массирования и термообработки (72 °C) на гистологические показатели двух мышц свинины *m. Semimembranosus* и *m. Quadriceps femoris* показано в работе [76]. Авторы использовали световую микроскопию и окрашивание гематоксилином и эозином, а полученные препараты оценивали с помощью компьютерного анализа изображений. Было установлено, что четырехглавая мышца бедра проявляет большую динамику изменения структурных элементов по сравнению с полуперепончатой мышцей. Инъектирование приводило к округлению контуров мышечных волокон, а также к увеличению площади их поперечного сечения, а термообработка выравнивала размеры клеток и уменьшала межклеточные пространства.

Ученые Larrea et al. провели комплексные исследования микроструктуры свинины, используя Крио-СЭМ, СЭМ и ПЭМ, на разных этапах производства сыровяленной ветчины: от охлажденного сырья до конца созревания [77]. В *m. Semimembranosus* после посола наблюдались более выраженные, чем в *m. Biceps femoris*, изменения, проявляющиеся в ослаблении Z-линий и в деградации клеточных мембран, а также в разделении миофибриллярных пучков. В готовом продукте в обеих мышцах наблюдалось накопление продуктов протеолиза, образующихся преимущественно на последней стадии созревания.

Изменения микро- и ультраструктуры мышечных волокон говядины после добавления хлорида натрия и лактата калия оценивали с помощью оптической гистологии и методов ПЭМ [78]. Добавление соли приводило к появлению аморфных зон, где несколько волокон сливались с исчезновением внеклеточных пространств и утратой сарколеммы, но с сохранением миофибриллярной структуры. Добавление лактата калия усиливало действие NaCl, увеличивая сольбилизацию Z-линии и набухание митохондрий и цистерн саркоплазматического ретикула.

Влияние технологических процедур (замораживание и нагревание) на микроструктуру и агрегацию мышечных белков в *m. Longissimus dorsi* показано в работе [79]. Авторы сравнили данные, полученные с помощью оптической микроскопии и СЭМ, с результатами электрофореза. Нагревание приводило к увеличению молекулярной массы агрегатов, тогда как замораживание оказывало аддитивный эффект на агрегаты, при этом полоса актина уменьшалась по мере увеличения времени приготовления. Полученные изображения структур позволили определить размер агрегатов и их количество. Результаты были дополнены качественной информацией с помощью электронной сканирующей микроскопии.

Обработка протеолитическими ферментами является одним из популярных методов размягчения мяса, оказывая влияние на структуру мышечных волокон. Основные изменения, выявленные с помощью СЭМ, связаны с фрагментацией миофибрилл (особенно в первые 24 ч) из-за протеолиза Z-линий, а также с деформацией и нарушением структуры эндомизия [80]. Папаин вызывает сильные повреждения мышечных волокон, разрывы с высвобождением

клеточного содержимого, увеличение внутриклеточных пространств и разрывы сарколеммы, в результате чего волокна приобретают булабовидную структуру, что хорошо выявляется при световой микроскопии и обзорном окрашивании гематоксилином и эозином [81].

6. Микроскопия в анализе качества и состава готовых мясных продуктов

Основное применение микроскопических методов при анализе готовых мясных продуктов сосредоточено на качественных исследованиях состава и на выявлении отдельных компонентов и тканей. Использование внутренних органов убойных животных, а также хрящей, костей, кожи вместо заявленного на этикетке готового продукта мяса рассматривается как фальсификация [82]. Фальсификация мясных продуктов является серьезной проблемой во многих странах с точки зрения рисков для здоровья потребителя и экономических последствий. Гистологические методы могут обеспечить выявление фальсификации и контроль качества и состава мясных продуктов на государственном уровне [83].

Использование микроскопии широко распространено при анализе мясных продуктов во всем мире [84,85]. Авторы Cetin et al. сообщили, что 21 из 127 исследованных образцов готовых мясных продуктов содержали незаъявленные компоненты, такие как фрагменты костей и мясо механической обвалки [86]. Гистологическое исследование, проведенное в США на различных марках гамбургеров и хот-догов, показало наличие не только скелетных мышц, но и различных тканей, включая соединительную, жировую, а также выявило присутствие кровеносных сосудов, периферических нервов, растительных компонентов, хрящей и костей [87,88]. Авторы применяли как световую микроскопию с окрашиванием срезов гематоксилин-эозином, так и селективное окрашивание жира, иммуногистохимию и электронную микроскопию.

Состав сыровяленых колбас с применением окрашивания *Calleja* и программного анализа изображений исследовали в работе [89]. Помимо скелетной мускулатуры, жировой и соединительной тканей были выявлены железистая и нервная ткани. Однако авторы отметили, что результаты количественной оценки содержания тканей, полученные при автоматизированном анализе изображений, рекомендуются проверять альтернативными методами.

Применение сканирующей электронной микроскопии наряду со световой для анализа состава 105 различных мясных бутербродов («Кофта», «Хавауши» и «Шаверма») показало, что помимо скелетных мышц в составе образцов присутствовали другие типы тканей, включая соединительную, легкие, желудок жвачных, крупные кровеносные сосуды, сердечную мышечную ткань, жировую ткань, хрящи и губчатые кости, лимфатическую ткань (селезенку), а также растительные компоненты и частицы песка. При окрашивании АТФ-азой обнаружили эмбриональную ткань в мясе «Хавауши» [90].

Исследователи Abd-Elhafeez et al. использовали световую, флуоресцентную и сканирующую электронную микроскопию при исследовании 400 образцов мясных продуктов [91]. Были выявлены затылочные связки, кости, гиалиновые хрящи, фиброзные хрящи, крупные и средние артерии, сердечная мышца, сухожилия, коллагеновая соединительная ткань. Сканирующая электронная микроскопия позволила обнаружить кристаллы пищевых добавок, которые нельзя идентифицировать при световой микроскопии.

Авторы Gajdov et al. [92] с помощью световой микроскопии, применяя гистологические и гистохимические методы окрашивания совместно с гистоморфометрией, анализировали состав кулена. В изученных образцах были выявлены мышечная, жировая и соединительная ткани, кровеносные сосуды, железистый эпителий, периферические нервы, хрящевая и растительная ткани. Проведенный количественный анализ образцов показал $56 \pm 2,52\%$ мышечной ткани, $7,27 \pm 1,38\%$ соединительной ткани и $19,82 \pm 3,24\%$ жировой ткани.

Во всех исследованных образцах традиционных турецких ферментированных колбас с помощью гистологических и иммуногистохимических методов были обнаружены ткани животного происхождения, не разрешенные к применению [93]. А в образцах колбасных изделий с рынков северо-востока Ирана помимо скелетной мышечной и жировой тканей, а также растительных компонентов с помощью световой микроскопии и четырех вариантов окрашивания срезов был обнаружен широкий спектр несанкционированных компонентов, включая плотную соединительную, хрящи, кости, кожу, гладкую мускулатуру и кровеносные сосуды [94]. Результаты исследования подтвердили возможность применения трихромного окрашивания по Массону для рутинной оценки состава мясных продуктов, которое также было использовано в работах [95,96] для выявления тканей и органов животного в готовых мясных продуктах.

В аналогичном исследовании [97] мясных продуктов в дополнение к нескольким вариантам окрашивания применили стереологическую методику оценки процентного содержания идентифицируемых компонентов. Стереология представляет собой трехмерные измерения микроскопических структур, а при гистологическом исследовании используется для извлечения трехмерных данных из двумерных изображений срезов тканей [98]. Авторы отметили наличие тканей желудка, что подтверждает примесь соответствующих субпродуктов, присутствие железистой ткани, а именно слюнной железы, которая отражает использование в производстве мяса голов. Большое количество жировой ткани без соответствующей маркировки также было отнесено к мошенничеству. Стереологические результаты показали отчетливую разницу в процентном соотношении мяса по сравнению с указанным на этикетке.

Пищевые нуклеиновые кислоты все чаще признаются важными компонентами готовых продуктов, имеющими пищевую ценность. Для их выявления можно использовать окрашивание ДНК-селективными флуоресцентными красителями, что позволит визуализировать дезоксирибонуклеиновую кислоту на гистологических препаратах при микроскопировании [99]. С помощью соответствующего биоинформационного анализа полученные в ходе такого окрашивания изображения помогут проводить прямую полуколичественную оценку этих макромолекул в мясных продуктах.

При проведении исследований результаты микроскопии можно дополнить данными ДНК [100] и химического анализа [101]. Аналитический подход с использованием нескольких методов позволяет получить больше информации о содержании отдельных компонентов в составе готового мясного продукта [102]. В некоторых случаях микроскопия имеет преимущество, например, при выявлении мяса механической обвалки в составе готовых продуктов. Химический анализ основан на обнаружении кальция, содержание которого зависит от многих факторов (возраст животного, порода, тип кости), а гистологический — на идентификации характерных структур тканей, в частности костной и хрящевой [103]. Отмечено, что при проведении исследований целесообразно использовать несколько селективных методик окрашивания для достижения наилучших результатов [104].

7. Количественные исследования и применение современных компьютерных технологий в микроструктурном анализе мяса и мясных продуктов

Развитие микроскопии пищевой промышленности, в частности мяса и мясных продуктов, привело к необходимости дополнения качественных исследований количественными результатами. Вначале гистометрию применяли для описания отдельных структур образца; позднее, благодаря углубленному анализу и объективным процедурам пробоподготовки, окрашивания и оценки результатов, стал возможным количественный подсчет содержания компонента [9].

В настоящее время количественные исследования могут быть выполнены: (1) в виде приблизительного результата, выражающего частоту возникновения случая (например, присутствия определенного компонента в структуре образца) в устной форме (умеренное количество, среднее, незначительное и т. д.) или с помощью графических символов (например, +, ++, +++ и т. д.); (2) в виде точного выражения результатов, полученных с помощью гистометрии (количество частиц, площадь измеренных объектов, их линейные характеристики).

Вопрос о целесообразности использования гистологических методов для количественного определения компонентов мясных продуктов изучается в научной литературе с восьмидесятых годов прошлого века. Авторы *Koolmees et al.* обсудили преимущества и недостатки использования гистометрических методов для определения процентного содержания фиброзной ткани и коллагена в копченых колбасах [105]. Результаты, полученные с помощью гистометрических процедур, показали корреляцию от 0,88 до 0,96 с результатами химического анализа. Гистометрия позволяет получить более полное представление о составе продукта, поскольку при микроскопии каждая ткань определяется непосредственно по характерным структурным особенностям, а ее поверхность на гистологическом препарате считается пропорциональной ее объему в исходном образце. В то время как в химическом анализе компонент оценивается косвенно, например, выявление коллагена основано на оксипролине, а содержание мышечного белка определяют, вычитая количество коллагена из общего белка (рассчитанного по количеству азота) [106].

В работе [107] гистометрию применяли для анализа количества мышечного желудка и соевой муки в составе говяжьего фарша. Существенной разницы между расчетным содержанием обоих ком-

понентов и их реальным количеством не было — для соевой муки коэффициент корреляции составил 0,70–0,74. Отмечено, что количественная оценка животных компонентов зависит от вида исследуемого продукта, от степени измельчения и от термообработки [108,109].

Для проведения ручной морфометрии используют специальные измерительные сетки (например, сетка Автандилова), вставляемые в окуляр микроскопа, либо интеграционные окуляры (окуляры с измерительной сеткой), а линейные характеристики частиц определяют с помощью окулярного микрометра. В этом случае работа требует высокой квалификации специалиста и отличается значительными временными и трудовыми затратами. На современном этапе развития программного обеспечения для микроскопического оборудования используются компьютерные системы анализа изображений, позволяющие существенно сократить время исследования, одновременно расширив набор определяемых показателей.

Компьютерный анализ изображений — это простой в использовании и гибкий программный инструмент, который позволяет проводить точные измерения, а также автоматически обнаруживать объекты по форме, размеру, цвету и по другим критериям. Он дает возможность количественно описать и конкретизировать информацию, полученную при микроскопическом исследовании. Процедура заключается в создании фотографий и в их последующем анализе с помощью компьютерной программы [110]. Большинство программ предусматривает создание шаблонов с фиксированными алгоритмами обработки снимков и идентификации выбранного компонента на основе цветовых характеристик с последующим измерением необходимых геометрических параметров структур. В результате получается набор числовых данных, которые могут быть оценены с помощью статистических методов, что позволит проводить сравнение различных образцов не только на качественном, но и на количественном уровне.

Анализ изображений используется в мясной промышленности при оценке морфологических особенностей продукта: для определения содержания жира и внутримышечной соединительной ткани [67], скелетной мускулатуры [111], костных включений [9]. Он позволяет получить объективные результаты, так как предусматривает использование большого количества изображений и помогает избежать одного из главных «подводных камней» микроскопии, когда отбираются и публикуются только лучшие снимки для демонстрации результатов в качестве «репрезентативной» выборки [10]. Полученные при анализе микроскопических изображений результаты сопоставимы с данными химических методов. Количественное определение содержания соевого белка с помощью комбинации иммуногистохимических методов и компьютерного анализа изображений продемонстрировано в работе [112], а в аналогичном исследовании [113] были получены коэффициенты корреляции от 0,81 до 1,00 для разных концентраций соевого белка (0,1–3,0%).

Разработка экспертной системы контроля качества мяса и готовых мясных продуктов на микроструктурном уровне с использованием интеллектуальных технологий является актуальным направлением исследований. В настоящее время проводятся работы по автоматизации процессов визуализации и по внедрению искусственной нейронной сети в рутинную работу гистологов [114]. Разработка искусственной нейронной сети позволит ускорить процесс анализа гистологических препаратов, а также существенно повысить объективность получаемых результатов.

8. Выводы

Использование микроскопических подходов для анализа качества мяса и мясных продуктов благодаря своей простоте и наглядности широко распространено во всем мире. Наибольшее применение в исследованиях мяса нашли оптическая и сканирующая электронная микроскопия. При этом использование разных техник в одном исследовании позволяет существенно расширить набор определяемых микроструктурных показателей. При проведении анализа состава готовых мясных продуктов целесообразно применять световую микроскопию с различными вариантами гистологического и гистохимического окрашивания, позволяющими дифференцировать различные структурные компоненты образца. Использование микроскопии имеет особое преимущество перед другими методами анализа, поскольку обеспечивает прямую идентификацию компонентов и позволяет выявлять различные ткани и клетки не только животного, но и растительного происхождения. Несмотря на то, что гистологический анализ традиционно считается качественным методом, в настоящее время все более широкое применение находит морфометрическая оценка, дающая возможность получения

количественных результатов. Компьютерный анализ изображений позволяет проводить точные измерения, в том числе в автоматическом режиме, а полученные результаты по содержанию отдельных компонентов в образце сопоставимы с данными химического анализа. Таким образом, методы микроскопии имеют значительный

потенциал и являются незаменимым инструментом, позволяющим изучать структуру мяса, ее изменения в процессе технологической обработки, оценивать качество готового мясного продукта, а в сочетании с современным оборудованием и программным обеспечением дают возможность получать объективные результаты.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Keck, L.-E. Proteins and Meat. Oxford Research Encyclopedia of Food Studies. (An advance summary of a forthcoming article) <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780197762530.013.134>
- Shahbandeh, M. (2021). Meat consumption worldwide 1990–2020, by meat type. Retrieved from <https://www.statista.com/statistics/274522/global-per-capita-consumption-of-meat/> Accessed April 24, 2024.
- Кравченко, В. (2022). Рынок мяса: развитие продолжается. *Животноводство в России*, 1, 11–13. [Kravchenko, V. (2022). Meat market: Development continues. *Animal Husbandry of Russia* 1, 11–13. (In Russian)]
- Khaled, A.Y., Parrish, C.A., Adedeji, A. (2021). Emerging nondestructive approaches for meat quality and safety evaluation — A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3438–3463. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12781>
- Pospiech, M., Lukaskova, Z.R., Tremlova, B., Randulová, Z., Bartl, P. (2011). Microscopic methods in food analysis. *Maso International Brno*, 1, 27–34.
- Joo, S.T., Kim, G.D., Hwang, Y.H., Ryu, Y.C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.044>
- Ballin, N.Z., Lametsch, R. (2008). Analytical methods for authentication of fresh vs. thawed meat — A review. *Meat Science*, 80(2), 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.024>
- Ballin, N.Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577–587. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.001>
- Tremlová, B., Štarha, P. (2018). Histometric evaluation of meat products — determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry. *Czech Journal of Food Sciences*, 21(3), 101–106. <https://doi.org/10.17221/3484-CJFS>
- Kaláb, M., Allan-Wojtas, P., Miller, S.S. (1995). Microscopy and other imaging techniques in food structure analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 6(6), 177–186. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89052-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89052-4)
- Holgate, J.H., Webb, J. (2003). Light microscopy and histochemical methods. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, 2-nd Edition. Academic Press, 2003. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00778-1>
- Exbrayat, J.-M. (2016). Light Microscopy and Histochemical Methods. Encyclopedia of Food and Health, Academic Press, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00460-8>
- Aesch, E., Büchl-Zimmermann, S., Burmester, A., Dänhardt-Pfeiffer, S., Desel, C., Hamers, C. et al. (2010). Coloring. Chapter in a book: Romei's microscopic technique. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2010. https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2254-5_3 (In German)
- Flint, F.O., McCrone, W.C., Windram, V.A., Threlfall, T.L., Clark, D.A. (1992). Extending your vision — why not use a microscope? *Analytical Proceedings*, 29, 106–111. <https://doi.org/10.1039/AP9922900106>
- Pospiech, M., Tremlová, B., Eliášová, M., Talandová M. (2013). The optimisation of the bone fragment content determination in histological sections. *Maso International*, 2, 155–159.
- Chilosi, M., Lestani, M., Pedron, S., Montagna, L., Benedetti, A., Pizzolo, G. et al. (1994). A rapid Immunostaining method for frozen sections. *Biotechnic and Histochemistry*, 69(4), 235–239. <https://doi.org/10.3109/10520299409106292>
- Pospiech, M., Tremlová, B., Renčová, E., Randulová Z. (2009). Immunohistochemical detection of soya protein — optimisation and verification of the method. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 11–19. <https://doi.org/10.17221/2848-CJFS>
- Egelandsdal, B., Kidman, S., and Hermansson, A.-M. (1991). Immunohistochemical techniques applied to raw and mildly heat treated meat systems. *Food Structure*, 10(4), Article 4.
- Lukášková, Z.R., Tremlová, B., Pospiech, M., Renčová, E., Randulová, Z., Steinhäuser, L. et al. (2011). Comparison of immunohistochemical, histochemical and immunochemical methods for the detection of wheat protein allergens in meat samples and cooked, dry, raw and fermented sausage samples. *Food Additives and Contaminants. Part A*, 28(7), 817–825. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.572292>
- Tersteeg, M.H.G., Koolmees, P.A., van Knapen, F. (2002). Immunohistochemical detection of brain tissue in heated meat products. *Meat Science*, 61(1), 67–72. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00164-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00164-4)
- Harper, B.A., Barbut, S., Lim, L.-T., Marcone, M.F. (2012). Microstructural and textural investigation of various manufactured collagen sausage casings. *Food Research International*, 49(1), 494–500. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.043>
- Barbut, S., Ioi, M., Marcone, M. (2020). Co-extrusion of collagen casings. Effects of preparation, brining, and heating on strength, rheology and microstructure. *Italian Journal of Food Science*, 32(1), 91–106. <https://doi.org/10.14674/IJFS-1557>
- Liu, Z.I., Xiong, Y.L., Chen, J. (2011). Morphological examination of oxidatively stressed pork muscle and myofibrils upon salt marination and cooking to elucidate the water-binding potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 13026–13034. <https://doi.org/10.1021/jf2041017>
- Petrášová, M., Zichová, E., Pospiech, M., Tremlová, B. (2014). Immunofluorescent determination of wheat protein in meat products. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 8(1), 82–86. <https://doi.org/10.5219/340>
- Swartz, D.R., Greaser, M.L., Bruce Marsh, B. (1993). Structural studies of rigor bovine myofibrils using fluorescence microscopy. I. Procedures for purification and modification of bovine muscle proteins for use in fluorescence microscopy. *Meat Science*, 33(2), 139–155. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90057-O](https://doi.org/10.1016/0309-1740(93)90057-O)
- Astruc, T., Marinova, P., Labas, R., Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V. (2007). Detection and localization of oxidized proteins in muscle cells by fluorescence microscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9554–9558. <https://doi.org/10.1021/jf0717586>
- Straadt, I.K., Rasmussen, M., Andersen, H.J., Bertram, H.C. (2007). Aging-induced changes in microstructure and water distribution in fresh and cooked pork in relation to water-holding capacity and cooking loss — A combined confocal laser scanning microscopy (CLSM) and low-field nuclear magnetic resonance relaxation study. *Meat Science*, 75(4), 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.09.019>
- Nakamura, Y.-N., Iwamoto, H., Etoh, T., Shiotsuka, Y., Yamaguchi, T., Ono, Y., et al. (2007). Three-dimensional observation of connective tissue of bovine M. semitendinosus muscle under concentrate — and roughage-fed conditions by using immunohistochemical/confocal laser-scanning microscopic methods. *Journal of Food Science*, 72(6), E375–E381. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00415.x>
- Damez, J.-L., Clerjon, S. (2008). Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science*, 80(1), 132–149. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.039>
- Törnberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins — Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3), 493–508. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.021>
- Qihe, C., Guoqing, H., Yingchun, J., Hui, N. (2006). Effects of elastase from a *Bacillus* strain on the tenderization of beef meat. *Food Chemistry*, 98(4), 624–629. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.04>
- Totosaus, A., Pérez-Chabela, M.L. (2009). Textural properties and microstructure of low-fat and sodium-reduced meat batters formulated with gellan gum and dicationic salts. *LWT — Food Science and Technology*, 42(2), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.07.016>
- García-Segovia, P., Andrés-Bello, A., Martínez-Monzó, J. (2007). Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (*M. pectoralis*). *Journal of Food Engineering*, 80(3), 813–821. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.010>
- Ngapo, T.M., Babare, I.H., Reynolds, J., Mawson, R.F. (1999). Freezing rate and frozen storage effects on the ultrastructure of samples of pork. *Meat Science*, 53(3), 159–168. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00051-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00051-0)
- Larrea, V., Perez-Munuera, I., Hernandez, I., Quiles, A., Llorca, E., Lluca, M.A. (2007). Microstructural changes in Teruel dry-cured ham during processing. *Meat Science*, 76(3), 574–582. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.013>
- Yarmand, M.S., Baumgartner, P.A. (2000). Environmental scanning electron microscopy of raw and heated veal semimembranosus muscle. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2(3), 217–214.
- James, B., Yang, S. W. (2011). Testing meat tenderness using an in situ straining stage with variable pressure scanning electron microscopy. *Procedia Food Science*, 1, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.041>
- Gerelt, B., Ikeuchi, Y., Suzuki, A. (2000). Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat Science*, 56(3), 311–318. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00060-7)
- Gerelt, B., Ikeuchi, Y., Nishiumi, T., Suzuki, A. (2002). Meat tenderization by calcium chloride after osmotic dehydration. *Meat Science*, 60(3), 237–244. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00126-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00126-7)
- Ho, C.Y., Stromer, M.H., Robson, R.M. (1996). Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulin, desmin, and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 74(7), 1563–1575. <https://doi.org/10.2527/1996.7471563x>
- Sen, A.R., Sharma, N. (2004). Effect of freezing and thawing on the histology and ultrastructure of buffalo muscle. *Asia-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(9), 1291–1295. <https://doi.org/10.5713/ajas.2004.1291>
- Takahashi, K. (1996). Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: The non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Science*, 43(Suppl 1), S67–S80. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(96\)00056-3](https://doi.org/10.1016/0309-1740(96)00056-3)
- Bertram, H.C., Meyer, R.L., Wu, Z., Zhou, X., Andersen, H.J. (2008). Water distribution and microstructure in enhanced pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7201–7207. <https://doi.org/10.1021/jf8007426>
- McFarlane, N.J.B., Speller, R.D., Bull, C.R., Tillett, R.D. (2003). Detection of bone fragments in chicken meat using X-ray backscatter. *Biosystems Engineering*, 85(2), 185–199. [https://doi.org/10.1016/S1537-5110\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S1537-5110(03)00036-9)
- Anderson, F., Cook, J., Williams, A., Gardner, G.E. (2018). Computed tomography has improved precision for prediction of intramuscular fat percent in the *M. longissimus thoracis et lumborum* in cattle compared to manual grading. *Meat Science*, 145, 425–430. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.025>
- Picouet, P.A., Teran, F., Gispert, M., Font i Furnols, M. (2010). Lean content prediction in pig carcass, loin and ham by computed tomography (CT) using a density model. *Meat Science*, 86(3), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.039>
- Prieto, N., Navajas, E., Richardson, R., Ross, D., Hyslop, J., Simm, G. et al. (2010). Predicting beef cuts composition, fatty acids and meat quality characteristics by spiral computed tomography. *Meat Science*, 86(3), 770–779. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.020>

48. Böcker, U., Ofstad, R., Bertram, H. C., Egelanddal, B., Kohler, A. (2006). Salt-induced changes in pork myofibrillar tissue investigated by FT-IR Microspectroscopy and Light Microscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6733–6740. <https://doi.org/10.1021/jf060178q>
49. Watson, N., Povey, M., Corona, E., Benedito, J., Parker, N. (2012). Acoustic microscopy in the food industry. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 42, Article 012006. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/42/1/012006>
50. Kasprzyk, A., Bogucka, J. (2020). Meat quality of Pulawska breed pigs and image of longissimus lumborum muscle microstructure compared to commercial DanBred and Naima hybrids. *Archives Animal Breeding*, 63, 293–301. <https://doi.org/10.5194/aab-63-293-2020>
51. Kim, G.-D., Jeong, J.-Y., Jung, E.-Y., Yang, H.-S., Lim, H.-T., Joo, S.-T. (2013). The influence of fiber size distribution of type IIB on carcass traits and meat quality in pigs. *Meat Science*, 94(2), 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.02.001>
52. LeMaster, M.N., Warner, R.D., Chauhan, S.S., D'Souza, D.N., Dunshea, F.R. (2023). Meta-Regression analysis of relationships between fibre type and meat quality in beef and pork – Focus on Pork. *Foods*, 12(11), Article 2215. <https://doi.org/10.3390/foods12112215>
53. Ertbjerg, P., Puolanne, E. (2017). Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. *Meat Science*, 132, 139–152. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.261>
54. Semenova, A.A., Pchelkina, V.A., Nasonova, V.V., Kuznetsova, T.G., Sinichkina, A.I., Loskutov, S.I. et al. (2022). Postslaughter state of muscle tissue of pigs depending on the duration of pre-slaughter fasting. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(3), 156–163. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-3-156-163>
55. Semenova, A.A., Pchelkina, V.A., Nasonova, V.V., Loskutov, S.I., Bogolyubova, N.V., Nekrasov, R.V. et al. (2023). Histological characteristics and functional properties of red and white parts of m. Semitendinosus of slaughter pigs. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(3), 191–202. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-3-191-202>
56. Kim, G.-D., Yang, H.-S., Jeong, J.-Y. (2018). Intramuscular variations of proteome and muscle fiber type distribution in semimembranosus and semitendinosus muscles associated with pork quality. *Food Chemistry*, 244, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.046>
57. Lefaucheur, L., Lebret, B. (2020). The rearing system modulates biochemical and histological differences in loin and ham muscles between Basque and Large White pigs. *Animal*, 14(9), 1976–1986. <https://doi.org/10.1017/S17517312000066X>
58. Fiedler, I., Nürnberg, K., Hardge, T., Nürnberg, G., Ender, K. (2003). Phenotypic variations of muscle fiber and intramuscular fat traits in Longissimus muscle of F₂ population Duroc×Berlin Miniature Pig and relationships to meat quality. *Meat Science*, 63(1), 131–139. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00075-x](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00075-x)
59. Schubert-Schoppmeyer, A., Fiedler, I., Nürnberg, G., Jonas, L., Ender, K., Maak, S. et al. (2008). Simulation of giant fibre development in biopsy samples from pig longissimus muscle. *Meat Science*, 80(4), 1297–1303. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.008>
60. Hwang, Y.-H., Kim, G.-D., Jeong, J.-Y., Hur, S.-J., Joo, S.-T. (2010). The relationship between muscle fiber characteristics and meat quality traits of highly marbled Hanwoo (Korean native cattle) steers. *Meat Science*, 86(2), 456–461. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.034>
61. Szulc, K., Wojtysiak, D., Migdał, Ł., Migdał, W. (2022). The muscle fibre characteristics and the meat quality of m. longissimus thoracis from polish native zlotnicka spotted pigs and the crossbreed fatteners from the crossing of Duroc and polish large white boars. *Applied Sciences*, 12(6), Article 3051. <https://doi.org/10.3390/app12063051>
62. LeMaster, M.N., Ha, M., Dunshea, F.R., Chauhan, S., D'Souza, D., Warner, R.D. (2024). Impact of cooking temperature on pork longissimus, and muscle fibre type, on quality traits and protein denaturation of four pork muscles. *Meat Science*, 209, Article 109395. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109395>
63. 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*, Article 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
64. Purslow, P.P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70(3), 435–447. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.028>
65. Purslow, P.P. (2020). The structure and role of intramuscular connective tissue in muscle function. *Frontiers in Physiology*, 11, Article 495. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00495>
66. Nishimura, T., Ojima, K., Liu, A., Hattori, A., Takahashi, K. (1996). Structural changes in the intramuscular connective tissue during development of bovine semitendinosus muscle. *Tissue and Cell*, 28(5), 527–536. [https://doi.org/10.1016/S0040-8166\(96\)80055-3](https://doi.org/10.1016/S0040-8166(96)80055-3)
67. Dubost, A., Micol, D., Meunier, B., Lethias, C., Listrat, A. (2013). Relationships between structural characteristics of bovine intramuscular connective tissue assessed by image analysis and collagen and proteoglycan content. *Meat Science*, 93(3), 378–386. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.020>
68. Dubost, A., Micol, D., Picard, B., Lethias, C., Andueza, D., Bauchart, D. et al. (2013). Structural and biochemical characteristics of bovine intramuscular connective tissue and beef quality. *Meat Science*, 95(3), 555–561. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.040>
69. Shkabrou, A.U., Chernukha, I.M., Raznichenka, V.D., Lazovikava, L.U. (2023). Optical-spectroscopic analysis of colorimetric changes in meat during its storage. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(2), 152–161. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-2-152-161>
70. Carballo, J., Cofrades, S., Solas, M.T., Jiménez-Colmenero, F. (2000). High pressure/thermal treatment of meat batters prepared from freeze-thawed pork. *Meat Science*, 54(4), 357–364. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00110-2](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00110-2)
71. Xia, X., Kong, B., Liu, J., Diao, X., Liu, Q. (2012). Influence of different thawing methods on physicochemical changes and protein oxidation of porcine longissimus muscle. *LWT – Food Science and Technology*, 46(1), 280–286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.018>
72. Oliveira, M.R., Gubert, G., Roman, S.S., Kempka, A.P. (2015). Meat quality of chicken breast subjected to different thawing methods. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(2), 165–171. <https://doi.org/10.1590/1516-635x1702165-172>
73. Qi, J., Li, C., Chen, Y., Gao, F., Xu, X., Zhou, G. (2012). Changes in meat quality of ovine longissimus dorsi muscle in response to repeated freeze and thaw. *Meat Science*, 92(4), 619–626. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.06.009>
74. Cheng, S., Wang, X., Li, R., Yang, H., Wang, H., Wang, H. et al. (2019). Influence of multiple freeze-thaw cycles on quality characteristics of beef semimembranosus muscle: With emphasis on water status and distribution by LF-NMR and MRI. *Meat Science*, 147, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.020>
75. Cao, R., Yan, L., Xiao, S., Hou, B., Zhou, X., Wang, W. et al. (2023). Effects of different low-temperature storage methods on the quality and processing characteristics of fresh beef. *Foods*, 12(4), Article 782. <https://doi.org/10.3390/foods12040782>
76. Gajewska-Szczerbal, H., Krzywdzińska-Bartkowiak, M., Korabik, T. (2007). Analysis of changes of the histological structure of ham muscles as affected by curing and thermal treatment. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(2), 227–232.
77. Larrea, V., Pérez-Munuera, I., Hernando, I., Quiles, A., Llorca, E., Lluch, M.A. (2007). Microstructural changes in Teruel dry-cured ham during processing. *Meat Science*, 76(3), 574–582. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.013>
78. Astruc, T., Labas, R., Vendevure, J.L., Martin, J.L., Taylor, R.G. (2008). Beef sausage structure affected by sodium chloride and potassium lactate. *Meat Science*, 80(4), 1092–1099. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.007>
79. Kajak-Siemaszko, K., Aubry, L., Peyrin, F., Bax, M.-L., Gatellier, P., Astruc, T. et al. (2011). Characterization of protein aggregates following a heating and freezing process. *Food Research International*, 44(10), 3160–3166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.043>
80. Gerelt, B., Ikeuchi, Y., Suzuki, A. (2000). Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat Science*, 56(3), 311–318. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00060-7)
81. Barekat, S., Soltanizadeh, N. (2017). Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.009>
82. Latorre, R., Sadeghinezhad, J., Hajimohammadi B., Izadi F., Sheibani M. T. (2015). Application of morphological method for detection of unauthorized tissues in processed meat products. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 2, 71–74.
83. Asadi, M.R., Taghavi, M., Kalantari-Hesari, A., Ghorbanzadeh, B. (2020). The role of histological test in reducing the use of unauthorized tissues in meat products between years of 2014 and 2017. *Veterinary Researches and Biological Products*, 33(3), 31–40. <https://doi.org/10.22092/vj.2019.116357.1387> (In Persian)
84. Avinee, G., Charfi, S., Stocker, N., Gyde, E., Hebert, A., Mabile, M. P., Sevestre, H., Chatelain, D. (2010). Pathological analysis, an original way to study food-stuffs. *Annales de Pathologie*, 30(5), 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.anpat.2010.07.016> (In French)
85. Moghtaderi, A., Raji, A., Khanzadi, S., Nabipour, A. (2019). Application of histological method for detection of unauthorized tissues in meat sausage. *Veterinary Research Forum*, 10(4), 357–360. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.89154.2160>
86. Cetin, O., Bingol, E. B., Civan, E., Turgay, S. I., Ergun, O. (2016). Identification of animal species and foreign tissues in ready-to-sell fresh processed meat products. *Acta Alimentaria*, 45(2), 198–205. <http://doi.org/10.1556/AAlim.2015.0008>
87. Prayson, B.E., McMahon, J.T., Prayson, R.A. (2008). Fast food hamburgers: What are we really eating? *Annals of Diagnostic Pathology*, 12(6), 406–409. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2008.06.002>
88. Prayson, B.E., McMahon, J.T., Prayson, R.A. (2008). Applying morphologic techniques to evaluate hotdogs: What is in the hotdogs we eat? *Annals of diagnostic pathology*, 12(2), 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2007.04.012>
89. Malakauskienė, S., Alionienė, I., Džiugienė, D., Babrauskienė, V., Riedel, C., Alter, T. et al. (2016). Histological analysis for quality evaluation of cured meat sausages. *Veterinarija ir Zootechnika*, 74(96), 23–26.
90. Hafeez HH, A., RS, Z., Mageed DS, A. E. (2016). Applying light, histochemical and scanning histological methods for the detection of unauthorized animal and herbal content in street meat sandwich: What is in the sandwich we eat? *Journal of Food Processing and Technology*, 7(12), Article 643. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000643>
91. Abd-Elhafeez, H.H., El-Sayed, A.M., Ahmed, A.M., Soliman, S.A., Zaki, R.S., Abd El-Mageed, D.S. (2022). Detection of food fraud of meat products from the different brands by application of histological methods. *Microscopy Research and Technique*, 85(4), 1538–1556. <https://doi.org/10.1002/jemt.24016>
92. Gajdov, V., Radovanović, A., Lužajčić-Božinovski, T., Marković, D., Stajković, S., Milošević, I. (2021). Histological and histochemical analysis of dry fermented sausage of kulen composition. *Meat Technology*, 62(2), 104–112. <https://doi.org/10.18485/meattech.2021.62.2.3>
93. Gürbüz, S., Ekebaş, G., Çakır Bayram, I., Kaplan, Y.Z. (2020). Quality Determination of Traditional Fermented Sausages by Histological and Immunohistochemical Analyses. *Akademik Gıda*, 18(3), 288–295. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.818134>
94. Moghtaderi, A., Raji, A., Khanzadi S., Nabipour A. (2019). Application of histological method for detection of unauthorized tissues in meat sausage. *Veterinary Research Forum*, 10(4), 357–360. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.89154.2160>
95. Rokni, N., Rezaian, M., Dayani Dardashti, A. (1997). Histological histometrical study of different heated sausages. *Journal of Veterinary Medicine, Tehran University*, 52(1), 95–103.
96. Reza, S., Shalazar-Jalali, A., Karimi, A., Shirvani, Z. (2018). Qualitative and quantitative analysis of unauthorized tissues in heated meat products (sausage) with histological method. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 15(78), 255–262. (In Persian)
97. Darban Maghami, N., Nabipour, A., Mohsenzadeh, M., Torabi, M. (2022). Histological and stereological approaches for detection of tissues and fraud in some meat products. *Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal*, 13(1), 47–53. <https://doi.org/10.30466/vrf.2020.115238.2742>

98. Gundersen, H. J. G., Bendtsen, T. F., Korbo, L., Marcussen, N., Møller, A., Nielsen, K. et al. (1988). Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, 96(1–6), 379–394. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1988.tb05320.x>
99. Kościelak, A., Koziara, Z., Maria, A.P., Platek, R., Bartoszek, A. (2023). Microscopic imaging to visualize the distribution of dietary nucleic acids in food products of various origins. *Foods*, 12(21), Article 3942. <https://doi.org/10.3390/foods12213942>
100. Sohrabi, H., Cannizzo, F.T., Pregel, P., Scaglione, F.E., Beltramo, C., Acutis, P. et al. (2020). Tissue and species identification in minced meat and meat products from Italian commercial markets by DNA microarray and histological approach. *Veterinaria Italiana*, 56, 77–85. <https://doi.org/10.12834/VetIt.1669.8871.3>
101. Malak, N., Ahmed, Y., Zaki, H. (2020). Using histological and chemical methods for detection of unauthorized tissues addition in emulsion type meat product. *International Journal of Veterinary Science*, 9(3), 438–442. <http://doi.org/10.37422/IJVS/033>
102. Botka-Petrak, K., Hraste, A., Lucić, H., Zeljko, G., Gomerčić, M.D., Jakšić S. et al. (2011). Histological and chemical characteristics of mechanically deboned meat of broiler chickens. *Veterinarski Arhiv*, 81(2), 273–283.
103. Tremlova, B., Starha, P. (2003). Histometric evaluation of meat products — determination of area and comparison of results obtained by histology and chemistry. *Czech Journal of Food Sciences*, 21(3), 101–106. <https://doi.org/10.17221/3484-CJFS>
104. Lakehal, S., Bennoune, O., Ammar, A. (2019). Application of histological and physico-chemical analyses for evaluation of meat product — Cachir. *Meat Technology*, 60(1), 24–29. <https://doi.org/10.18485/meattech.2019.60.1.4>
105. Koolmees, P.A., Bijker, P.G.H. (1985). Histometric and chemical methods for determining collagen in meats. *Veterinary Quarterly*, 7(2), 84–90. <https://doi.org/10.1080/01652176.1985.9693962>
106. Colgrave, M.L., Allingham, P.G., Jones, A. (2008). Hydroxyproline quantification for the estimation of collagen in tissue using multiple reaction monitoring mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1212(1–2), 150–153. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.011>
107. Sadeghinezhad, J., Hajimohammadi, B., Izadi, F., Yarmahmoudi, F., Latorre, R. (2015). Evaluation of the morphologic method for the detection of animal and herbal content in minced meat. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(6), 564–569. <https://doi.org/10.17221/167/2015-CJFS>
108. Sadeghinezhad, J., Morovvati, H., Yekta, Z.K., Fattahi, K., Hajimohammadi, B., Basti, A. A. et al. (2019). Evaluation of the histological method in quantitative detection of unauthorized tissues (chicken skin and bone) in reconstructed Kabab loghme and kielbasa. *The Journal of Toloeebehdasht*, 18(2), 57–69. <https://doi.org/10.18502/tbj.v18i2.1264> (In Persian)
109. Hajimohammadi, B., Fattahi, K., Yekta, Z., Sadeghinezhad, J., Morovvati, H., Akhondzadeh Basti, A.A. (2019). Experimental study of the histological method for quantitative detection of meat in kabab and cooked sausage model. *Journal of Veterinary Research*, 75(3), 366–370. <https://doi.org/10.22059/jvr.2020.239180.2681> (In Persian)
110. Пчелкина, В.А. (2016). Возможности применения системы анализа изображений при исследовании мясного сырья и продуктов. *Техника и технология пищевых производств*, 43(4), 70–75. [Pchelkina, V.A. (2016). Application of image analysis systems in the study on raw materials and meat products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 43(4), 70–75. (In Russian)]
111. Ghisleni, G., Stella, S., Radaelli, E., Mattiello, S., Scanziani, E. (2010). Qualitative evaluation of tortellini meat filling by histology and image analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02130.x>
112. Boutten, B. (1999). Quantification of soy proteins by association of immunohistochemistry and video image analysis. *Food and Agricultural Immunology*, 11(1), 51–59. <https://doi.org/10.1080/095401099999915>
113. Randulová, Z., Tremlová, B., Řezáčová-Lukášková, Z., Pospiech, M., Straka, I. (2011). Determination of soya protein in model meat products using image analysis. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(4), 318–321. <https://doi.org/10.17221/57/2009-CJFS>
114. Lisitsyn, A.B., Chernukha, I.M., Xiao, X., Nikitina, M.A., Pchelkina, V.A. (2023). Application of machine learning technology to management methods. *Meat Technology*, 64(1), 61–70. <https://doi.org/10.18485/meattech.2023.64.1.6>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Пчелкина Виктория Александровна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 тел.: +7-495-676-95-11 (242), E-mail: v.pchelkina@fnccps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8923-8661	Viktoriya A. Pchelkina, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Experimental Clinic-Laboratory of Biologically Active Substances of Animal Origin, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (242) E-mail: v.pchelkina@fnccps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8923-8661
Критерии авторства	Contribution
Автор имеет единоличное отношение к написанию рукописи и несет ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.	The author declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-263-267>

Received 06.04.2024

Accepted in revised 06.06.2024

Accepted for publication 10.06.2024

© Idris Y. M.A., Mariod A. A., Mohamedin K. F., Alshafi A. S., 2024

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

Original scientific article

Open access

FOOD SAFETY KNOWLEDGE AND PRACTICES OF FOOD HANDLERS AT A PUBLIC SUDANESE UNIVERSITY

Yousif M. A. Idris¹, Abdalbasit A. Mariod^{2*}, Khansaa F. Mohamedin¹, Amna S. Alshafi¹¹Department of Food Science and Technology, College of Agricultural Studies, Sudan University of Science and Technology, Shambat, Khartoum North, Sudan²Department of Biological Sciences, College of Science, University of Jeddah, Jeddah, Saudi Arabia

KEY WORDS:

food safety, knowledge, practices, food handlers

ABSTRACT

The study was conducted to evaluate food safety knowledge and practices of food handlers in twenty-four food premises at nine campuses of Sudan University of Science and Technology (SUST), Khartoum State, Sudan. A structured questionnaire about demographic characteristics, food safety knowledge and practices of one hundred and five respondents was used. Data showed that 95.2% of respondents were Sudanese; 99% were males, the majority were singles, 43.8% were university graduates, 64.8% were in the age group 20–30 years, 100% had good knowledge regarding the importance of maintaining a clean environment in food premises, preparing food in a safe way, danger of food poisoning and 95.4% agreed that it is their responsibility to prevent food poisoning. Food handlers had in general satisfactory practices of personal hygiene; however, 64.8 to 69.5% had some poor practices, particularly not wearing clean aprons, masks, gloves and hair nets. Among the respondents 68.6% received basic training in food safety. The study suggests that mandatory food safety education and training should be organized to strengthen food handlers' knowledge, attitudes and practices in food safety areas which are either weak or lacking. The HACCP system should be implemented in food premises at the university campuses.

Поступила 06.04.2024

Поступила после рецензирования 06.06.2024

Принята в печать 10.06.2024

© Идрис Ю. М. А., Мариод А. А., Мохамедин К. Ф., Алшафи А. С., 2024

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

Научная статья

Open access

ЗНАНИЯ И ПРАКТИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ПЕРСОНАЛА В ГОСУДАРСТВЕННОМ СУДАНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

Идрис Ю. М. А.¹, Мариод А. А.², Мохамедин К. Ф.¹, Алшафи А. С.¹¹Факультет пищевой науки и технологии, Колледж сельскохозяйственных исследований, Суданский университет науки и технологии, Шамбат, Северный Хартум, Судан²Факультет биологических наук, Научный колледж Университета Джидды, Джидда, Саудовская Аравия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

безопасность пищевой продукции, знания, практики, производственный персонал

Проведено исследование для оценки знаний и практик производственного персонала в отношении безопасности пищевой продукции в 24 помещениях для обработки пищевых продуктов в 9 кампусах Суданского университета науки и технологии (SUST), в штате Хартум, Судан. Был использован структурированный вопросник о демографических характеристиках, знаниях и практиках в отношении безопасности пищевой продукции 105 респондентов. Данные показали, что 95,2% респондентов были суданцами; 99% были мужского пола, большинство были одиночками, 43,8% были выпускниками университетов, 64,8% были в возрастной группе 20–30 лет, 100% обладали хорошими знаниями относительно важности поддержания чистой окружающей среды в помещениях для обработки пищевых продуктов, безопасного приготовления пищи, опасности пищевых отравлений, и 95,4% согласились с утверждением, что предотвращение пищевых отравлений является их ответственностью. Производственный персонал в целом имел удовлетворительные практики личной гигиены; однако, у 64,8–69,5% отмечены некоторые неудовлетворительные практики, в частности, отсутствие чистых фартуков, масок, перчаток и сеток для волос. Среди респондентов, 68,6% прошли базовое обучение по безопасности пищевой продукции. Данное исследование говорит о том, что необходимо организовать обязательное образование и обучение в отношении безопасности пищевой продукции для улучшения знаний, отношений и практик в области безопасности пищевой продукции, которые являются слабыми или отсутствуют. В помещениях для обработки пищевых продуктов должна быть внедрена система HACCP.

1. Introduction

Food safety is a public health issue of increasing importance. The growing problem of diseases caused by eating unhealthy food is very dangerous, not only for the general public but also for school and university students, which is more alarming. Several authorities worldwide have made great efforts in the field of food safety and related health issues. However, there are still many issues of food safety to be addressed, particularly in developing countries. Food safety is defined as “assurance that food will not cause harm to the consumer when it is prepared and/or eaten according to its intended use” [1]. According to the WHO definition, foodborne diseases are “diseases, usually either infectious or toxic in nature, caused by agents that enter the body through the ingestion of food” [2]. Everyone

is at risk of contracting food borne diseases, but a level of risk may vary and people with a higher risk of foodborne diseases are those who have no or very low knowledge of food safety.

Studies have shown that knowledge of food safety is socially, demographically, and academically related and increases with age [3]. Monitoring food safety knowledge and practices among males and females showed that women had higher level of correct practices than males, and in terms of knowledge, males and females were at the same level [4]. Evans et al. [5] evaluated awareness and attitudes of student dietitians from three international universities (Columbus, OH, USA, Cardiff, Wales, UK and Beirut, Lebanon) towards food safety and found that students lacked awareness of key food safety concepts. Stratev et al. showed that undergraduate stu-

FOR CITATION: Idris, Y. M. A., Mariod, A. A., Mohamedin, K. F., Alshafi, A. S. (2024). Food safety knowledge and practices of food handlers at a public Sudanese university. *Food Systems*, 7(2), 263–267. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-263-267>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Идрис, Ю. М. А., Мариод, А. А., Мохамедин, К. Ф., Алшафи, А. С. (2024). Знания и практики безопасности пищевой продукции производственного персонала в Государственном Суданском Университете. *Пищевые системы*, 7(2), 263–267. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-263-267>

dents had incomplete knowledge and inappropriate practices regarding healthy food handling, which suggests that they were at greater risk of food poisoning and contracting foodborne diseases [6]. Al-Shabib et al. [7] studied food safety knowledge, attitudes and practices (KAP) of male food handlers in restaurants of King Saud University, Saudi Arabia, and concluded that their level of knowledge, attitude and practice was satisfactory with the exception of some aspects related to hygiene and time and temperature control, and recommended organization of continuous education and training to strengthen food handlers' knowledge. Results of a study of food safety knowledge of foodservice workers at a university campus in Trinidad and Tobago [8] showed that regardless of the education level, the employees' performance in the survey was less than satisfactory and is a cause for concern. Although, two thirds of foodservice employees received basic training in food safety, there was no significant difference of the mean knowledge scores between those who received basic food safety training and those who did not. Lee et al. [9] assessed KAP of food handlers in a university located in Kuala Lumpur and concluded that the food handlers had adequate food safety knowledge, but perceived knowledge failed to be translated into practices at work. Aklilu et al. [10] revealed a high prevalence of intestinal parasites among food handlers of the student's cafeteria in Addis Ababa University suggesting that they could contaminate food and be a source of infection to consumers via the food chain. A study of food handlers in a Malaysian public university found that they lacked knowledge about time and temperature control and cross-contamination [11]. Osaili et al. [12] showed that foodservice staff at the universities in Jordan had very poor knowledge on the fundamental information of the HACCP system and recommended consistent training of foodservice staff and effective implementation of the HACCP system to reduce the risk of food poisoning in foodservice establishments at the universities in Jordan.

Several studies were conducted in Sudan on food safety in street foods and food handlers [13,14], hospital food handlers [15,16], and Abattoir workers [17]. However, to our knowledge, there is no published research on food safety knowledge, attitudes and practices of food handlers in Sudanese higher education institutions. Foodborne illnesses, resulting from contaminated foods and drinks are known to adversely affect students' health status, may indirectly affect their academic performance, add economic burden on their families and put pressure on health resources of the university. Therefore, there is a need to evaluate food safety knowledge and practices of food handlers at a higher education institution in Sudan with the aim to assess the situation and encourage efforts to cause behavioral change among food handlers as it is a major defense line against foodborne diseases.

Sudan University of Science and Technology (SUST) is one of the largest Sudanese public universities [18]. It has approximately 70,000 students, 2,815 staff members (academic and non-academic), 10 campuses and 25 colleges.

The majority of students have an average of two meals per day in SUST food premises which provide a variety of foods and drinks prepared and served in these outlets.

The aim of the study is to assess the level of food safety knowledge and practices of food handlers in cafeterias and buffets of Sudan University of Science and Technology (SUST).

2. Material and methods

2.1. Study area and study population

The study was conducted at Sudan University of Science and Technology (SUST) in Khartoum State. The University has ten campuses, six of which are in Khartoum and four in Khartoum North. Food handlers in nine campuses (except Soba campus) were included in the study.

A convenience sample of one hundred and five food handlers in twenty four food premises (cafeterias and buffets) distributed in nine campuses of Sudan University of Science and Technology (SUST) was used.

2.2. Questionnaire

A structured questionnaire of three parts containing questions about demographic characteristics (10 questions), food safety knowledge (5 questions) and food safety practices (18 questions) of respondents was designed and written in English, then translated into Arabic language (lingua franca of the respondents). Data was collected during October and November 2021 with 100% response rate. The questionnaire was filled out with the personal consent of the respondents and that of the food premises managers. Each respondent was given 30 minutes to fill out the questionnaire and each of them filled out the questionnaire by himself/herself. Help was provided when further explanation of a question was needed. The filled questionnaire was then translated back into English for publication purposes.

2.3. Data analysis

The data obtained were analyzed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software version "24.0" (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Frequencies as well as the percentages of responses were computed.

3. Results and Discussion

3.1. Demographic characteristics of food handlers

The results of the analysis of the demographic characteristics are shown in Table 1. Approximately 99.0% of food handlers were males while 1.0% were females. Mwove [19] found that 63.2% of street food vendors in Kiambu County, Kenya, were males, 36.8% were females. Afolaranmi et al. [20] reported that 68% of food vendors in primary schools in Jos, North Central Nigeria were females. These results of gender roles may be a reflection of socio-economic and cultural aspects of the specific society. Among SUST food handlers, 95.2% were Sudanese nationals. As regards the age of the respondents, 64.8% were in the age group 20–30 years, 20.0% were at the age of 30–40 years, and 15.2% were more than 40 years old. Age results of food handlers in this study are in agreement with those reported in Malaysia, Slovenia, and Nigeria by Zain et al. [21], Jevnsnik et al. [22], Chukuezi [23], and Afolaranmi et al. [20].

Table 1. Demographic characteristics of food handlers in the food premises of Sudan University of Science and Technology

Таблица 1. Демографические характеристики работников в пищеблоке Суданского университета науки и технологии

	Variable	Frequency (n=105)	Percent
Nationality	Sudanese	100	95.2
	Non Sudanese	5	4.8
Gender	Male	104	99.0
	Female	1	1.0
Age in years	Less than 20	13	12.4
	20–30	68	64.8
	30–40	21	20.0
	More than 40	3	2.9
Education level	Informal	7	6.7
	Basic School	14	13.3
	Secondary School	38	36.2
	University	46	43.8
Monthly income (Sudanese pounds)	Less than 15,000	25	23.8
	15,000–25,000	57	54.3
	25,000–35,000	13	12.4
	35,000–40,000	4	3.8
	More than 45,000	6	5.7
Marital status	Married	25	23.8
	Single	78	74.3
	Divorced	2	1.9
Practical experience (years)	Less than two years	24	22.9
	2–4	46	43.8
	5–7	11	10.5
	More than 7	24	22.9
Job duties	Cleaning and washing	12	11.4
	Cooking	35	33.3
	Raw material preparation	13	12.4
	Waiters	23	21.9
Received basic training in food safety	Other jobs	22	21.0
	Yes	72	68.6
Vaccinated against typhoid fever	No	33	31.4
	Yes	48	45.7
	No	57	54.3

The results of the analysis of the level of education showed that 43.8% of the respondents were university graduates, 36.8% received secondary school education, and 13.3% received basic school education, while 6.7% had informal education. Afolaranmi et al. [20] found that the education level of 55.2% of food handlers was secondary school. Education levels of the respondents in this study are different from those reported in other studies, where most respondents attended secondary schools [24,25].

The majority of the respondents (54.3%) were in the lowest monthly income range of 15,000–25,000 SDG. The lower income level could discourage the food handlers from paying attention to food safety knowledge and practices details and may be reflected in poor attitudes. Results showed that 22.9% of food handlers had work experience of less than two years, 43.8% of food handlers had 2–4 years of practical experience in food business, 22.9% had more than 7 years' experience in the field and 10.5% had 5–7 years of experience. Jevsnik et al. [22] reported an average of 17.3 years of experience for food handlers in Slovenia, while in a study in Thailand, Cuprasittrut et al. [26] reported an average of about six years work experience. The short duration of work experience in this study may be an indication of instability of handlers and could be reflected in some poor practices of the food handlers. Results of marital status showed that 74.3% were unmarried, 23.8% were married and 1.9% were divorced. These results are in disagreement with Zain et al. [21], Abdalla et al. [27] and Afolaranmi et al. [20], who reported that the majority of the food handlers were married. It is probable that the younger age of the respondents and the low income in this study are the main factors in this marital status results.

The percentage of those who received basic training in food safety was 68.6%, while 31.4% received no training. In a study in Ethiopia, Kibret et al. [28] found that 78.2% of the respondents had not attended any training in food safety. Results showed that the majority of food handlers (54.3%) were not vaccinated against typhoid fever. It is clear that percentage of vaccination against typhoid fever is low, which poses a risk of food contamination, infection, or food poisoning, which is an indication of a serious violation of food safety.

3.2. Food safety knowledge of food handlers

The results of the analysis of food safety knowledge are shown in Table 2. All (100%) food handlers showed good knowledge of food safety in terms of importance of maintaining a clean environment in food premises, 100% stated that food safety is more important than its taste, and knowledge of food safety is important to ensure safety of food. Likewise, 100% of respondents knew that food which is not prepared or presented in a safe manner is dangerous to health. It was also found that 96.2% of respondents agreed that food handlers are responsible for food poisoning incidents, 1.9% believed that the university is responsible for food poisoning cases and 1.9% answered that the government is responsible for food poisoning cases. These findings indicate satisfactory general knowledge of food safety among food handlers. Al-Shabib et al. [7] found that the majority of male food handlers in King Saud University, Saudi Arabia, had good knowledge about personal hygiene. Similar results were obtained by Sani and Siow [29] who revealed good knowledge about personal hygiene among food handlers in a Malaysian public university.

The level of knowledge of respondents in this study might be related to the high percentage of university graduates among them and the basic food safety training they have received. This result is in agreement with Gillespie et al. [30] who stated that education and training are considered effective means to increase food safety knowledge.

Table 2. Food safety knowledge of food handlers in food premises of Sudan University of Science and Technology

Таблица 2. Знания в области безопасности пищевых продуктов, полученные специалистами по обработке пищевых продуктов в пищеблоке Суданского университета науки и технологии

Statement	Yes (%)	No (%)
Maintaining a clean environment is a good way to maintain food safety	100	0
Food safety is more important than its taste	100	0
Knowledge of food safety is important to ensure that food is prepared in a safe way	100	0
Food poisoning is dangerous	100	0
Prevention of food poisoning is the responsibility of food handlers	96.2	3.8

3.3. Food safety practices of food handlers

The results of the analysis of food safety practices are shown in Table 3. It was found that 100% of respondents wash washed their hands before preparing food; 94.3% washed their hands and 5.7% did not wash their hands after preparing food; 91.4% washed their hands and 8.6% did not wash their hands before touching ready-to-eat food; 75.2% washed their hands after cleaning utensils and surfaces; 95.2% washed their hands after dealing with waste and food leftovers; 76.2% washed their hands and 23.8% did not wash their hands after sneezing. With regard to hand-washing practices, it was found that all handlers appear to maintain a high level of food safety practice. Al-Shabib et al. [7] found that 95.4% of food handlers in the restaurants of King Saud University washed hands after coughing and sneezing. In a study by Manning and Snider [31] of food handlers in public eating places, only 2% of respondents washed hands thoroughly. According to Soares et al. [32], food handlers tend to overstate their reported practices, indicating what is probable rather than what they actually do within food premises environment. Poor personal hygiene practices can make food handlers become sources of pathogenic microorganisms and cross-contamination [33].

Table 3. Food safety practices of food handlers in the food premises of Sudan University of Science and Technology

Таблица 3. Методы обеспечения безопасности пищевых продуктов, применяемые специалистами по обработке пищевых продуктов в пищеблоке Суданского университета науки и технологии

Statement	Yes (%)	No (%)
I wash my hands before preparing food	100	0.0
I wash my hands after preparing food	94.3	5.7
I wash my hands before touching food to be served	91.4	8.6
I wash my hands after cleaning surfaces	75.2	24.8
I wash my hands before touching ready-to-eat food	100	0.0
I wash my hands after receiving money	73.3	26.7
I wash my hands after handling waste	95.2	4.8
I wash my hands after sneezing and nasal hygiene	76.2	23.8
I clip my nails short	75.2	24.8
I wear hair net, cap or helmet while working	30.5	69.5
I wear gloves while working	49.5	50.5
I wear clean apron	34.3	65.7
I wear clean clothes	98.1	1.9
I use clean towel to dry my hands	69.5	30.5
I don't cough while preparing food	81.0	19.0
I use a mask while preparing food	35.2	64.8
I take care not to handle food while sick	98.1	1.9
There are enough bins for waste disposal, and I always use them	100	0.0

The majority of food handlers in this study (75.2%) clipped their nails short, which is in agreement with Webb and Morancie [8] who found that 93% of foodservice workers at the campus of the University of the West Indies were fully aware that it was inappropriate to handle food with long finger nails. It was found that 69.5% of SUST food handlers did not wear a hair net, cap or helmet during work time, while 30.5% did so. Moreover, 50.5% of respondents did not wear gloves while handling food. Clean towels were used by 69.5% of respondents to dry their hands. While serving and preparing food, 34.3% wore clean apron, 98.1% wore clean work clothes, while 35.2%, used a mask. Al-Shabib et al. [7] reported that 96.6% of food handlers in restaurants of King Saud University wore uniforms and caps, and maintained safe food practices. Almost all respondents (98.1%) in this study took care not to prepare and serve food while sick, and 100% of food handlers used waste disposal bins appropriately.

The most obvious food safety violations of respondents in this study were not wearing masks while preparing and serving food, not wearing clean apron, not wearing gloves when required, and not wearing hair net, cap or helmet. Almost all food handlers in the food premises of the SUST were males, and it has been reported that food handling practices of males are poorer compared with that of females regardless of the level of education and knowledge [4].

Food handlers in cafeterias and buffets at SUST campuses lacked sufficient training in food safety knowledge and practices, and there were no mandatory food safety requirements apart from a health certificate which is a mere indicator of the health status of a food handler at a certain point of time. There was no regular institutional inspection or follow up of the health status of food handlers or the food safety situation in these facilities. Moreover, there was no food safety system (HACCP, ISO 9001, TQM) applied in these food premises to ensure compliance and minimize food poisoning incidents and diseases transmitted by food. These facts may suggest unsatisfactory food safety situation, a possibility of health risk and the need for necessary corrective actions.

4. Conclusion

In conclusion, the level of food safety knowledge among food handlers is satisfactory as well as their food safety practices; however, there are some obvious food safety practice violations by the respondents. The level of food safety training of food handlers at the university food premises is low and it is essential that they should undergo a regular mandatory food safety and hygiene training. No food safety systems are applied in cafeterias and buffets of SUST. A supervisory authority of food safety at Sudan University of Science and Technology is necessary, and its existence should be ensured to enforce the HACCP system, monitor food safety situation and minimize a risk of food poisoning. Microbial analysis of foods served at the university cafeterias and buffets should be carried out to evaluate their safety level.

REFERENCES/БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Codex Alimentarius. (2009). Food Hygiene (Basic texts) — Fourth edition. Retrieved from <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/7172327e-fd19-41ab-8e94-faf3e72f2ad9/content> Accessed February 15, 2024.
2. World Health Organization (WHO). (2007). Food safety and food borne illness. Fact sheets №237. Retrieved from <https://web.archive.org/web/20130127074439/http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/> Accessed February 15, 2024.
3. Osaili, T. M., Obeidat, B. A., Abu Jamous, O. D., Hiba, A. B. (2010). Food safety knowledge and practices among college female students in North of Jordan. *Food Control*, 22(2), 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.07.009>
4. Sanlier, N. (2010). Food safety knowledge and the safe food handling behaviours of female and male consumers. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 26(3), 653–658.
5. Evans, E. W., Redmond, E. C., Alwan, N., Ilic, S. (2021). Awareness and attitudes of student dietitians in Lebanon, UK and USA towards food safety. *Foods*, 10(8), Article 1875. <https://doi.org/10.3390/foods10081875>
6. Stratev, D., Odeyemi, O. A., Pavlov, A., Kyuchukova, R., Fatehi, F., Bamidele, F.A. (2017). Food safety knowledge and hygiene practices among veterinary medicine students at Trakia University, Bulgaria. *Journal of Infection and Public Health*, 10(6), 778–782. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.12.001>
7. Al-Shabib, N. A., Mosilhey, S. H., Husain, F. M. (2016). Cross-sectional study on food safety knowledge, attitude and practices of male food handlers employed in restaurants of King Saud University, Saudi Arabia. *Food Control*, 59, 212–217. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.002>
8. Webb, M., Morancie, A. (2015). Food safety knowledge of foodservice workers at a university campus by education level, experience, and food safety training. *Food Control*, 50, 259–264. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.002>
9. Lee, H. K., Abdul Halim, H., Thong, K. L., Chai, L. C. (2017). Assessment of food safety knowledge, attitude, self-reported practices, and microbiological hand hygiene of food handlers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1), 55. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010055>
10. Aklilu, A., Kahase, D., Dessalegn, M., Tarekn, N., Gebremichael, S., Zenebe, S. et al. (2015). Prevalence of intestinal parasites, salmonella and shigella among apparently health food handlers of Addis Ababa University student's cafeteria, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Research Notes*, 8(1), Article 17. <https://doi.org/10.1186/s13104-014-0967-x>
11. Bakar, N. A. N. A., Abdullah, N. (2020). Knowledge, attitude, and practice of food safety among on-site premises in public universities. *Journal of Tourism, Hospitality and Culinary Arts*, 12(3), 1–14.
12. Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Krasneh, H. D. (2018). Food safety knowledge among foodservice staff at the universities in Jordan. *Food Control*, 89, 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.011>
13. Abdalla, M. A., Suliman, S. E., Bakhiet, A. O. (2009). Food safety knowledge and practices of street food-vendors in Atbara City (Naher Elneel State Sudan). *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 6967–6971.
14. Babiker, M. A., Ali, M. S., Ahmed, E. S. (2009). Frequency of intestinal parasites among food-handlers in Khartoum, Sudan. *EMHJ — Eastern Mediterranean Health Journal*, 15(5), 1098–1104.
15. Ahmed, O. B., Mohamed, S. S., Dabool, A. S., Elawad, M. A. (2020). Food hygiene knowledge, attitude and practices among hospital food handlers in Elmanagil City, Sudan. *African Journal of Microbiology Research*, 14(4), 106–111. <http://doi.org/10.5897/AJMR2020.9323>
16. Salam, H. H. B., Eldoom, E. A., Ali, F. F., Mohammed, A. M. (2021). The effect of training of food handlers in hospitals kitchen in Khartoum State, Sudan. *Magna Scientia Advanced Biology and Pharmacy*, 03(01), 001–012. <https://doi.org/10.30574/msabp.2021.3.1.0028>
17. Latif, M. A., Suliman, S. E., Angara, T. E., Abd Allah, M. A. (2014). Evaluation of food safety knowledge, attitudes and practices among abattoir workers' in Khartoum State. *Sudan Journal of Science and Technology*, 15(1), 19–27.
18. Mayada, B. M., Ahmed, N. E., Mohamed, M. E. (2020). Higher education and scientific research in Sudan: Current status and future direction. *African Journal of Rural Development*, 5(1), 115–146.
19. Mwove, J., Imathiu, S., Orina, I., Karanja, P. (2020). Food safety knowledge and practices of street food vendors in selected locations within Kiambu County, Kenya. *African Journal of Food Science*, 14(6), 174–185. <https://doi.org/10.5897/AJFS2020.1929>
20. Afolaranmi, T. O., Hassan, Z. I., Bello, D. A., Misari, Z. (2015). Knowledge and practice of food safety and hygiene among food vendors in primary schools in Jos, Plateau State, North Central Nigeria. *E3 Journal of Medical Research*, 4(2), 016–022.
21. Zain, M. M., Naing, N. N. (2002). Sociodemographic characteristics of food handlers and their knowledge, attitude and practice towards food sanitation: A preliminary report. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 33, 410–417.
22. Jevšnik, M., Hlebec, V., Raspor, P. (2008). Food safety knowledge and practices among food handlers in Slovenia. *Food Control*, 19(12), 1107–1118. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.11.010>
23. Chukuezi, O. C. (2010). Food safe and hygiene practices of street food vendors in Owerri, Nigeria. *Studies in Sociology of Science*, 1(1), 50–57.
24. Sibanyoni, J. J., Tshabalala, P. A., Tabit, F. T. (2016). Food safety knowledge and awareness of food handlers in school feeding programmes in Mpumalanga, South Africa. *Food Control*, 73(B), 1397–406. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.001>
25. da Vitória, A. G., de Souza Couto Oliveira, J., de Almeida Pereira, L. C., de Faria, C. P., de São José, J. F. B. (2021). Food safety knowledge, attitudes and practices of food handlers: A cross-sectional study in school kitchens in Espírito Santo, Brazil. *BMC Public Health*, 21(1), Article 349. <https://doi.org/10.1186/s12889-021-10282-1>
26. Cuprasittrut, T., Srisorachatr, S., Malai, D. (2011). Food safety knowledge, attitude and practice of food handlers and microbiological and chemical food quality assessment of the food for making merit for Monks in Ratchathewi District, Bangkok. *Asia Journal of Public Health*, 2, 27–34.
27. Abdalla, M. A., Suliman, S. E., Alian, H. A., Bakhiet, A. (2008). Food safety knowledge and practices of street food vendors in Khartoum City. *Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry*, 47, 126–131.
28. Kibret, M., Abere, B. (2012). The sanitary conditions of food service establishments and food safety and knowledge and practices of food handlers in Bahir Dar town. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 22(1), 27–35.
29. Sani, N. A., Siow, O. N. (2014). Knowledge, attitudes and practices of food handlers on food safety in food service operations at the University Kebangsaan Malaysia. *Food Control*, 37, 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.036>
30. Gillespie, I., Little, C., Mitchell, R. (2000). Microbiological examination of cold ready-to-eat sliced meats from catering establishments in the United Kingdom. *Journal of Applied Microbiology*, 88(3), 467–474. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00981.x>
31. Manning, C. K., Snider, O. S. (1993). Temporary public eating places: Food safety knowledge, attitudes and practices. *Journal of Environmental Health*, 56(1), 24–28.
32. Soares, L. S., Almeida, R. C. C., Cerqueira, E. S., Carvalho, J. S., Nunes, I. L. (2012). Knowledge, attitudes and practices in food safety and the presence of coagulase positive staphylococci on hands of food handlers in the schools of Camaçari, Brazil. *Food Control*, 21(1), 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.03.016>
33. Baş, M., Ersun, A. S., Kivanç, G. (2006). The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers in food businesses in Turkey. *Food Control*, 17(4), 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.11.006>

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Yousif M. A. Idris , PhD, Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agricultural Studies, Sudan University of Science and Technology PO Box 407, Shambat, Khartoum North, Sudan Tel.: +24-991-216-51-15 E-mail: yousifidris@yahoo.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9999-6148		Идрис Ю. М. А. — PhD, Профессор, Факультет пищевой науки и технологии, Колледж сельскохозяйственных исследований, Суданский университет науки и технологии П/Я 407, Шамбат, Северный Хартум, Судан Тел.: +24-991-216-51-15 E-mail: yousifidris@yahoo.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9999-6148	
Abdalbasit A. Mariod , PhD, Professor, Department of Biology, College of Science, University of Jeddah Hamzah Ibn Al Qasim Str., Al Sharafeyah, Jeddah 23218, Saudi Arabia Tel.: +966-54-352-40-74 E-mail: basitmariod58@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3237-7948 * corresponding author		Мариод А. А. — PhD, профессор, Факультет биологических наук, Научный колледж Университета Джидды, Джидда, Саудовская Аравия 23218, Саудовская Аравия, Джидда, ул. Хамзы Ибн Аль-Касима, Аль-Шарафия Тел.: +966-54-352-40-74 E-mail: basitmariod58@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3237-7948 * автор для контактов	
Khansaa F. Mohamedin , B. Sc. Honours, Graduate, Department of Food Science and Technology, College of Agricultural Studies, Sudan University of Science and Technology PO Box 407, Shambat, Khartoum North, Sudan Tel.: +24-990-569-51-33 E-mail: nosa.fa97@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0004-8844-4657		Мохамедин К. Ф. — бакалавр, Факультет пищевой науки и технологии, Колледж сельскохозяйственных исследований, Суданский университет науки и технологии п/я 407, Шамбат, Северный Хартум, Судан Тел.: +24-990-569-51-33 E-mail: nosa.fa97@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0004-8844-4657	
Amna S. Alshafi , B. Sc. Honours, Graduate, Department of Food Science and Technology, College of Agricultural Studies, Sudan University of Science and Technology PO Box 407, Shambat, Khartoum North, Sudan Tel.: +24-911-746-28-32 E-mail: amoonasala224@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0003-5458-1840		Алшафи А. С. — бакалавр, Факультет пищевой науки и технологии, Колледж сельскохозяйственных исследований, Суданский университет науки и технологии П/Я 407, Шамбат, Северный Хартум, Судан Тел.: +24-911-746-28-32 E-mail: amoonasala224@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0003-5458-1840	
Contribution		Критерии авторства	
Yousif Mohamed Ahmed Idris , conceptualized, designed the study, and wrote the article. Khansaa Fathi Mohamedin and Amna Salah Alshafi , collected and analyzed the data. Abdalbasit Adam Mariod contributed to writing and reviewing the article.		Юсиф Мохамед Ахмед Идрис — разработка концепции, составление плана эксперимента и написание статьи. Ханзаа Фати Мохамедин и Амна Салах Альшафи — сбор и анализ данных. Абдальбасит Адам Мариод — участие в написании и рецензировании статьи	
Conflict of interest		Конфликт интересов	
The authors declare no conflict of interest.		Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-268-275>

Поступила 29.01.2024

Поступила после рецензирования 07.06.2024

Принята в печать 12.06.2024

© Мазукабзова Э. В., 2024

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

Научная статья

Open access

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ТРЕБОВАНИЯ К СЫРЬЮ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ ГЛАЗУРИ

Мазукабзова Э. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

технологические
приемы, глазурь,
пищевая ценность,
пищевые волокна,
реологические
свойства,
характеристика
кристаллизации

Глазурь, придавая кондитерским изделиям эстетически привлекательный внешний вид, обеспечивает возможность prolongирования их сроков годности. Основными сырьевыми компонентами глазури являются сахар и жир, что определяет ее высокую калорийность. Современные тенденции диктуют необходимость создания кондитерских изделий, обогащенных эссенциальными нутриентами, которые содержатся в овощах, ягодах и фруктах. Введение тонкоизмельченных добавлений в виде плодовоовощного порошка в рецептуру глазури может повлечь за собой изменения реологических и кристаллизационных свойств глазури. Цель исследования — разработать технологические приемы производства фруктово-овощной кондитерской глазури с повышенным содержанием пищевых волокон и сниженным количеством добавленного сахара, а также установить требования к плодовоовощным порошкам как к сырью, используемому в производстве кондитерской глазури. Объекты исследования: промышленные образцы плодовоовощных порошков из малины, яблока, моркови и свеклы; произведенные в лабораторных условиях образцы кондитерской глазури. В работе использованы общепринятые и специальные методы исследований. Определена технологическая приемлемость применения плодовоовощных порошков при производстве кондитерской глазури по их физико-химическим показателям. Исследовано влияние плодовоовощных порошков на реологические и кристаллизационные свойства кондитерской глазури. Предел текучести глазури возрастал по мере увеличения от 3 до 15% содержания плодовоовощного порошка в различной степени в зависимости от его жиропоглощательной способности. Изменялась характеристика кристаллизации глазури: температура застывания снижалась на 1–2 °С; продолжительность кристаллизации увеличивалась на 27–40% по сравнению с контрольным образцом. Обоснована номенклатура и приведены числовые значения критериев качества плодовоовощных порошков для обеспечения технологических свойств глазури. Показано влияние постадийного введения ПАВ на значение предела текучести кондитерских глазури с плодовоовощными порошками. Разработана технология фруктово-овощной кондитерской глазури с высоким содержанием пищевых волокон 9 г/100 г и со сниженным количеством добавленного сахара.

БЛАГОДАРНОСТИ: Автор выражает признательность коллеге Руденко О. С. за консультацию и помощь.

Received 29.01.2024

Accepted in revised 07.06.2024

Accepted for publication 12.06.2024

© Mazukabzova E. V., 2024

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

Original scientific article

Open access

TECHNOLOGICAL ASPECTS AND REQUIREMENTS TO RAW MATERIALS FOR INCREASING THE NUTRITIONAL VALUE OF GLAZE

Ella V. Mazukabzova

All-Russian Research Institute of the Confectionery Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

technological methods,
glaze, nutritional
value, dietary fiber,
rheological properties,
crystallization
characteristic

ABSTRACT

Glaze, giving confectionery products an aesthetically attractive appearance, provides the possibility of prolonging their shelf life. The main raw components of the glaze are sugar and fat, which determines its high caloric content. Modern trends dictate the need to create confectionery products enriched with essential nutrients found in vegetables, berries and fruits. The introduction of finely ground additives in the form of fruit and vegetable powder into the glaze formulation may entail changes in the rheological and crystallization properties of the glaze. The aim of the research is to develop technological methods of fruit and vegetable confectionery glaze production with increased content of dietary fibers and reduced amount of added sugar, as well as to establish requirements for fruit and vegetable powders as raw materials used in the production of confectionery glaze. The objects of the research were industrial samples of fruit and vegetable powders from raspberry, apple, carrot and beet, as well as samples of confectionery glaze produced in laboratory conditions. Common and special research methods were used in the work. The technological acceptability of using fruit and vegetable powders in the production of confectionery glaze according to their physical and chemical parameters has been determined. The yield stress of the glaze increased as the content of fruit and vegetable powder increased from 3 to 15% to varying degrees depending on its fat-absorbing capacity. The crystallization characteristic of the glaze changed: the solidification temperature decreased by 1–2 °C, the crystallization duration increased by 27–40% compared to the control sample. The nomenclature is substantiated and numerical values of quality criteria of fruit and vegetable powders to ensure technological properties of glaze are given. The influence of step-by-step introduction of surfactants on the value of yield stress of confectionery glazes with fruit and vegetable powders is shown. The technology of fruit and vegetable confectionery glaze with a high content of dietary fiber (9 g/100 g) and with a reduced amount of added sugar has been developed.

ACKNOWLEDGEMENTS: The author expresses gratitude to his colleague O. S. Rudenko for advice and help.

1. Введение

По данным маркетинговых исследований, неизменной популярностью среди потребителей пользуются шоколадные и глазированные кондитерские изделия [1]. Глазурь, используемая в качестве

отделочного полуфабриката, придает кондитерским изделиям эстетически привлекательный внешний вид, композиционную завершенность и обогащает вкусовую палитру изделия [2]. При этом глазурь в глазированных продуктах проявляет функционально-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мазукабзова, Э. В. (2024). Технологические аспекты и требования к сырью для повышения пищевой ценности глазури. *Пищевые системы*, 7(2), 268–275. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-268-275>

FOR CITATION: Mazukabzova, E. V. (2024). Technological aspects and requirements to raw materials for increasing the nutritional value of glaze. *Food Systems*, 7(2), 268–275. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-268-275>

технологические свойства и выполняет следующие функции: она замедляет процессы окисления, черствения и проникновения влаги, что продлевает срок годности изделия [3]. Глазурь, несмотря на то что она является популярным кондитерским полуфабрикатом, содержит большое количество жиров и углеводов, в основном сахарозы [4]. Высокое содержание этих питательных веществ в глазури обуславливает ее высокую калорийность.

Повышенное потребление энергетически богатых, но бедных питательными элементами продуктов с высоким содержанием жира, сахара и соли является одним из факторов риска возникновения неинфекционных заболеваний [5]. Необходимость снижения потребления добавленного сахара отражена и в принятой ВОЗ «Глобальной стратегии по питанию, физической активности и здоровью»¹. Таким образом, одним из направлений разработки кондитерских изделий является снижение в них количества пустых калорий и повышение пищевой плотности изделия за счет замены критически значимых ингредиентов, таких как сахар и жир, на полезные нутриенты, обладающие биологической активностью [6,7].

В овощах, ягодах и фруктах содержатся биологически активные вещества — витамины, флавоноиды, полифенолы, антоцианы и многие другие фитонутриенты, проявляющие антиоксидантные свойства. В составе красной моркови отмечено высокое содержание каротиноидов и флавоноидов [8], а в черной моркови присутствуют антоцианы [9], высокое содержание которых характерно для ягод малины [10], черники [11] и голубики [12]. Такие ягоды, как смородина, шиповник, облепиха и малина богаты витамином С [10,13,14]; виноград, черника и голубика являются источником стильбеноидов [12]. Свежлу отличает большое количество в ее составе антиоксиданта β-цианина [10]. Малина занимает особое место среди плодоовощного сырья. В ней присутствуют флавоноиды, фенольные соединения, витамины С и Е, каротиноиды, калий и магний [15,16]. Плодоовощные порошки являются концентратами исходного сырья, содержащими значительное количество полезных для человека веществ [4,17,18]. Применение плодоовощного сырья и продуктов его переработки в виде концентратов, выжимок и порошков в производстве пищевой продукции позволяет повышать ее пищевую ценность. Использование плодоовощного сырья широко распространено при производстве мучных кондитерских изделий: тортов [19]; кексов [20,21,22]; затяжного [23], овсяного [24], сдобного [20,21,25] и песочного печенья [26], а также сахаристых кондитерских изделий: зефира [27], мармелада [28], желейных [29] и пралиновых конфет [30]. При этом научные публикации, посвященные получению кондитерских глазурей с применением плодоовощных порошков, практически отсутствуют.

По своим физическим свойствам кондитерская глазурь в расплавленном виде представляет собой структурированную высокодисперсную систему, в которой дисперсионной средой является расплавленный заменитель масла какао, а дисперсной фазой — твердые частицы какао-порошка, сахарной пудры и других рецептурных компонентов. Реологические и кристаллизационные свойства глазури, определяющие технологический процесс глазирования, зависят, с одной стороны, от свойств жировой фазы, с другой — от количества, вида и гранулометрического состава компонентов дисперсной фазы, а также от наличия поверхностно активных веществ (ПАВ) [31,32,33].

Введение тонкоизмельченных добавлений в виде плодоовощного порошка в рецептуру глазури может повлечь за собой изменения реологических и кристаллизационных свойств глазури. Для оценки технологической приемлемости использования плодоовощных порошков в производстве кондитерских глазурей необходимо изучить их физико-химические показатели.

Согласно действующей нормативной документации², сушеные фрукты, овощи и грибы представляют собой продукты переработки, изготовленные из свежих целых или нарезанных фруктов, овощей или грибов, подготовленных согласно установленной технологии. Продукты могут быть цельными, нарезанными или порошкообразными и высушиваются путем термической обработки, воздушно-солнечной сушки или другими способами до достижения необходимой влажности для их сохранности. Оценка качества сушеных фруктов и овощей проводят в соответствии с действующими стан-

дартами^{3,4} по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям. Физико-химические показатели включают в себя определение массовой доли влаги, массовой доли диоксида серы и посторонних примесей. Для того чтобы оценить технологическую приемлемость добавления порошкообразных сушеных фруктов и овощей в кондитерскую глазурь, этих показателей недостаточно, поскольку для сухих сыпучих компонентов кондитерской глазури также важен их гранулометрический состав, показатель активной кислотности и способность порошков поглощать жир.

Исследованиями [34,35,36] и практикой производства глазури установлено, что для достижения высоких органолептических и оптимальных реологических показателей все частицы твердой фазы продукта должны находиться в узком диапазоне распределения от 10 до 30 мкм. Основу твердой фазы кондитерской глазури составляют частицы сахарной пудры и какао, гранулометрический состав которых должен быть равномерным и находиться в узком диапазоне распределения от 30 до 75 мкм при отсутствии мелких и крупных частиц. Проведенные ранее исследования [4] по определению гранулометрического состава сыпучих рецептурных компонентов кондитерской глазури показали, что сахарная пудра и какао-порошок характеризуются неоднородным гранулометрическим составом и широким диапазоном распределения частиц. Фракция с размером частиц 30–75 мкм преобладает в составе сахарной пудры (до 74,8%) и какао-порошка (до 80,6%). Плодоовощные порошки отличаются однородным распределением частиц по размерам. Доля частиц в диапазоне 30–75 мкм составляет 55,6–64,9%.

Кондитерская глазурь является полуфабрикатом с низкой влажностью (1–1,5%), поэтому массовая доля влаги ее сырьевых компонентов не должна превышать 10%. Согласно ГОСТ 32896–2014 и ГОСТ 32065–2013, массовая доля влаги во фруктах сушеных должна находиться в диапазоне 15–25%, в овощах сушеных не должна превышать 14%. Для фруктов и овощей сушеных порошкообразных не установлено значение массовой доли влаги.

Показатель активной кислотности сырьевых компонентов глазури влияет на органолептические свойства готового полуфабриката. Значение pH ниже 4 прогнозирует появление во вкусе кислинки. Поскольку в состав плодоовощных порошков входят высокомолекулярные соединения [4,16,17], они могут обладать различными формами родства к жиру. В работе [37] предложено разделение плодоовощных порошков по их жиропоглощательной способности.

Вышеперечисленные физико-химические показатели качества плодоовощных порошков оказывают влияние на протекание технологического процесса производства глазури.

Целью данной работы являлась разработка технологических приемов производства фруктово-овощной кондитерской глазури с повышенным содержанием пищевых волокон и со сниженным количеством добавленного сахара, а также установление требований к плодоовощным порошкам как к сырью, используемому в производстве кондитерской глазури.

2. Объекты и методы

Объектами исследования являлись промышленные образцы плодоовощных порошков из малины, яблока, моркови и свеклы; образцы кондитерской глазури, произведенные в лабораторных условиях с применением заменителя масла какао нетемпературируемого лауринового типа, какао-порошка алкализованного, сахарной пудры и плодоовощных порошков. В качестве контрольного образца использовали кондитерскую глазурь, полученную без внесения плодоовощных порошков.

В работе задействовано следующее сырье: заменитель масла какао нетемпературируемый лауринового типа К 700–1 (Россия, НМЖК); сахарная пудра ГОСТ 33222–2015⁵; какао-порошок алкализованный ГОСТ 108–2014⁶; плодоовощные порошки из свеклы и малины ТУ ВУ91–346–284.003–2017 (Беларусь, ООО «Витбиокор»), из яблока и моркови ТУ 9164–001–18419372–13 (Россия, ООО «Арида»); лецитин ГОСТ 32052–2013⁷; ванилин ГОСТ 16599–71⁸.

³ ГОСТ 32896–2014. «Фрукты сушеные. Общие технические условия». Москва: Стандартинформ, 2015. — 16 с.

⁴ ГОСТ 32065–2013. «Овощи сушеные. Общие технические условия». Москва: Стандартинформ, 2014. — 15 с.

⁵ ГОСТ 33222–2015. «Сахар белый. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2019. — 20 с.

⁶ ГОСТ 108–2014. «Какао-порошок. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2019. — 11 с.

⁷ ГОСТ 32052–2013. «Добавки пищевые. Лецитины Е322. Общие технические условия». Москва: Стандартинформ, 2013. — 31 с.

⁸ ГОСТ 16599–71. «Ванилин. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2011. — 6 с.

¹ ВОЗ (2009). WHA57.17. Глобальная стратегия по питанию, физической активности и здоровью. Руководство для стран по мониторингу и оценке осуществления. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 2009. Электронный ресурс: <https://zdoroveyegoroda.ru/wp-content/uploads/2016/12/Zdorove-pitanie-Rukovodstvo-po-otsenke-globalnoy-strategii.pdf> Дата доступа 15.01.2024

² ГОСТ 28322–2014. «Продукты переработки фруктов, овощей и грибов. Термины и определения». Москва: Стандартинформ, 2018. — 15 с.

Определение массовой доли влаги в плодовоовощных порошках проводили по ГОСТ 5900–2014⁹; выявление показателя pH — по ГОСТ 5898–87¹⁰; степень измельчения устанавливали по ГОСТ Р 54052–2010¹¹ с помощью лазерного анализатора размера частиц с универсальным жидкостным модулем серии LS13320 MW фирмы Beckman Coulter (США); жиропоглолительную способность оценивали по МВИ 080–00334675–19¹². Содержание пищевых волокон определяли ферментативно-гравиметрическим методом в соответствии с МИ 01.00282–2008/0174.01.07.13 (ФР 1.31.2020.37150)¹³.

Характеристику кристаллизации глазурей определяли по МВИ 065–00334675–18¹⁴ на приборе MultiTherm™ фирмы Bühler (Швейцария). Реологические показатели глазурей определяли в соответствии с методом IOCCC¹⁵ на ротационном вискозиметре RotoVisco1 фирмы HAAKE (Германия). Полученные экспериментальные данные были аппроксимированы моделью Кассона.

В экспериментальной части приведены средние арифметические значения полученных данных. Экспериментальные данные были статистически оценены на однородность с целью исключения результатов, отягощенных грубыми ошибками. Различия средних значений выборок с применением t-критерия Стьюдента признавались статистически достоверными при доверительной вероятности $p \leq 0,05$.

Процедура исследований

Проведено комплексное исследование физико-химических показателей плодовоовощных порошков с целью определения их влияния на технологические свойства кондитерской глазури. В ходе исследования были теоретически обоснованы ключевые физико-химические показатели порошков. На основании полученных данных была определена технологическая приемлемость включения плодовоовощных порошков в рецептуру кондитерской глазури.

Для разработки кондитерской глазури с плодовоовощными порошками были составлены рецептурные соотношения, в которых часть сахарной пудры заменяли различным количеством плодовоовощных порошков (Таблица 1). В качестве контрольной использовалась унифицированная рецептура кондитерской глазури (Таблица 1, вар. 1).

Таблица 1. Рецептурные соотношения кондитерской глазури

Table 1. Recipe ratios for confectionery glaze

Наименование сырья	Количество ингредиента в зависимости от варианта, %							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Сахарная пудра	51	48	46	44	42	40	38	36
Какао-порошок (алкализованный)					17,5			
Плодовоовощной порошок	0	3	5	7	9	11	13	15
Заменитель масла какао лауринового типа					31			
Эмульгатор					0,45			
Ванилин					0,05			
ИТОГО					100			

Было изучено влияние физико-химических свойств и количества порошка на кристаллизационные и реологические свойства глазури.

⁹ ГОСТ 5900–2014. «Изделия кондитерские. Методы определения влаги и сухих веществ». Москва: Стандартинформ, 2019. — 13 с.

¹⁰ ГОСТ 5898–87. «Изделия кондитерские. Методы определения кислотности и щелочности». Москва: Стандартинформ, 2012. — 10 с.

¹¹ ГОСТ Р 54052–2010. «Изделия кондитерские. Методы определения степени измельчения шоколада, шоколадных глазурей, полуфабрикатов производства шоколада, какао и глазури». Москва: Стандартинформ, 2012. — 8 с.

¹² МВИ 080–00334675–19. «Методика определения водопоглолительной и жиропоглолительной способности фруктово-овощных порошков». Москва: ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова, 2019. — 4 с.

¹³ МИ 01.00282–2008/0174.01.07.13 (ФР 1.31.2020.37150). «Определение содержания растворимых и нерастворимых пищевых волокон в пищевых продуктах и БАД к пище». Разработана ФГБУ «НИИ питания» РАМН, аттестована, утверждена и зарегистрирована в Федеральном реестре методик выполнения измерений в 2013 г. ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора.

¹⁴ МВИ 065–00334675–18. (2018). «Методика определения характеристики кристаллизации продуктов переработки какао-бобов (какао тертое и масло какао) на приборе MultiTherm». Москва: ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова, 2018. — 9 с.

¹⁵ IOCCC. Viscosity of Cocoa and Chocolate Products (Analytical Method: 46). Brussels: CABISCO, 2000.

Для управления реологическими показателями глазури были изготовлены модельные образцы с добавлением ПАВ на различных технологических стадиях.

Были разработаны технологические приемы производства фруктово-овощной кондитерской глазури.

3. Результаты и обсуждение

Проведены исследования плодовоовощных порошков по предложенным физико-химическим показателям, которые могут оказывать влияние на технологические свойства глазурей: массовая доля влаги, показатель активной кислотности, жиропоглолительная способность и содержание пищевых волокон (Таблица 2).

Таблица 2. Физико-химические показатели какао-порошка и плодовоовощных порошков

Table 2. Physico-chemical parameters of cocoa powder and fruit and vegetable powders

Показатели	Какао-порошок	Плодовоовощной порошок из:			
		свеклы	малины	яблока	моркови
Массовая доля влаги, %	не более ¹⁶ 7,5%	5,81 ± 0,02	3,89 ± 0,02	6,10 ± 0,02	5,51 ± 0,02
Показатель активной кислотности, ед. pH	не более ¹⁴ 7,1	6,93 ± 0,08	4,16 ± 0,01	4,40 ± 0,02	4,71 ± 0,02
Жиропоглолительная способность, г жира/г порошка	1,53 ± 0,01	1,70 ± 0,01	3,13 ± 0,02	3,63 ± 0,02	4,81 ± 0,02
Содержание пищевых волокон, г/100 г	35,3 ± 3,53	24,7 ± 2,47	37,10 ± 3,71	22,7 ± 2,27	32,50 ± 3,25

Примечание: значения представляют собой средние значения ± стандартное отклонение от среднего значения для группы $n = 3$ при использовании коэффициента Стьюдента 0,95.

Массовая доля влаги плодовоовощных порошков находилась в интервале 3,89–6,10%, что не превышало нормируемое значение для какао-порошка. Значение показателя активной кислотности для порошков из малины и яблока находилось в кислой области. Плодовоовощные порошки отличались друг от друга способностью поглощать жир (СПЖ). Жиропоглолительная способность порошка из свеклы составляет 1,7 г жира / г порошка и сопоставима с этим показателем для какао-порошка. СПЖ порошков из малины, яблока и моркови превышала СПЖ какао-порошка в 2–3 раза, что может оказать влияние на кристаллизационные и реологические свойства глазури. Все плодовоовощные порошки характеризовались высоким содержанием пищевых волокон растворимых и нерастворимых от 22,7 до 37,1 г/100 г и являлись, согласно ТР ТС 022/2011, источниками пищевых волокон (Рисунок 1).

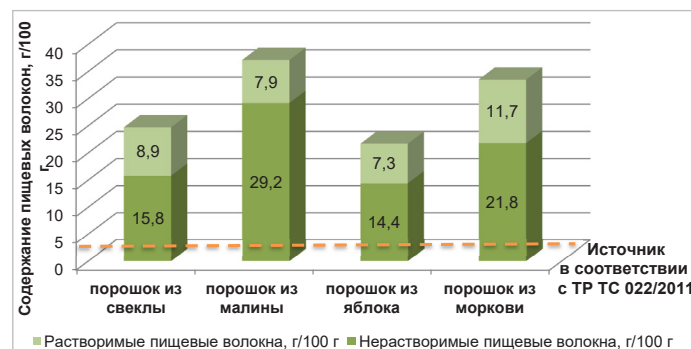


Рисунок 1. Содержание пищевых волокон в плодовоовощных порошках

Figure 1. Dietary fiber content of fruit and vegetable powders

Больше всего пищевых волокон содержалось в порошке из малины и меньше всего — в порошке из яблока. Содержание нерастворимых пищевых волокон в плодовоовощных порошках составило 14,4–29,2 г/100 г, растворимых пищевых волокон — 7,3–11,7 г/100 г.

¹⁶ ГОСТ 108–2014. «Какао-порошок. Технические условия». Москва: Стандартинформ, 2019. — 11 с.

Качество глазури определяется не только физико-химическими показателями сырьевых компонентов, но и пропорциями, в которых они смешаны, а также способами их обработки. Было изучено влияние физико-химических свойств и количества плодовоовощного порошка на процесс кристаллизации глазури (Рисунок 2 и 3).

По мере увеличения содержания плодовоовощного порошка температура застывания глазури снижалась при одновременном увеличении продолжительности кристаллизации. На процесс кристаллизации оказывало влияние не только количество добавляемого порошка, но и его физико-химические свойства. К наибольшему снижению температуры кристаллизации с 28,5 °C до 27,4 °C и 27,6 °C приводило добавление 15% порошка из яблока и малины соответственно. На продолжительность кристаллизации наибольшее влияние также оказывали порошки из яблока и малины. Внесение 15% порошка из малины и яблока увеличивало продолжительность кристаллизации на 2 и 3 минуты соответственно. Порошки из моркови и свеклы практически не оказывают влияние на характеристику кристаллизации глазури.

Установлено влияние плодовоовощных порошков на реологические свойства глазури (Рисунок 4).

Предел текучести глазури по Кассону возрастал по мере увеличения содержания плодовоовещного порошка в рецептуре глазурей. Добавление порошков из свеклы и малины приводило к умеренному увеличению предела текучести по Кассону. Даже при высоких концентрациях этих порошков (13–15%) значение предела текучести не превышало 9 Па. Глазурь сохраняла хорошие технологические характеристики (текучесть, параметры кристаллизации). С ростом кон-

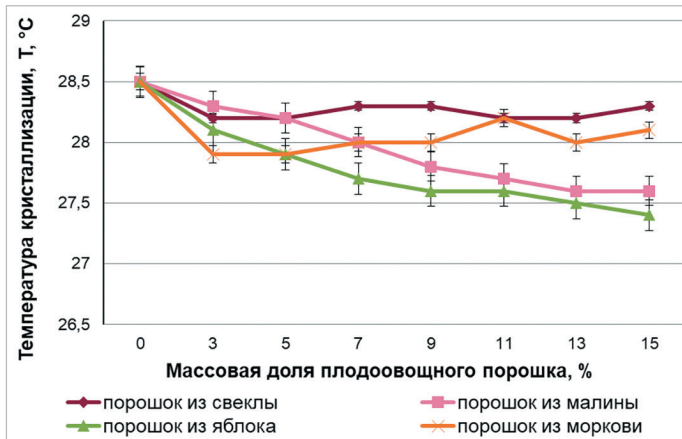


Рисунок 2. Влияние плодовоовещных порошков на температуру кристаллизации глазури. Планки разброса показывают границы доверительных интервалов для доверительной вероятности $P = 0,95$ ($n = 3$)

Figure 2. Effect of fruit and vegetable powders on the crystallization temperature of the glaze. The scatter bars show the boundaries of the confidence interval with a 95% confidence level ($n=3$)

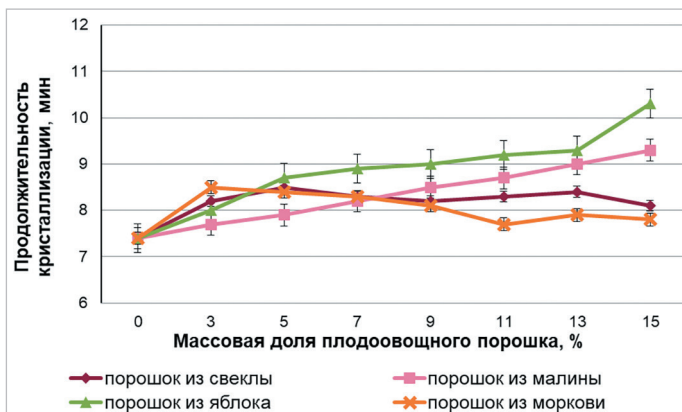


Рисунок 3. Влияние плодовоовещных порошков на продолжительность кристаллизации глазури. Планки разброса показывают границы доверительных интервалов для доверительной вероятности $P = 0,95$ ($n = 3$)

Figure 3. Effect of fruit and vegetable powders on the duration of glaze crystallization. The scatter bars show the boundaries of the confidence interval with a 95% confidence level ($n = 3$)

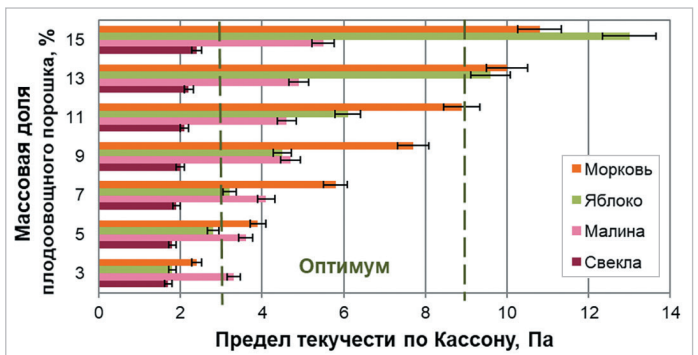


Рисунок 4. Изменение предела текучести по Кассону кондитерских глазурей с плодовоовещными порошками. Планки разброса показывают границы доверительных интервалов для доверительной вероятности $P = 0,95$ ($n = 3$)

центрации порошков из яблока и моркови в рецептуре наблюдалось резкое увеличение предела текучести по Кассону, и при добавлении 13% и более этот показатель выходил за оптимальные значения. Моделирование смеси плодовоовещных порошков с различной жиропоглощательной способностью позволяет несколько снизить предел текучести глазури.

Основной задачей следующего этапа исследований явилось получение глазурей с оптимальными реологическими показателями. Для этого использовали ПАВ, которые вводились в несколько приемов на разных этапах процесса производства модельных образцов глазури и определяли их предел текучести (Рисунок 5).

Выявлено, что наибольшего снижения предела текучести глазури в процессе их производства можно добиться путем внесения лецитина в три этапа в равных количествах на стадиях смешивания, измельчения, гомогенизации и за счет добавления PGPR на стадии гомогенизации через 30 мин после внесения лецитина.

На основании проведенных исследований была разработана технология фруктово-овощной кондитерской глазури, позволяющая выпускать высококачественные кондитерские полуфабрикаты с повышенным содержанием пищевых волокон и со сниженным количеством добавленного сахара. Технологическая схема производства фруктово-овощной кондитерской глазури показана на Рисунке 6.

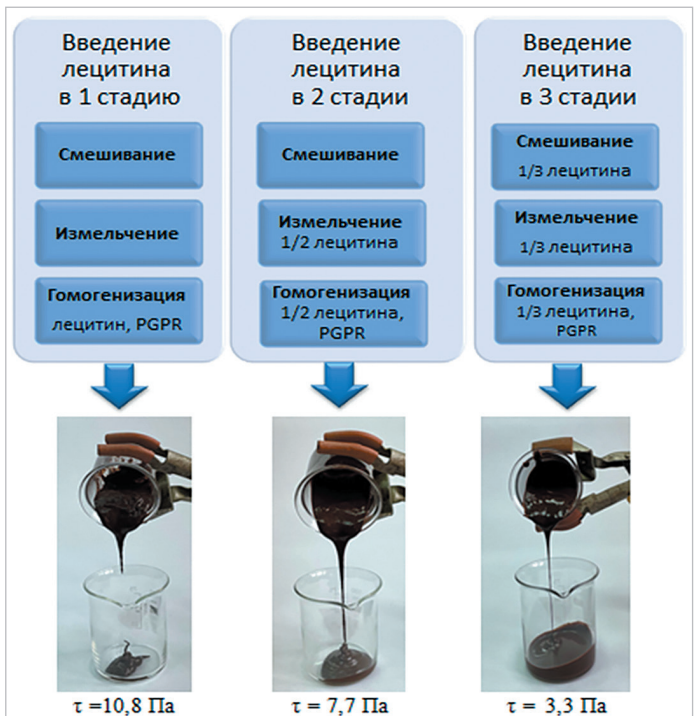


Рисунок 5. Схема введения ПАВ в процессе производства глазури

Figure 5. Scheme of surfactant introduction during the glaze production process

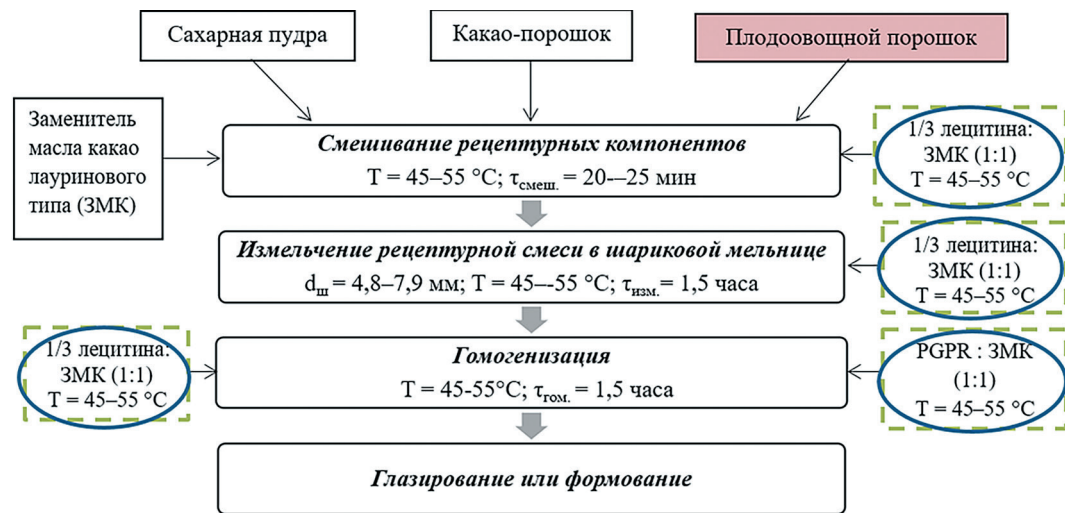


Рисунок 6. Технологическая схема производства фруктово-овощной кондитерской глазури
Figure 6. Technological diagram for the production of fruit and vegetable confectionery glaze

Производство фруктово-овощной глазури включает в себя следующие стадии: смешивание сырьевых компонентов с добавлением 1/3 лецитина, измельчение рецептурной смеси с внесением 1/3 лецитина, гомогенизация с добавлением 1/3 лецитина и дальнейшим внесением PGPR через 30 мин после добавления лецитина, затем глазирование или формование.

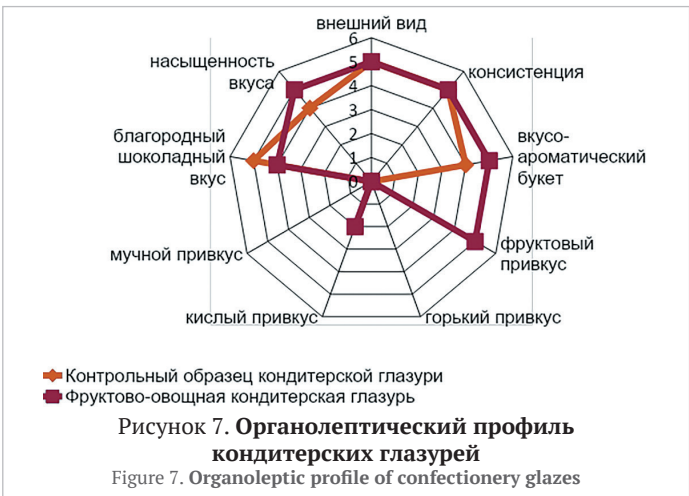
Разработанная технология позволяет производить фруктово-овощные глазури с повышенной пищевой ценностью (Таблица 3).

Таблица 3. Пищевая ценность кондитерских глазурей
Table 3. Nutritional value of confectionery glazes

Нутриенты	Содержание пищевых веществ в 100 г глазури		Изменение содержания нутриентов, Δ, %
	кондитерская глазурь	фруктово-овощная кондитерская глазурь	
Энергетическая ценность, ккал	537	526	- 2%
Органические соединения, г:			
Белки	4,2	5,2	+ 23,8
Жиры	34,1	34,2	+ 0,3
Углеводы	52,7	48,6	- 7,8
Пищевые волокна	6,1	9,0	+ 47,5
Минеральные вещества, мг:			
Калий (K)	261	549	+ 110,4
Магний (Mg)	74	98	+ 32,4
Кальций (Ca)	22	58	+ 163,3
Фосфор (P)	113	152	+ 34,5
Витамины, мг:			
Тиамин (B1)	0,02	0,05	+ 150
Рибофлавин (B2)	0,04	0,08	+ 100
Ниацин (PP)	0,31	2,43	+ 684
Аскорбиновая кислота (C)	—	13,88	—

Замена части сахарной пудры на порошок из свеклы и яблока привела к снижению рецептурного количества сахара на 24%. Содержание пищевых волокон возросло в 1,5 раза и составило 9 г на 100 г глазури, что позволяет, согласно ТР ТС 022/2011, отнести разработанную глазурь к продуктам с высоким содержанием пищевых волокон. Разработанная фруктово-овощная кондитерская глазурь также является источником минеральных веществ: калия (16% от средней суточной потребности / 100 г), магния (25% от средней суточной потребности / 100 г) и фосфора (18% от средней суточной потребности / 100 г).

Наряду с повышением пищевой ценности добавление плодово-овощных порошков в состав глазури улучшает ее органолептические свойства. Органолептическая оценка была проведена по предложенному перечню дескрипторов, дополненному терминами, описывающими вкусовые ощущения (Рисунок 7).



Фруктовые ноты, привносимые плодовоовощным порошком, гармонично сочетаются с терпким и насыщенным вкусо-ароматическим профилем какао-продуктов.

Для обогащения кондитерских глазурей пищевыми волокнами использовали плодовоовощные порошки. Результаты исследований по содержанию пищевых волокон коррелировали с данными, полученными в исследованиях [20,38] (Рисунок 8).

Результаты экспериментального определения содержания пищевых волокон в порошке из моркови показали значения, в 2,5 раза превышающие опубликованные в работе [39].

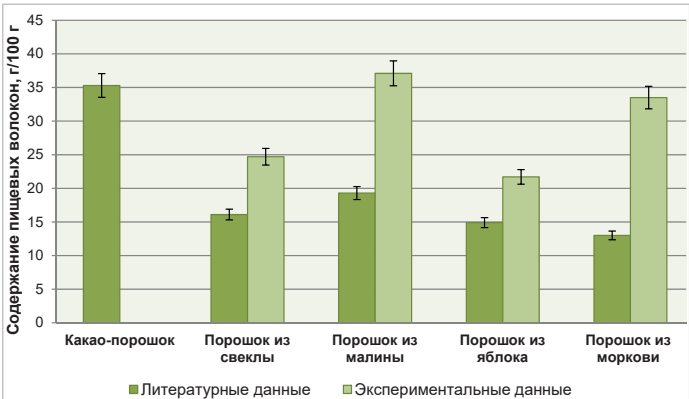


Рисунок 8. Содержание пищевых волокон в плодовоовощных порошках. Планки разброса показывают границы доверительных интервалов для доверительной вероятности P = 0,95 (n = 3)
Figure 8. Dietary fiber content of fruit and vegetable powders. The scatter bars show the boundaries of the confidence interval with P=95% confidence level (n = 3)

Включение плодоовощных порошков в состав глазури для увеличения содержания пищевых волокон и для снижения количества добавленного сахара целесообразно, но ограничено их физико-химическими показателями. В результате исследований оценки качества плодоовощных порошков были сформулированы научно обоснованные требования к ним как к сырью для производства глазурей (Таблица 4).

Таблица 4. Требования к плодоовощным порошкам, используемым в производстве глазури
Table 4. Requirements for fruit and vegetable powders used in the production of glaze

Наименование показателя	Плодоовощной порошок
Органолептические свойства	однородный порошок, имеет аромат и вкус, свойственные плоду или овощу, из которых получен
Массовая доля влаги,%, не более	6,5
Жиропоглолительная способность, г жира/г, не более	5
Степень измельчения: содержание частиц от 30 до 75 мкм, %, не менее	40
Показатель pH, не менее	3,0

Результаты исследования свидетельствуют о том, что добавление плодоовощных порошков влечет за собой изменение кристаллизационных и реологических свойств глазури. Характеристика кристаллизации глазури определяет протекание технологических процессов на стадиях формования и глазировании изделий. Чем выше температура застывания жира и чем меньше продолжительность кристаллизации (в определенных пределах), тем лучше и быстрее он кристаллизуется [31,40]. Добавление 15% порошка из малины и яблока приводило к снижению температуры кристаллизации на градус при одновременном увеличении продолжительности кристаллизации на 2 и 3 минуты соответственно.

Рост предельного напряжения сдвига (предела текучести) глазури при включении в нее плодоовощных порошков связан с процессом активного жиропоглощения, вследствие чего затрудняется скольжение твердых частиц относительно друг друга в процессе измельчения и гомогенизации. Для обеспечения процесса покрытия изделий равномерным тонким слоем значение предела текучести по Кассону должно находиться в диапазоне 3–9 Па. Внесение порошков из яблока и моркови в количестве 13% и более приводило к возрастанию предела текучести по Кассону свыше 9 Па. Глазурь с добавлением порошков из свеклы и малины в количестве 3–15% характеризовалась оптимальным значением предела текучести во всех концентрациях. Таким образом, на кристаллизационные и реологические свойства глазури оказывает влияние не только количество, но и физико-химические свойства порошков.

Управлять кристаллизационными и реологическими свойствами глазурей возможно путем изменения технологических параметров

их производства (температурные режимы и время обработки), дополнительно вводя ПАВ различной природы, а также контролируя гранулометрический состав исходных сырьевых компонентов. Для достижения оптимальных реологических свойств разработан способ введения ПАВ в 3 стадии.

По разработанной технологии можно производить глазури с различными сочетаниями плодоовощных порошков с учетом их жиропоглолительной способности в соответствии с предложенной ранее гипотезой.

4. Выводы

Обосновано использование плодоовощных порошков с содержанием пищевых волокон 22–37% в производстве кондитерской глазури в качестве источника пищевых волокон.

Определена технологическая приемлемость включения плодоовощных порошков в состав глазури, поскольку значения массовой доли влаги плодоовощных порошков, их гранулометрический состав находились в диапазонах, близких к показателям какао-порошка.

Разработаны технические требования к плодоовощным порошкам, позволяющие выпускать фруктово-овощную кондитерскую глазурь с заданными показателями качества, включающие предельные значения массовой доли влаги, жиропоглолительной способности, степени измельчения и показателя pH.

Изучено влияние добавления плодоовощного порошка на реологические и кристаллизационные свойства кондитерской глазури. Предел текучести глазури возрастал по мере увеличения количества добавленного порошка. Динамика роста предела текучести глазури определялась жиропоглолительной способностью плодоовощных порошков. По мере увеличения от 3 до 15% содержания плодоовещного порошка в рецептуре изменялись кристаллизационные свойства глазури: продолжительность кристаллизации увеличивалась на 27–40% по сравнению с контрольным образцом, кристаллизация протекала при более низких температурах.

На основании установленных закономерностей разработана технология фруктово-овощной кондитерской глазури, предусматривающая введение ПАВ в 3 стадии. Разработанная технология позволяет производить кондитерскую глазурь с частичной заменой сахара на плодоовощные порошки, что способствует ее обогащению пищевыми волокнами, витаминами и минеральными веществами. Содержание пищевых волокон в разработанной глазури составило 9 г/100 г, что характеризует ее как продукт с высоким содержанием пищевых волокон. Также возросло содержание в составе глазури витаминов (В₁, В₂ и РР) и минеральных веществ (К, Mg, Са и Р). Наряду с повышением пищевой ценности добавление плодоовощных порошков обогащает вкусо-ароматический профиль глазури.

Установленные закономерности влияния плодоовощных порошков на реологические и кристаллизационные свойства глазури позволяют управлять технологическим процессом производства кондитерской глазури.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК/ REFERENCES

1. Драничкина, А. С. (2023). Тенденции потребления кондитерских изделий в условиях экономической нестабильности. *Хлебпродукты*, 4, 56–59. [Dranichkina, A. S. (2023). Trends in confectionery consumption in conditions of economic instability. *Khleboпродукты*, 4, 56–59. (In Russian)]

2. Мазукабзова, Э. В., Зайцева, Л. В. (2022). Органолептические, реологические и кристаллизационные свойства кондитерской глазури с порошком из свеклы. *Пищевые системы*, 5(2), 132–138. [Mazukabzova, E. V., Zaitseva, L. V. (2022). Organoleptic, rheological and crystallization properties of confectionery glaze with beet powder. *Food Systems*, 5(2), 132–138. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-2-132-138>

3. Кондратьев, Н. Б. (2015). Оценка качества кондитерских изделий. Повышение сохранности кондитерских изделий. М.: Перо, 2015. [Kondratiev N. B. (2015). Assessment of quality of confectionery products. Increasing storability of confectionery products. Moscow: Pero. (In Russian)]

4. Линовская, Н. В., Мазукабзова, Э. В., Кондратьев, Н. Б., Крылова, Э.Н. (2019). Изучение технологической адекватности сырьевых компонентов, используемых в производстве шоколадного полуфабриката. *Вестник МГТУ*, 22(3), 404–412. [Linovskaya, N. V., Mazukabzova, E. V., Kondratiev, N. B., Krylova, E. N. (2019). The study of the technological adequacy of raw materials used in the production of chocolate semi-finished product. *Vestnik of MSTU*, 22(3), 404–412. (In Russian)] <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2019-22-3-404-412>

5. Tedstone, A., Targett, V., Allen, R. E. (2015). Sugar reduction: The evidence for action. London: Public Health England, 2015.

6. Пырьева, Е. А., Сафронова, А. И. (2019). Роль и место пищевых волокон в структуре питания населения. *Вопросы питания*, 88(6), 5–11. [Pyrjeva, E. A., Safronova, A. I. (2019). The role of dietary fibers in the nutrition of the population. *Problems of Nutrition*, 88(6), 5–11. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10059>

7. Шарифетдинов, Х. Х., Плотникова, О. А. (2020). Ожирение как глобальный вызов XXI века: Лечебное питание, профилактика и терапия. *Вопросы питания*, 89(4), 161–171. [Sharafetdinov, Kh. Kh., Plotnikova, O. A. (2020). Obesity as a global challenge of the 21st century: Clinical medical nutrition, prevention and therapy. *Problems of Nutrition*, 89(4), 161–171. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10050>

8. Кожемяко, А. В., Сергеева, И. Ю., Долголюк, И. В. (2021). Экспериментальное определение биологически активных соединений в выжимках свеклы и моркови, районированных в Сибирском регионе. *Техника и технология пищевых производств*, 51(1), 179–187. [Kozhemyako, A. V., Sergeeva, I. Y., Dolgolyuk, I. V. (2021). Experimental determination of biologically active compounds in pomace of Siberian beet and carrot. *Food Processing: Techniques and Technology*, 51(1), 179–187. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-179-187>

9. Singh, J., Kaur, S., Rasane, P. (2018). Evaluation of the nutritional and quality characteristics of black carrot fortified instant noodle. *Current Nutrition and Food Science*, 14(5), 442–449. <https://doi.org/10.2174/1573401313666170724115548>

10. Жбанова, Е. В. (2018). Плоды малины *Rubus idaeus* L. как источник функциональных ингредиентов (обзор). *Техника и технология пищевых производств*, 48(1), 5–14. [Zhbanova, E. V. (2018). Fruit of Raspberry *Rubus idaeus* L. as a Source of Functional Ingredients (Review). *Food Processing: Techniques and Technology*, 48(1), 5–14. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-5-14>

11. Сидорова, Ю. С., Петров, Н. А., Бирюлина, Н. А., Перова, И. Б., Зорин, С. Н., Кочеткова, А. А. и др. (2022). Физиолого-биохимическая оценка эффектив-

- ности нового пищевого ингредиента — концентрата полифенолов ягод черники. *Вопросы питания*, 91(5(543)), 43–55. [Sidorova, Yu. S., Petrov, N. A., Biryulina, N. A., Perova, I. B., Zorin, S. N., Kochetkova, A. A. et al. (2022). Physiological and biochemical evaluation of the effectiveness of a new food ingredient — blueberry polyphenol concentrate. *Problems of Nutrition*, 91(5(543)), 43–55. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2022-91-5-43-55>
12. Сокурено, М. С., Соловьева, Н. Л., Бессонов, В. В., Мазо, В. К. (2019). Полифенольные соединения класса стилибеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации. *Вопросы питания*, 88(1), 17–25. [Sokurenko, M. S., Solovieva, N. L., Bessonov, V. V., Mazo, V. K. (2019). Polyphenolic compounds of the stilbenoid class: Classification, representatives, content in plant raw materials, structural features, use in the food industry and pharmacy. *Problems of Nutrition*, 88(1), 17–25. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10002>
 13. Theagarajan, R., Narayanaswamy, L. M., Dutta, S., Moses, J. A., Chinnaswamy, A. (2019). Valorisation of grape pomace (cv. Muscat) for development of functional cookies development of functional cookies. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1299–1305. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14119>
 14. Акимов, М. Ю., Бессонов, В. В., Коденцова, В. М., Эллер, К. В., Вржесинская, О. А., Бекетова, Н. А. и др. (2020). Биологическая ценность плодов и ягод российского производства. *Вопросы питания*, 89(4), 220–232. [Akimov, M. Yu., Bessonov, V. V., Kodencova, V. M., Eller, K. B., Vrzhesinskaya, O. A., Beketova, N. A. et al. (2020). Biological value of fruits and berries of Russian production. *Problems of Nutrition*, 89(4), 220–232. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055>
 15. Rao, A. V., Snyder, D. M. (2010). Raspberries and human health: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3871–3883. <https://doi.org/10.1021/jf903484g>
 16. Burton-Freeman, B. M., Sandhu, A. K., Edirisinghe, I. (2016). Red raspberries and their bioactive polyphenols: Cardiometabolic and neuronal health links. *Advances in Nutrition*, 7(1), 44–65. <https://doi.org/10.3945/an.115.009639>
 17. Быкова, Т. О., Макарова, Н. В., Шевченко, А. Ф. (2015). Влияние технологии сушки на химический состав и антиоксидантные свойства фруктовых выжимок. *Пищевая промышленность*, 12, 68–70. [Bykova, T. O., Makarova, N. V., Shevchenko, A. F. (2015). The impact of drying technology on chemical composition and antioxidant properties of fruit pomace. *Food Industry*, 12, 68–70. (In Russian)]
 18. Gomes, M., Martinez, M. M. (2018). Fruit and vegetable by-products as novel ingredients to improve the nutritional quality of baked goods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(13), 2119–2135. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1305946>
 19. Алексеев, Е. В., Быстрова, Е. А., Бакуменко, О. Е. (2019). Применение сублимированного порошка брусники при изготовлении мучных кондитерских изделий. *Пищевая промышленность*, 5, 18–21. [Aleksseenko, E. V., Bystrova, E. A., Bakumenko, O. E. (2019). The application of freeze-dried cranberry powder in the flour confectionery production. *Food Industry*, 5, 18–21. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10065>
 20. Захарова, А. С., Козубаева, Л. А., Егорова, Е. Ю. (2019). Мучные кондитерские изделия с брусничкой. *Ползуновский вестник*, 4, 17–20. [Zakharova, A. S., Kozubaeva, L. A., Egorova, E. Yu. (2019). Flour confectionery products with foxberry. *Polzunovskiy Vestnik*, 4, 17–20. (In Russian)]
 21. Меренкова, С. П., Полякова, Е. Л. (2018). Экспериментальное обоснование применения ягодного сырья в технологии обогащенных мучных кондитерских изделий. *Вестник Южно-Уральского государственного университета: пищевые и биотехнологии*, 6(2), 20–29. [Merenkova, S. P., Polyakova, E. L. (2018). Experimental justification of the use of berry raw materials in enriched pastry technology. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology*, 6(2), 20–29. (In Russian)] <https://www.doi.org/10.14529/food180203>
 22. Kırbaş, Z., Kumcuoglu, S., Tavman, S. (2019). Effects of apple, orange and carrot pomace powders on gluten-free batter rheology and cake properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 914–926. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03554-z>
 23. Корячкина, С. Я., Холодова, Е. Н., Корячкин, В. П. (2016). Исследование влияния композиции тонкодисперсных овощных и фруктовых порошков на качество затяжного печенья. *Современная наука и инновации*, 3(15), 121–127. [Koryachkina, S. Ya., Kholodova, E. N., Koryachkin, V. P. (2016). A study of the influence of the composition of fine vegetable and fruit powders on the quality of long biscuits. *Modern Science and Innovations*, 3(15), 121–127. (In Russian)]
 24. Тамазова, С. Ю., Лисовой, В. В., Першакова, Т. В., Казиминова, М. А. (2016). Пищевые добавки на основе растительного сырья, применяемые в производстве хлебобулочных и мучных кондитерских изделий. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*, 122(08), 1099–1116. [Tamazova, S. U., Lisovoi, V. V., Pershakova, T. V., Kazimirova, M. A. (2016). Food supplements based on vegetable raw materials in the production of baked goods and pastries. *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*, 122(08), 1099–1116. (In Russian)] <https://doi.org/10.21515/1990-4665-122-076>
 25. Шабурова, Г. В., Кулькова, Ю. С. (2019). Применение овсяных отрубей и овощного сырья в рецептуре сдобного печенья. *Инновационная техника и технология*, 3(20), 36–41. [Shaburova, G. V., Kulkova, Yu. S. (2019). Application of oat bran and vegetable raw materials in the recipe of good cookies. *Innovative Machinery and Technology*, 20(3), 36–41. (In Russian)]
 26. Tańska, M., Roszkowska, B., Czaplicki, S., Borowska, E. J., Bojarska, J., Dabrowska, A. (2016). Effect of fruit pomace addition on shortbread cookies to improve their physical and nutritional values. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(3), 307–315. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0561-6>
 27. Бакина, А. П., Камоза, Т. Л. (2020). Перспективы использования пюре из мякоти тыквы и джема из ягод красной смородины при производстве зефира. *Вестник КРАСГАУ*, 6, 207–214. [Bakina, A. P., Kamoza, T. L. (2020). The research on the prospects of using pumpkin pulp puree and red currant jam in marshmallow production. *Bulletin of KSAU*, 6, 207–214. (In Russian)] <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-6-207-214>
 28. Табаторович, А. Н., Резниченко, И. Ю. (2019). Обоснование рецептур и оценка качества желеинового мармелада на основе настоя лепестков розеллы (Hibiscus Sabdariffa L.). *Пищевая промышленность*, 5, 66–71. [Tabatovich, A. N., Reznichenko, I. Yu. (2019). Rationale for the formulations and quality assessment of jelly marmalade based on roselle infusion (Hibiscus Sabdariffa L.). *Food Industry*, 5, 66–71. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10075>
 29. Ali, M. R., Mohamed, R. M., Abdelmaksoud, T. G. (2021). Functional strawberry and red beetroot jelly candies rich in fibers and phenolic. *Food Systems*, 4(2), 82–88. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-82-88>
 30. Корячкин, В. П., Евсеев, М. В., Гончаровский, Д. А., Майоров, А. А. (2016). Влияние внесения растительного порошка на реологические свойства пралиновой конфетной массы. *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*, 3(38), 8–12. [Koryachkin, V. P., Evseev, M. V., Goncharovskiy, D. A., Mayorov, A. A. (2016). Influence of ratio of vegetable powders on the rheological properties of praline confectionery mass. *Technology and Merchandising of the Innovative Foodstuff*, 3(38), 8–12. (In Russian)]
 31. Линовская, Н. В., Рысева, Л. И. (2010). Формирование показателей качества кондитерских глазурей. *Пищевая промышленность*, 9, 58–60. [Linovskaya, N. V., Ryseva, L. I. (2010). Forming the quality factors of confectionery glazes. *Food Industry*, 9, 58–60. (In Russian)]
 32. Medina-Torres, L., Sanchez-Olivares, G., Nuñez-Ramirez, D. M., Moren, L., Calderas, F. (2014). Rheological of chocolate-flavored, reduced-calories coating as a function of conching process. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 1421–1427. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1283-0>
 33. Wong, K. Y., Thoo, Y. Y., Tan, Ch. P., Siow, L. F. (2024). Effect of alternative sweetener and carbohydrate polymer mixtures on the physical properties, melting and crystallization behaviour of dark compound chocolate. *Food Chemistry*, 431, Article 137118.
 34. Линовская, Н. В., Рысева, Л. И., Савенкова Т. В. (2014). Возможности моделирования сенсорных свойств молочных шоколадных масс. *Пищевая промышленность*, 12, 53–55. [Linovskaya, N. V., Ryseva, L. I., Savenkova, T. V. (2014). The possibility of modeling the sensory properties of milk chocolate masses. *Food Industry*, 12, 53–55. (In Russian)]
 35. Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., Vieira, J. (2009). Microstructure and mechanical properties related to particle size distribution and composition in dark chocolate. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(1), 111–119. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01677.x>
 36. Toker, O. S., Sagdic, O., Şener, D., Konar, N., Zorlucan, T., Daglıoğlu, O. (2016). The influence of particle size on some physicochemical, rheological and melting properties and volatile compound profile of compound chocolate and coccolin samples. *European Food Research and Technology*, 242, 1253–1266. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2629-1>
 37. Мазукабзова, Э. В., Зайцева, Л. В. (2022). Влияние плодовоовощных порошков на кристаллизационные и реологические свойства кондитерской глазури. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 3, 170–186. [Mazukabzova, E. V., Zaitseva, L. V. (2022). The effect of fruit and vegetable powders on the crystallization and rheological properties of confectionery glaze. *Storage and Processing of Farm Products*, 3, 170–186. (In Russian)] <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.352>
 38. Урубков, С. А., Хованская, С. С., Дрёмина, С. О., Смирнов, С. О. (2018). Анализ химического состава и пищевой сушёных плодов с целью их использования в продуктах детского питания. *Ползуновский вестник*, 3, 62–68. [Urubkov, S. A., Khovanskaya, S. S., Dryomina, S. O., Smirnov, S. O. (2018). Analysis of chemical composition and nutritional value of dried fruits for their use in products of child nutrition. *Polzunovskiy Vestnik*, 3, 62–68. (In Russian)] <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2018.03.011>
 39. Бредичева, О. Ф., Иванова, Э. С., Земцова, Н. В., Родионов, Ю. В. (2023). Разработка хлеба функционального назначения с добавлением растительных экстрактов и растительных порошков. *Наука и образование*, 6(2), статья 137. [Bredishcheva, O. F., Ivanova, E. S., Zemtsova, N. V., Rodionov, Yu. V. (2023). Development of functional bread with the addition of plant extracts and plant powders. *Science and Education*, 6(2), Article 137. (In Russian)]
 40. Afoakwa, E. O. (2016). Chocolate science and technology. John Wiley and Sons, 2016. <https://doi.org/10.1002/9781444319880>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Мазукабзова Элла Витальевна — научный сотрудник, Технологический отдел, Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности 107023, Москва, ул. Электrozаводская, 20/3 Тел.: +7-495-962-17-44 E-mail: e.mazukabzova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2884-6767	Ella V. Mazukabzova, Researcher, Technology Department, Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry 20/3, Elektrozavodskaya str., Moscow, 107023, Russia Tel.: +7-495-962-17-44 E-mail: e.mazukabzova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2884-6767
Критерии авторства	Contribution
Автор имеет единоличное отношение к написанию рукописи и несет ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.	The author declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-276-281>

Поступила 18.04.2024

Поступила после рецензирования 09.06.2024

Принята в печать 12.06.2024

© Свириденко Г. М., Шухалова О. М., Вахрушева Д. С., Мамыкин Д. С., 2024



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

Научная статья

Open access

ФОРМИРОВАНИЕ РИСУНКА СЫРОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОНОВИДОВЫХ КУЛЬТУР

Свириденко Г. М., Шухалова О. М.*, Вахрушева Д. С., Мамыкин Д. С.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

сыры, рисунок, бактериальная закваска, газо-ароматообразующие культуры, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp.

В статье представлены результаты исследования влияния моновидовых газо-ароматообразующих культур *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (*L. diacetylactis*) и *Leuconostoc* subsp. на особенности формирования рисунка в сырах с низкой температурой второго нагревания, формируемых из пласта. Исследуемые культуры использовались в дозе 0,6% от общего объема молока в качестве самостоятельной микрофлоры в модельных сырах (1-М и 2-М) и дополнительной микрофлоры наряду с основной лактококковой микрофлорой (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; *Lactococcus cremoris*) в контрольных сырах (1-К и 2-К). Модельные и контрольные сыры подвергались микробиологическим (общее количество молочнокислых микроорганизмов, количество *L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp.), физико-химическим (массовая доля влаги pH), биохимическим (массовая доля лактозы) и органолептическим исследованиям после прессования и в процессе созревания в возрасте 15, 30, 45, 60 суток. Установлено, что использование культуры цитратсбраживающих лактококков *L. diacetylactis* обеспечивает стабильный молочнокислый процесс во время выработки и созревания модельных и контрольных сыров, формирование эластичной консистенции и искомого рисунка с глазками правильной округлой формы. Применение гетероферментативной культуры *Leuconostoc* subsp. в качестве самостоятельной микрофлоры не гарантирует достижения требуемого уровня молочнокислого брожения во время выработки сыра, приводит к повышению влажности сырной массы после прессования и к пережиранию сыра на первых этапах созревания. Перечисленные факторы способствуют формированию излишне пластичной консистенции и переразвитого рисунка в виде трещин. Использование *Leuconostoc* subsp. как газо-ароматообразующего компонента традиционной закваски для полутвердых сыров, состоящей также из мезофильных лактококков *Lc. lactis* subsp. *lactis* и *Lc. cremoris*, обуславливает развитие гнездовидного рисунка, что в полной мере не обеспечивает формирование желаемого рисунка с правильными округлыми глазками.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2024-0008 ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 18.04.2024

Accepted in revised 09.06.2024

Accepted for publication 12.06.2024

© Sviridenko G. M., Shukhalova O. M., Vakhrusheva D. S., Mamykin D. S., 2024

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

Original scientific article

Open access

FORMATION OF CHEESE PATTERN WHEN USING MONOSPECIES CULTURES

Galina M. Sviridenko, Olga M. Shukhalova,* Darya S. Vakhrusheva, Denis S. Mamykin

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

KEY WORDS:

cheeses, pattern, bacterial starter, gas-aroma-forming cultures, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc* subsp.

ABSTRACT

The article presents the results of a study of the influence of monospecies gas-aroma-forming cultures *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (*L. diacetylactis*) and *Leuconostoc* subsp. on the peculiarities of pattern formation in cheeses with a low second heating temperature molded from a layer. The studied cultures were used at a dose of 0.6% of the total milk volume as as single starter microflora in the model cheeses (1-M and 2-M) and additional microflora along with the main lactococcal microflora (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; *Lactococcus cremoris*) in the control cheeses (1-K and 2-K). The model and control cheeses were subjected to microbiological tests (total number of lactic acid microorganisms, number of *L. diacetylactis* and *Leuconostoc* subsp.), physicochemical (mass fraction of moisture, pH), biochemical (mass fraction of lactose) and organoleptic studies after pressing and during ripening at the age of 15, 30, 45, 60 days. It has been established that the use of a culture of citrate-fermenting lactococci *L. diacetylactis* ensures a stable lactic acid fermentation process during the production and ripening of the model and control cheeses, the formation of an elastic consistency and the desired pattern with eyes of a regular round shape. The use of the heterofermentative culture *Leuconostoc* subsp., as single starter microflora, does not guarantee the required level of lactic acid fermentation during cheese production and leads to an increase in the moisture content of the cheese mass after pressing and overacidification of the cheese in the first stages of ripening, which together contributes to the formation of an overly plastic consistency and an overdeveloped pattern in the form of cracks. The use of *Leuconostoc* subsp. as a gas-aroma-forming component of a traditional starter culture for semi-hard cheeses, also consisting of mesophilic lactococci *Lc. lactis* subsp. *lactis* and *Lc. cremoris*, causes the development of a nest-like pattern, which does not fully ensure the formation of the desired pattern with regular rounded eyes.

FUNDING: The article was prepared as part of research under state assignment No. FGUS-2024-0008 of the the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences.

1. Введение

Во всем мире производится более 1000 различных видов сыра. Они различаются по таким характеристикам, как состав, функциональность, внешний вид, вкус и рисунок [1]. Базовый ассортимент большинства сыродельных предприятий РФ составляют классиче-

ские полутвердые сыры с низкой температурой второго нагревания, формируемые из пласта (голландский, пошехонский, костромской и другие), на долю которых приходится более 65% от выпускаемого объема сыров. Одним из важных параметров качества для данной группы сыров считается рисунок, характеризующийся наличием

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Свириденко, Г. М., Шухалова, О. М., Вахрушева, Д. С., Мамыкин, Д. С. (2024). Формирование рисунка сыров при использовании моновидовых культур. *Пищевые системы*, 7(2), 276–281. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-276-281>

FOR CITATION: Sviridenko, G. M., Shukhalova, O. M., Vakhrusheva, D. S., Mamykin, D. S. (2024). Formation of cheese pattern when using monospecies cultures. *Food Systems*, 7(2), 276–281. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-276-281>

глазков правильной округлой формы. Однако при отклонении от технологии производства и при использовании несоответствующей бактериальной закваски может наблюдаться отсутствие рисунка или формирование глазков неправильной формы и трещин.

Механизм образования глазков представляет собой сложный процесс, который зависит от множества параметров, таких как способ формования, кислотность, реологические свойства сырной массы, температура созревания сыров, вид используемой заквасочной микрофлоры [2]. Под действием газообразующей и ароматообразующей микрофлоры заквасок в результате метаболизма лактозы и цитратов выделяется преимущественно углекислый газ, который накапливается в процессе созревания в пустотах между спрессованными сырыми зернами, раздвигая сырную массу, в результате чего образуются глазки. Формирование глазков в сыре обусловлено избыточным объемом углекислого газа, который не только диффундирует из сыра и растворяется в сырной массе, но и накапливается, образуя пустоты [3,4]. Основная кислотообразующая заквасочная микрофлора выделяет недостаточное количество газа, что приводит к формированию слепого рисунка.

Газоароматообразующая составляющая микрофлоры бактериальных заквасок для сыров с низкой температурой второго нагревания представлена лактококками *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (в дальнейшем — *L. diacetylactis*) и лейконостоками *Leuconostoc lactis* и *Leuconostoc mesenteroides* subsp. (в дальнейшем — *Leuconostoc* subsp.). Эти бактерии образуют углекислый газ и C₄-вкусоароматические соединения за счет метаболизма цитратов и/или гетероферментативного разложения лактозы.

Способность сбраживать соли лимонной кислоты штаммами *L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. — технологически важный показатель в сыроделии, необходимый для формирования специфических органолептических характеристик сыров [5]. Образующие в результате утилизации цитратов диацетил и ацетон придают ферментированному молочным продуктам, в т. ч. сырам, характерный приятный диацетиловый вкус и аромат [6,7], а углекислый газ способствует формированию соответствующего рисунка [8].

Штаммы *L. diacetylactis* содержат ответственные за метаболизм цитратов гены (*citP*, *citQ* и *citR*), кодируемые плазмидой [9,10]. Известно, что способность метаболизировать цитраты и появление кластера *cit* у *L. diacetylactis* отличают biovar *diacetylactis* от других подвилов лактококков [11].

Авторы Manno и др. [6] сообщают, что ферментативное разложение цитратов *L. diacetylactis* проходит через оксалоацетат, пируват и α-ацетоллактат с высвобождением диоксида углерода. Группой ученых из Франции под руководством Laëtitia [11] установлено, что наибольшее влияние на газообразующую активность *L. diacetylactis* оказывает уровень цитратов в среде. Концентрация цитратов в молоке варьируется в зависимости от времени года, от рационов кормления животных и от других факторов и оказывает существенное влияние на обмен веществ газоароматообразующей микрофлоры закваски и на формирование рисунка в сырах. По результатам исследований, проведенных Akkerman и др. [12], установлено, что количество цитратов в молоке подвержено влиянию сезонности и колеблется в интервале от 1,33 г/л до 2,04 г/л. Недостаточное развитие рисунка в сырах, низкая активностью закваски, а также слабое образование газа, летучих кислот, ацетона и диацетила связано с низким содержанием лимоннокислых солей в молоке [12]. Бельгийские ученые Decadt и Vuyst [13] определили, что возможность формирования *L. diacetylactis* необходимого рисунка сыров находится в прямой зависимости от сезонных колебаний качества сырого молока, от температурных режимов производства и от активной кислотности сырной массы. Чем выше концентрация цитратов и температура обработки зерна в пределах диапазонов развития культуры, тем выше газообразующая активность *L. diacetylactis*.

Для производства созревающих сыров наряду с *L. diacetylactis* в качестве основного газоароматообразующего компонента чаще всего используются *Leuconostoc* subsp. [14]. Главным отличием *Leuconostoc* subsp. от *L. diacetylactis* является гетероферментативность сбраживания сахаров, в том числе лактозы, с образованием D (–) лактата, этанола и углекислого газа в качестве основных продуктов энергетического метаболизма [15]. При наличии в закваске *Leuconostoc* subsp. отсутствие цитратов в молоке не ведет к отсутствию рисунка в сыре, поскольку лейконостоки образуют углекислый газ не только из цитратов, но и из лактозы. Причинами потери лейконостоками газообразующей активности могут быть интенсивная посолка сыра в зерне, низкая температура прессования, посолки и созревания [16].

Цель данной работы заключается в установлении влияния моновиовых культур *L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. на особенности

формирования рисунка в сырах с низкой температурой второго нагревания, формируемых из пласта.

В задачи исследований входили:

- сравнительная оценка образования рисунка в модельных сырах под действием заквасочных микроорганизмов видов *L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. как единственных компонентов бактериальной закваски;
- сравнительная оценка образования рисунка в полутвердых сырах, выработанных с использованием в составе поливидовой бактериальной закваски дополнительного компонента, включающего газо-ароматообразующие микроорганизмы: либо *L. diacetylactis*, либо *Leuconostoc* subsp.

□

2. Объекты и методы

Объектами исследования являлись модельные и традиционные сыры.

Модельные сыры — сыры, выработанные в условиях производственного цеха по технологии голландского сыра с использованием в качестве основной микрофлоры моновидовой культуры *L. diacetylactis* (вариант 1-М) или *Leuconostoc* subsp. (вариант 2-М);

Контрольные сыры — сыры, выработанные по технологии голландского сыра с использованием поливидовой бактериальной закваски для полутвердых сыров с низкой температурой второго нагревания. Эта закваска состоит из мезофильных лактококков видов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus cremoris* и из газо-ароматообразующего компонента *L. diacetylactis* (вариант 1-К) или *Leuconostoc* subsp. (вариант 2-К).

В данном исследовании использовались культуры молочнокислых микроорганизмов из промышленной коллекции микроорганизмов экспериментальной биофабрики ВНИИМС.

Видовой состав заквасочной микрофлоры и применяемые дозы бактериальных заквасок для сыров представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Видовой состав заквасочной микрофлоры сыров

Table 1. Species composition of cheese starter microflora

Вар	Основной кислотообразующий компонент		Моновидовой газо-ароматообразующий компонент	
	видовой состав	доза, %	видовой состав	доза, %
1-М*	–	–	<i>L. diacetylactis</i>	0,6
2-М*	–	–	<i>Leuconostoc</i> subsp.	0,6
1-К*	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>Lc. cremoris</i>	0,4	<i>L. diacetylactis</i> .	0,6
2-К*			<i>Leuconostoc</i> subsp	0,6

Примечание: *М — модельный сыр; К — контрольный сыр.

Выработки сыров проводились в производственном цехе ВНИИМС (Углич, Ярославская область). Сырьем для производства сыров служило сырое коровье молоко ООО «АгриВолга», Ярославская область, Угличский район, д. Бурмасово, Россия), соответствующее общим критериям безопасности и специфическим показателям сыропригодности.

Сыры вырабатывались по единой технологической схеме производства полутвердого сыра голландский с массовой долей жира в сухом веществе 45% из молока, пастеризованного при температуре (72±1) °С с выдержкой (20–25) секунд. В подготовленную к свертыванию смесь при температуре (31±1) °С вносили производственную закваску в дозах, указанных в Таблице 1, а также молокосвертывающий сычужный ферментный препарат (Завод эндокринных ферментов, г. Москва). Дозу фермента определяли перед внесением с помощью кружки ВНИИМС, исходя из оценки сыропригодных свойств молока.

Продолжительность свертывания смеси — (35±5) минут. После постановки зерно вымешивалось (23±1) минуты до начала второго нагревания. Готовность зерна ко второму нагреванию определяли, оценивая его по плотности, упругости и форме. Температура второго нагревания составила (40±1) °С, время выдержки — (30±1) минут. Сыр формовался из пласта. Масса головки после прессования — (5,0±0,2) кг. После прессования сыры солились в рассоле с концентрацией (18–20)% при температуре (11±1) °С. Продолжительность посолки составила (23±1) часа. После посолки и обсушки сыры помещались в камеру созревания с температурой воздуха (11±1) °С на 60 суток.

Сыры после прессования и в процессе созревания в возрасте 15, 30, 45, 60 суток подвергались микробиологическим, физико-химическим, биохимическим исследованиям.

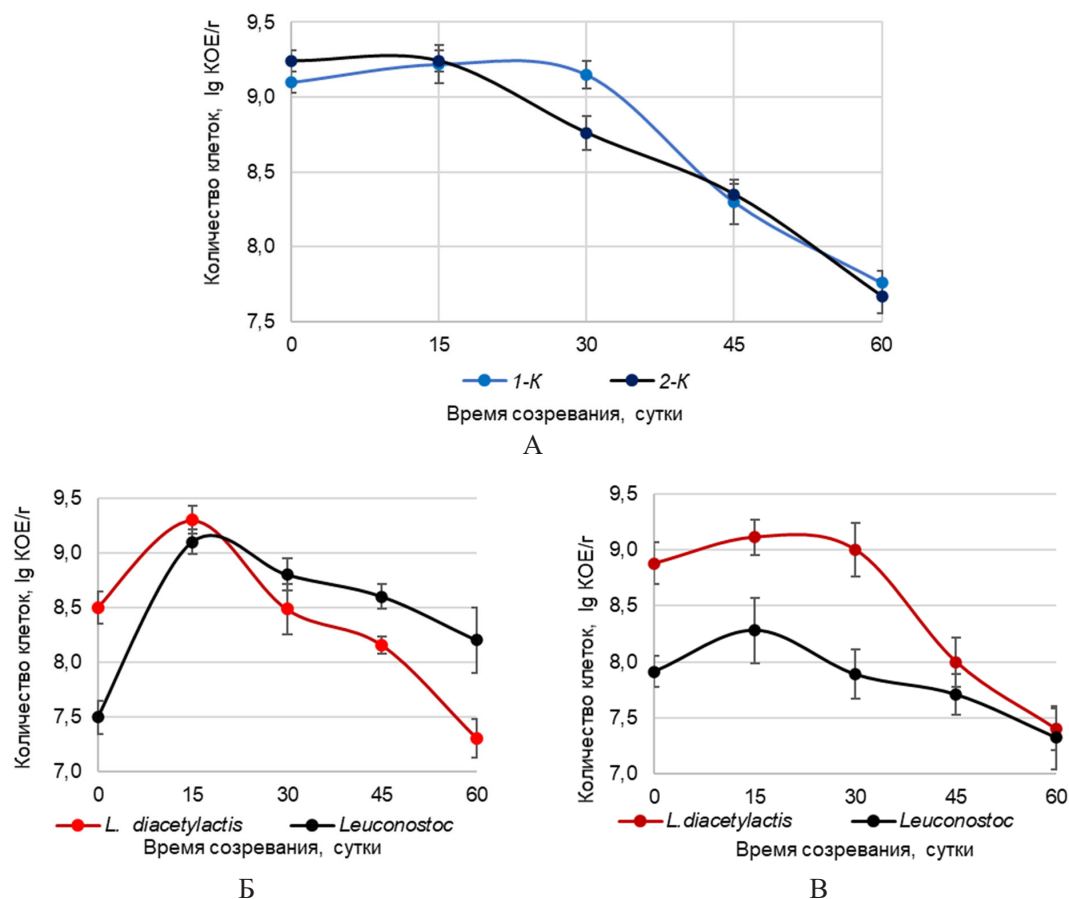


Рисунок 1. Динамика развития кислотообразующей микрофлоры в контрольных сырах (А) и газо- и ароматообразующей микрофлоры в модельных (Б) и контрольных (В) сырах
Figure 1. Dynamics of development of acid-forming microflora in control cheeses (A) and gas- and aroma-forming microflora in model (B) and control (B) cheeses

Общее количество молочнокислых микроорганизмов выявляли путем посева на твердую питательную среду для определения молочнокислых микроорганизмов по ГОСТ 33951–2016¹.

Количество цитратсбраживающих молочнокислых бактерий (*L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp.) устанавливали путем посева на питательную среду с цитратом кальция по ГОСТ 34372–2017². Метод основан на способности цитратсбраживающих микроорганизмов при развитии на плотных питательных средах с цитратом кальция в течение 48–72 ч. при температуре $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ образовывать зоны просветления вокруг колоний.

В модельных и традиционных сырах в процессе созревания в период до 15 суток рассчитывали кинетические параметры роста (скорость деления (v), время генерации (g) и количество клеточных делений (n)) исследуемых микроорганизмов *L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. Расчеты проводились по формулам:

$$V = \lg N - \lg N_0 / \lg 2 \times (t - t_0) \quad (1)$$

где V — константа скорости деления; N и N_0 — количество клеток в момент времени; t и t_0 — продолжительность логарифмической фазы роста культуры.

$$g = 1 / V \quad (2)$$

где g — время генерации; V — константа скорости деления.

$$n = \frac{\lg N - \lg N_0}{\lg 2} \quad (3)$$

где n — количество клеточных делений; N и N_0 — количество клеток в момент времени.

Активную кислотность в сыре определяли по ГОСТ 32892–2014³.

¹ ГОСТ 33951–2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов». — М.: Стандартинформ, 2016. — 10 с.

² ГОСТ 34372–2017 «Закваски бактериальные для производства молочной продукции. Общие технические условия». — М.: Стандартинформ, 2018. — 18 с.

³ ГОСТ 32892–2014 «Молоко и молочная продукция. Метод измерения активной кислотности». — М.: Стандартинформ, 2015. — 10 с.

Массовую долю влаги в сыре рассчитывали по ГОСТ Р 55063–2012⁴. Определение массовой доли лактозы в сыре осуществляли с использованием метода капиллярного электрофореза⁵.

Подготовленную анализируемую пробу продукта помещали в устройство ввода проб системы капиллярного электрофореза и проводили измерения в соответствии с руководством по эксплуатации.

Консистенцию и рисунок сыров в возрасте кондиционной зрелости (60 суток) оценивали органолептически. Образцы перед оценкой были закодированы. Экспертная комиссия состояла из пяти квалифицированных отобранных дегустаторов и двух экспертов-дегустаторов.

Исследования проводились не менее чем в 3-кратной повторности. Математическую обработку результатов и построение графиков осуществляли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2010. Для попарного сравнения выборок и оценки статистически значимых различий между образцами применяли HSD тест (критерий Тьюки). Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

Образование искомого рисунка, типичного для конкретного вида сыра, зависит от характера и интенсивности протекания микробиологических процессов. На Рисунке 1 представлена динамика изменения общего количества жизнеспособных клеток кислотообразующей, газо-ароматообразующей микрофлоры в процессе созревания модельных и традиционных сыров.

В процессе созревания как традиционных, так и модельных сыров максимальное количество кислотообразующей микрофлоры (Рисунок 1А), а также газо-ароматообразующей микрофлоры (Рисунок 1Б и 1В) наблюдалось на 15 сутки созревания. К 20 суткам количество жизнеспособных клеток снижалось, и к концу периода созревания клеточная популяция уменьшилась в несколько раз.

⁴ ГОСТ Р 55063 — 2012 «Сыры и сыры плавленые. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». — М.: Стандартинформ, 2013. — 28 с.

⁵ ГОСТ 33527–2015 Молочные и молочные составные продукты для детского питания. Определение массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза. — М.: Стандартинформ, 2015. — 12 с.

Динамика роста *L. diacetylactis* в модельных и контрольных сырах происходила идентично и не имела статистически значимых различий ($>0,05$): максимальное значение количества жизнеспособных клеток составило $(1,8 \pm 0,5) \times 10^9$ КОЕ/г.

В модельных сырах (2-М) увеличение количества жизнеспособных клеток *Leuconostoc subsp.* в процессе созревания до 15 суток происходило интенсивнее, чем в контрольных (2-К). Подавление развития *Leuconostoc subsp.* в контрольных сырах в сравнении с модельными сырами, вероятно, связано с явлением неспецифического антагонизма, возникающего между лейконостоком и лактококками, которые являются преобладающей микрофлорой контрольных сыров.

Для объективной оценки роста и развития *L. diacetylactis* и *Leuconostoc subsp.* в процессе созревания модельных и контрольных сыров проведены расчеты кинетических параметров экспоненциального роста культур. Данные показатели определялись для периода наиболее интенсивного роста культур (до 15 суток), поскольку, по данным *Остроумова Л. А.*, в полутвердом сыре глазки образуются на начальном периоде созревания и в 15–20-суточном возрасте, как правило, сыр уже имеет выраженный рисунок [17]. Результаты расчета кинетических параметров представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Кинетические параметры экспоненциального роста культур *L. diacetylactis* и *Leuconostoc subsp.* за 15 суток созревания в модельных и контрольных сырах

Table 2. Kinetic parameters of the exponential growth of the cultures of *L. diacetylactis* and *Leuconostoc subsp.* for 15 days of ripening in the model and control cheeses

Вид МКМ		ν , час ⁻¹	g, час	n, час
<i>L. diacetylactis</i>	1-М	$0,18 \pm 0,01_a$	$5,64 \pm 0,06_a$	$2,66 \pm 0,16_a$
	1-К	$0,07 \pm 0,02_b$	$13,05 \pm 0,02_b$	$1,09 \pm 0,12_b$
<i>Leuconostoc subsp.</i>	2-М	$0,36 \pm 0,02_c$	$2,80 \pm 0,12_c$	$5,34 \pm 0,13_c$
	2-К	$0,08 \pm 0,01_b$	$12,90 \pm 0,16_b$	$1,16 \pm 0,11_b$

Примечание: данные, отмеченные одинаковым индексом внутри одного столбца, не имеют статистически значимых отличий ($p > 0,05$).

Установлено, что кинетические параметры роста и развития *L. diacetylactis* и *Leuconostoc subsp.*, оцениваемые по показателям скорости деления, по времени генерации и по количеству клеточных генераций, в модельных и контрольных сырах имели статистически значимые различия. В модельных сырах скорость развития и количество клеточных генераций жизнеспособных клеток выше, чем в контрольных, что, возможно, связано с отсутствием в составе микрофлоры модельных сыров других кислотообразующих микроорганизмов видов *Lc. lactis subsp. lactis* и *Lc. cremoris*.

Формирование рисунка зависит не только от видового состава заквасочных микроорганизмов и от динамики микробиологических процессов, но и от физико-химических свойств и реологических показателей сыров [18]. Для образования глазков одним из ключевых факторов является кислотность сырной массы [16]. Наиболее важным фактором, определяющим последующее развитие биохимических процессов созревания сыров, в частности, формирование глазков, является минимальное значение pH (Рисунок 2), которое устанавливается после сбраживания молочного сахара.

Традиционные сыры характеризовались снижением активной кислотности до 15 суток созревания (Рисунок 2Б), затем pH сыров

плавно повышался до среднего значения ($5,37 \pm 0,02$) ед. pH. Постепенное увеличение значений pH после 15 суток созревания сыров связано с накоплением щелочных продуктов расщепления белковых соединений. Данная закономерность изменения активной кислотности прослеживается практически у всех созревающих сыров и была описана ранее в трудах *Климовского* [19] и *Горбатовой* [20], а также в обзоре *Johnson* [21]. Исследования *Li* и др. [22] показывают аналогичные результаты изменения pH в процессе созревания сыра.

В модельных сырах минимальное значение активной кислотности зафиксировано на 30 сутки созревания. В данных сырах к концу срока созревания значимого повышения pH не наблюдалось. Более высокое значение активной кислотности в модельных сырах после прессования варианта 2-М, выработанный с добавлением *Leuconostoc subsp.*, связано с недостаточно интенсивным молочнокислым процессом во время выработки, что повлияло на синерезис и обработку сырного зерна. *Fox* с соавторами [23] показал, что снижение интенсивности синерезиса оказывает негативное влияние на формирование сырной массы.

Точка минимального значения активной кислотности совпадала с завершением процесса молочнокислого брожения, что косвенно подтверждается данными о содержании остаточной лактозы (Таблица 3).

Таблица 3. Массовая доля лактозы в сырах в процессе созревания

Table 3. Mass fraction of lactose in the cheeses during ripening

Образец	Массовая доля, %	
	лактоза	влага
После прессования		
1-М	$1,31 \pm 0,06_a$	$48,9 \pm 0,6_a$
2-М	$1,98 \pm 0,07_b$	$58,0 \pm 0,6_b$
1-К	$1,16 \pm 0,05_c$	$48,0 \pm 0,5_a$
2-К	$1,20 \pm 0,04_c$	$48,4 \pm 0,3_a$
Сыр 15 суток		
1-М	$0,34 \pm 0,05_a$	$44,4 \pm 0,7_a$
2-М	$0,50 \pm 0,05_b$	$48,8 \pm 0,3_b$
1-К	—	$44,9 \pm 0,5_a$
2-К	—	$45,2 \pm 0,3_a$
Сыр 30 суток		
1-М	—	$43,6 \pm 0,4_a$
2-М	—	$44,8 \pm 0,5_a$
1-К	—	$43,7 \pm 0,2_a$
2-К	—	$44,0 \pm 0,4_a$
60 суток		
1-М	—	$42,4 \pm 0,5_a$
2-М	—	$43,2 \pm 0,3_a$

Примечание: данные, отмеченные одинаковым индексом внутри конкретной точки контроля, не имеют статистически значимых отличий ($p > 0,05$).

Анализ гликолиза по остаточному количеству лактозы показал, что интенсивность сбраживания лактозы в процессе выработки и на первых этапах созревания традиционных сыров была на достаточно

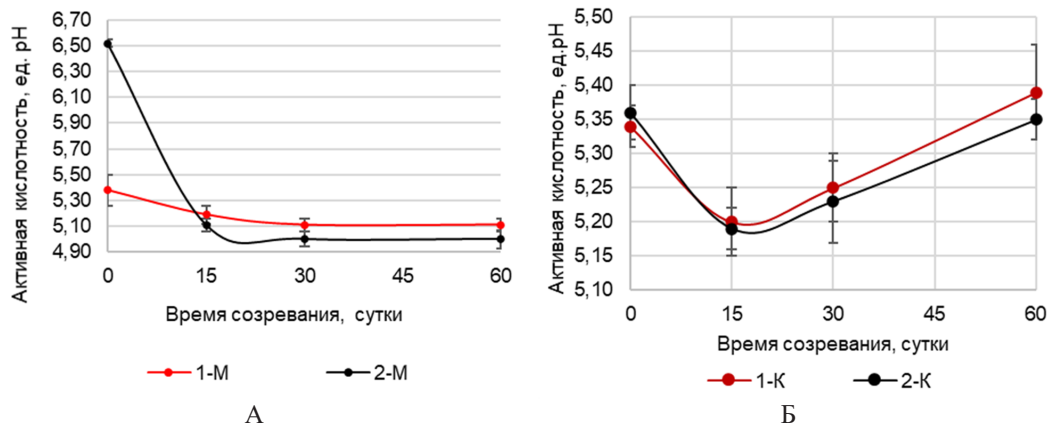


Рисунок 2. Динамика активной кислотности в сырах в процессе созревания А — модельных; Б — контрольных
Figure 2. Dynamics of active acidity in cheeses during ripening A — model; B — control

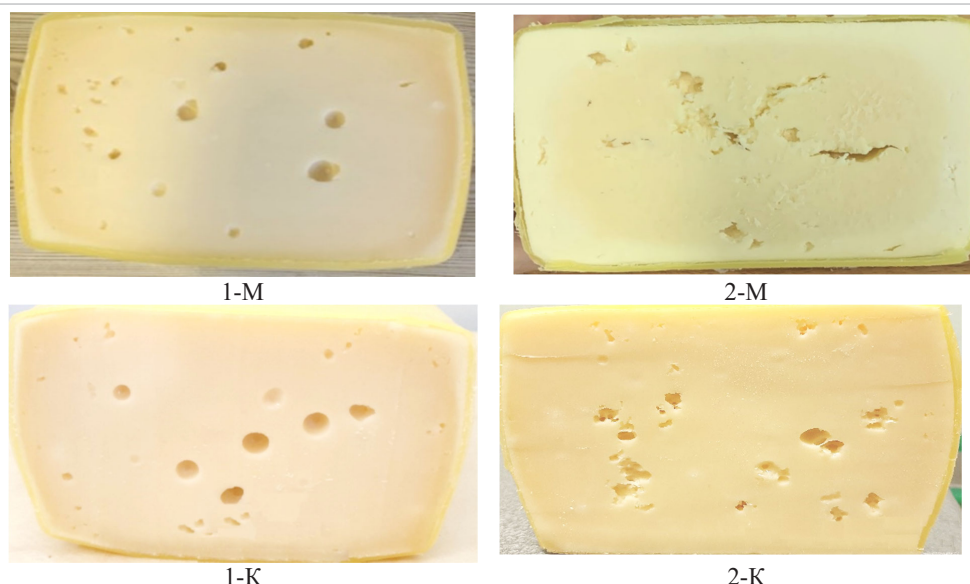


Рисунок 3. Фотографии экспериментальных сыров в возрасте кондиционной зрелости
Figure 3. Photos of experimental aged cheeses standard maturity

высоком уровне — в вариантах 1-К и 2-К отмечено полное сбраживание лактозы уже в возрасте 15 суток.

В отличие от контрольных, в модельных сырах уровень остаточной лактозы после прессования несколько выше, а полное ее сбраживание зафиксировано после 15 суток созревания. Модельные сыры, выработанные на основе *Leuconostoc* subsp. (2-М), отличались достижением более низких значений активной кислотности ($5,00 \pm 0,07$) (Рисунок 2А), что вызвано повышенным содержанием влаги (Таблица 3) в начальный период созревания. В свою очередь, в модельных сырах, выработанных на основе моновидовой бактериальной закваски *L. diacetylactis*, и в контрольных сырах массовая доля влаги соответствовала требуемому уровню по ГОСТ 32260–2013⁶.

Известно, что влажность сырной массы в значительной степени предопределяет ее структурно-механические характеристики. При отклонении данного показателя от регламентируемых значений возникает высокая вероятность появления органолептических дефектов, в т. ч. рисунка.

Повышенное содержание массовой доли влаги в модельных сырах, выработанных с использованием моновидовой культуры *Leuconostoc* subsp. (2-М), и последующее переокисление сырной массы на этапе созревания закономерно привели к формированию несвязной, мажущей, излишне пластичной консистенции и, как следствие, к образованию трещин (Рисунок 3). Известно, что при значительном накоплении молочной кислоты происходит деминерализация параказеинаткальцийфосфатного комплекса (ПККФК), т. е. отщепление коллоидного фосфата кальция. Снижение доли коллоидного кальция способствует чрезмерному размягчению казеиновой сетки сыра и формированию несвязной крошливой консистенции, образованию самокола, а также мелких и крупных трещин [24].

На формирование переразвитого рисунка, состоящего из деформированных глазков и трещин, оказывают влияние не только физико-химические и реологические показатели сырной массы, но и активная газообразующая способность гетероферментативной культуры *Leuconostoc* subsp., которая являлась единственной заквасочной микрофлорой модельных сыров (2-М).

Вместе с тем в сырах с *Leuconostoc* subsp. на протяжении всего срока созревания отмечался неравномерно окрашенный цвет сырного теста с более выраженным центром, что являлось пороком при оценке качественных показателей сыров.

Контрольные сыры с добавлением *Leuconostoc* subsp. (2-К) имели гнездовидный рисунок с глазками правильной и неправильной формы.

Сыры, выработанные с *L. diacetylactis* (1-М и 1-К), имели глазки правильной округлой формы. Консистенция сыров на протяжении всего периода созревания характеризовалась как эластичная, а физико-химические показатели варьировались в пределах нормы. Таким образом, характер протекания микробиологических, физико-химических и биохимических процессов под действием культуры *L. diacetylactis* обусловило развитие искомого рисунка, характерного для полутвердых сыров, формуемых из пласта.

Результаты данного исследования позволяют прогнозировать влияние мезофильных газо- и ароматообразующих микроорганизмов *L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. на формирование рисунка в сырах, формуемых из пласта, и оценить риски возникновения пороков консистенции и внешнего вида. Необходимы дальнейшие исследования для определения оптимального соотношения кислотообразующих и газообразующих молочнокислых микроорганизмов в составе закваски для сыров с низкой температурой второго нагревания.

4. Выводы

В результате проведенных исследований и оценки влияния культур *L. diacetylactis* и *Leuconostoc* subsp. на формирование рисунка в сырах с низкой температурой второго нагревания, формуемых из пласта, получены следующие данные:

- использование *L. diacetylactis* как в качестве основной микрофлоры в модельных сырах, так и в качестве дополнительной культуры наряду с основной закваской, состоящей из мезофильных лактококков *Lc. lactis* subsp. *lactis* и *Lc. cremoris* приводит к формированию в сырах рисунка с глазками правильной округлой формы;
- применение гетероферментативной культуры *Leuconostoc* subsp. в качестве самостоятельной микрофлоры в модельных сырах не обеспечивает достаточно интенсивный уровень молочнокислого брожения во время выработки сыра, что способствует повышению влажности сырной массы после прессования и переокислению сыра на первых этапах созревания, что ведет к формированию переразвитого рисунка в виде трещин;
- традиционная закваска, состоящая из основной кислотообразующей микрофлоры *Lc. lactis* subsp. *lactis* и *Lc. cremoris* и газо-ароматообразующего компонента в виде культуры *Leuconostoc* subsp., обеспечивает достаточный уровень молочнокислого процесса на этапах производства сыра, но не позволяет получить рисунок с правильными круглыми глазками.

⁶ ГОСТ 32260–2013 «Сыры полутвердые. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2015. — 18 с.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК /REFERENCES

1. McSweeney, P. L. H., Ottogalli, G., Fox, P. F. (2004). Diversity of cheese varieties: An overview. Chapter in a book: Cheese: chemistry, physics and microbiology (Vol.2). Elsevier, 2004. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80037-X](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80037-X)
2. Fröhlich-Wyder, M.-T., Bisig, W., Guggisberg, D, Jakob, E., Turgay, M., Wechsler, D. (2017). Cheeses with propionic acid fermentation. Chapter in a book: Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00035-1>

3. Guggisberg, D., Schuetz, P., Winkler, H., Amrein, R., Jakob, E., Fröhlich-Wyder, M. T. et al. (2015). Mechanism and control of eye formation in cheese. *International Dairy Journal*, 47, 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.03.001>
4. Fröhlich-Wyder, M. T., Guggisberg, D., Bisig, W., Jakob, E., Schmidt, R. S. (2023). The total eye volume of cheese is influenced by different fat-levels. *International Dairy Journal*, 144, Article 105690. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105690>
5. Гудков, А. В. (2004). Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. М.: ДеЛи принт, 2004. [Gudkov, A. V. (2004). Cheese making: Technological, biological and physico-chemical aspects. Moscow: DeLi print, 2004. (In Russian)]
6. Manno, M. T., Zulian, F., Alarcon, S., Esteban, L., Blancato, V., Esparis, M. et al. Magni, S. (2018). Genetic and phenotypic features defining industrial relevant *Lactococcus lactis*, *L. cremoris* and *L. lactis* biovar. *diacetylactis* strains. *Journal of Biotechnology*, 282, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.345>
7. Decadt, H., Weckx, S., De Vuyst, L. (2024). The microbial and metabolite composition of Gouda cheese made from pasteurized milk is determined by the processing chain. *International Journal of Food Microbiology*, 412, Article 110557 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110557>
8. Clark, S., Winter, K. K. (2015). Diacetyl in foods: A review of safety and sensory characteristics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 634–643. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12150>
9. Smith, M. R., Hugenoltz, J., Mikóchi, P., de Ree, E., Bunch, A. W., de Bont, J. A. M. (1992). The stability of the lactose and citrate plasmids in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. *FEMS Microbiology Letters*, 96(1), 7–11. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05385.x>
10. Van Mastrigt, O., Di Stefano, E., Hartono, S., Abi, T., Smid, E. J. (2018). Large plasmidome of dairy *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* FM03P encodes technological functions and appears highly unstable. *BMC Genomics*, 19, 1–19 Article 620. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5005-2>
11. Laëtita, G., Pascal, D., Yann, D. (2014). The citrate metabolism in homo- and heterofermentative LAB: A selective means of becoming dominant over other microorganisms in complex ecosystems. *Food and Nutrition Sciences*, 5(10), 953–969. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.510106>
12. Akkerman, M., Larsen, L. B., Sørensen, J., Poulsen, N. A. (2019). Natural variations of citrate and calcium in milk and their effects on milk processing properties. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 6830–6841. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16195>
13. Decadt, H., De Vuyst, L. (2023). Insights into the microbiota and defects of present-day Gouda cheese productions. *Current Opinion in Food Science*, 52, Article 101044. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101044>
14. Dusterhöft, E. M., Engels, W., Huppertz, T. (2017). Dutch-Type Cheeses. Chapter in a book: *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*. John Wiley and Sons, Ltd., 2018. <https://doi.org/10.1002/9781119046165.ch5>
15. van Mastrigt, O., Egas, R. A., Abee, T., Smid, E. J. (2019). Aroma formation in retentostat co-cultures of *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc mesenteroides*. *Food Microbiology*, 82, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.016>
16. Силаева, В. М., Жидких, К. В. (2011). Гарантия рисунка в сырах с низкой температурой второго нагревания. *Переработка молока*, 12, 19–23. [Silayeva, V.M., Zhidkikh, K.V. (2011). Assurance of pattern in cheeses with low temperature of second heating. *Milk Processing*, 12, 19–23. (In Russian)]
17. Остроумов, Л. А., Майоров, А. А., Николаева, Е. А. (2009). Динамика образования рисунка в сырах. *Техника и технология пищевых производств*, 3, 19а–23. [Ostroumov, L. A., Mayorov, A. A., Nikolayeva, Ye. E. A. (2009). Dynamics of formation of figure in cheeses. *Food Processing: Techniques and Technology*, 3, 19а–23. (In Russian)]
18. Bansal, V., Veena, N. (2024). Understanding the role of pH in cheese manufacturing: General aspects of cheese quality and safety. *Journal of Food Science and Technology*, 61, 16–26. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05631-w>
19. Климовский, И. И. (1966). Биохимические и микробиологические основы производства сыра. М.: Пищевая промышленность. 1966. [Klimovskiy, I. I. (1966). Biochemical and microbiological foundations of cheese production. Moscow: Food Industry, 1966. (In Russian)]
20. Горбатова, К. К. (1984). Биохимия молока и молочных продуктов. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. [Gorbatova, K. K. (1984). Biochemistry of milk and dairy products. Moscow: Light and Food Industry, 1984. (In Russian)]
21. Johnson, M. E. (2017). A 100-Year Review: Cheese production and quality. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9952–9965. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12979>
22. Li, L., Chen, H., Lü, X., Gong, J., Xiao, G. (2022). Effects of papain concentration, coagulation temperature, and coagulation time on the properties of model soft cheese during ripening. *LWT*, 161, Article 113404. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113404>
23. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. (2017). Enzymatic Coagulation of Milk. Chapter in a book: *Fundamentals of Cheese Science*. Springer, Boston, MA, 2017. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_7
24. Lamichhane, P., Auty, M. A. E., Kelly, A. L., Sheehan, J. J. (2020). Dynamic in situ imaging of semi-hard cheese microstructure under large-strain tensile deformation: Understanding structure-fracture relationships. *International Dairy Journal*, 103, Article 104626. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104626>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Свириденко Галина Михайловна — доктор технических наук, главный научный сотрудник, руководитель направления микробиологических исследований молока и молочных продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоседеления и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-485-325-48-64 E-mail: g.sviridenko@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9586-3786 * автор для контактов	Galina M. Sviridenko, Doctor of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of Research Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-325-48-64 E-mail: g.sviridenko@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1231-8388 * corresponding author
Шухалова Ольга Михайловна — младший научный сотрудник, отдел микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоседеления и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-485-329-81-52 E-mail: o.shukhalova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7665-8517	Olga M. Shukhalova, Junior Researcher, Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-329-81-52 E-mail: o.shukhalova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7665-8517
Вахрушева Дарья Сергеевна — младший научный сотрудник, отдел микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоседеления и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-485-329-81-52 E-mail: d.vakhrusheva@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4687-0960	Darya S. Vakhrusheva, Junior Researcher, Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-329-81-52 E-mail: d.vakhrusheva@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4687-0960
Мамыкин Денис Станиславович — младший научный сотрудник, отдел микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоседеления и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-485-329-81-52 E-mail: d.mamykin@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2145-1439	Denis S. Mamykin, Junior Researcher, Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-329-81-52 E-mail: d.mamykin@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2145-1439
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-282-287>

Поступила 27.04.2024

Поступила после рецензирования 13.06.2024

Принята в печать 17.06.2024

© Вафин Р. Р., Михайлова И. Ю., Агейкина И. И., 2024

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

Научная статья

Open access

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ГЕНОИДЕНТИФИКАЦИИ ЧАЙНОГО СЫРЬЯ И СЫРЬЕВОГО СОСТАВА БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ НА ОСНОВЕ ЧАЯ

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

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

Camellia sinensis,
чай, напитки, SNPs,
ДНК-маркеры,
ПЦР, ПДРФ,
секвенирование,
геноидентификация

Чай, чайный куст, или камелия китайская — растение вида *Camellia sinensis*, листья которого, предварительно подготовленные специальным образом, являются традиционным сырьем для производства чайной продукции. Сортотиповая геноидентификация чая позволяет повысить уровень оценки подлинности чайного сырья и чайной продукции. Она преимущественно базируется на ДНК-технологиях детекции и интерпретации SNP-маркеров (Single Nucleotide Polymorphism — однонуклеотидный полиморфизм), представленных широким арсеналом как дорогостоящих высокотехнологичных методов, так и общедоступных лабораторных подходов. Видовая геноидентификация сырьевого состава безалкогольных напитков на основе чая является не менее важным направлением исследования в связи с риском фальсификации данного вида продукции. Цель настоящего исследования заключалась в изыскании методологических подходов к сортотиповой геноидентификации чайного сырья и к видовой геноидентификации сырьевого состава безалкогольных напитков на основе чая. В результате проведенного биоинформационного исследования по выявлению полиморфных сайтов рестрикции в нуклеотидных последовательностях локусов генома *Camellia sinensis* были подобраны диагностически значимые рестриктазы, способные к детекции SNPs и к идентификации генотипов чая по анализируемым маркерам. При этом потенциалом практического применения обладали 16 локусов, из которых 11 относились к группе наиболее информативных SNP-маркеров. С ними и была проведена постаналитическая оценка сортов чая на предмет их генотипической принадлежности и идентифицируемости в рамках решения первой задачи исследования. Для реализации второй задачи был протестирован молекулярно-генетический подход к видовой идентификации сырьевого состава безалкогольных напитков на основе зеленого чая. Исследование включало анализ экспериментальных напитков (с натуральным ароматизатором «Лимон» и синтетическим ароматизатором «Персик 716»), а также коммерческих концентратов «ТИАКВА» (на основе экстрактов из огрубелых стеблей зеленого или черного чая). В работе использовались методы ПЦР (полимеразная цепная реакция), ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) и прямого секвенирования амплифицированного локуса хлоропластной ДНК. Сочетание двух методов (ПЦР и секвенирование) показало свою эффективность в установлении принадлежности анализируемых образцов нуклеиновых кислот к виду *Camellia sinensis* — сырьевой основы исследованных напитков и концентратов. Однако для раскрытия аутентификационного потенциала ПЦР с праймерами #1 и #2, совмещенного с ПДРФ-анализом, потребуется подбор диагностически значимых рестриктаз, пригодных для генерации видоспецифичных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей маркерной последовательности.

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.

БЛАГОДАРНОСТЬ: Авторы статьи выражают благодарность ведущим инженерам-исследователям лаборатории технологии безалкогольных напитков и минеральных вод ВНИИПБиВП — филиала ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, кандидату технических наук Соболевой Ольге Александровне и Ковалевой Ирине Львовне за предоставленные для исследования образцы приготовленных ими экспериментальных безалкогольных напитков на основе зеленого чая с натуральным ароматизатором «Лимон» и синтетическим ароматизатором «Персик 716».

Received 27.04.2024

Accepted in revised 13.06.2024

Accepted for publication 17.06.2024

© Vafin R. R., Mikhailova I. Yu., Ageykina I. I., 2024

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

Original scientific article

Open access

METHODOLOGICAL APPROACHES TO GENE IDENTIFICATION OF TEA RAW MATERIALS AND RAW MATERIAL COMPOSITION OF TEA-BASED SOFT DRINKS

Ramil R. Vafin,* Irina Yu. Mikhailova, Irina I. Ageykina

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

KEY WORDS:

Camellia sinensis, tea,
drinks, SNPs, DNA
markers, PCR, RFLP,
sequencing, gene
identification

ABSTRACT

Tea or tea shrub is a plant of the *Camellia sinensis* species, the leaves of which, previously prepared in a special way, are the traditional raw material for the production of tea products. Varietal gene identification of tea allows us to increase the level of assessment of the authenticity of tea raw materials and tea products. It is predominantly based on DNA technologies for the detection and interpretation of SNP markers (Single Nucleotide Polymorphism), represented by a wide arsenal of both expensive high-tech methods and publicly available laboratory approaches. Species gene identification of the raw material composition of tea-based soft drinks is an equally important area of research due to the risk of falsification of this type of product. The purpose of this study was to find methodological approaches to the varietal gene identification of tea raw materials and to the

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Вафин, Р. Р., Михайлова, И. Ю., Агейкина, И. И. (2024). Методологические подходы к геноидентификации чайного сырья и сырьевого состава безалкогольных напитков на основе чая. *Пищевые системы*, 7(2), 282–287. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-282-287>

FOR CITATION: Vafin, R. R., Mikhailova, I. Yu., Ageykina, I. I. (2024). Methodological approaches to gene identification of tea raw materials and raw material composition of tea-based soft drinks. *Food Systems*, 7(2), 282–287. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-282-287>

species gene identification of the raw material composition of tea-based soft drinks. As a result of a bioinformatics study to identify polymorphic restriction sites in the nucleotide sequences of *Camellia sinensis* genome loci, diagnostically significant restriction enzymes were selected that were capable of detecting SNPs and identifying tea genotypes using the analyzed markers. At the same time, 16 loci had potential for practical application, of which 11 belonged to the group of the most informative SNP markers. A post-analytical assessment of tea varieties was carried out with them regarding their genotypic affiliation and identifiability as part of solving the first task of the study. To achieve the second task, a molecular genetic approach to the species identification of the raw composition of soft drinks based on green tea was tested. The study included the analysis of experimental drinks (with natural flavoring “Lemon” and synthetic flavoring “Peach 716”), as well as commercial concentrates “ТИАКВА” (based on extracts from the coarse stems of green or black tea). The methods used in the work were PCR (Polymerase Chain Reaction), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) and direct sequencing of the amplified chloroplast DNA locus. The combination of two methods (PCR and sequencing) showed its effectiveness in establishing the belonging of the analyzed nucleic acid samples to the *Camellia sinensis* species, the raw material base of the studied drinks and concentrates. However, to unlock the authentication potential of PCR with primers #1 and #2 combined with RFLP analysis, it will be necessary to select diagnostically significant restriction enzymes suitable for generating species-specific combinations of PCR-RFLP profiles of marker sequence.

FUNDING: The work was carried out within the framework of the Federal program “Scientific substantiation of 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.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors of the article express their gratitude to the leading research engineers of the laboratory of technology of soft drinks and mineral waters of VNIIPBiVP — a branch of the Federal Scientific Center for Food Systems named after V. M. Gorbatoва RAS, Candidate of Technical Sciences Soboleva Olga Aleksandrovna and Kovaleva Irina Lvovna for providing for research samples of experimental soft drinks they prepared based on green tea with natural flavoring “Lemon” and synthetic flavoring “Peach 716”.

1. Введение

Чай, чайный куст, или камелия китайская — растение вида *Camellia sinensis*, культивируемое для производства чая. Чай в качестве напитка получают путем заваривания листа, предварительно подготовленного специальным образом [1].

Геноидентификация сортов чая играет ключевую роль в маркер-ориентированной селекции. Она позволяет определить сортовую принадлежность и генетическую чистоту, что обеспечивает более точную оценку подлинности чайного сырья и чайной продукции. Геноидентификация также способствует распознаванию фальсификата и контрафакта [2].

Современный молекулярный анализ генетического разнообразия и сортовой идентификации чая преимущественно строится на ДНК-технологии детекции и интерпретации SNP-маркеров [3]. SNP-маркеры призваны постепенно вытеснить традиционные маркеры RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA — случайно амплифицированная полиморфная ДНК) [4] и SSR (Simple Sequence Repeats — простые повторяющиеся последовательности) [5]. Это обусловлено конкурентными преимуществами SNP-маркеров, в частности, более высоким уровнем информативности генотестирования [6].

Арсенал молекулярно-генетических подходов к детекции SNPs представлен как дорогостоящими высокотехнологичными методами, так и общедоступными лабораторными способами. Первые базируются на низко- и высокопроизводительном секвенировании [7], а также на использовании ДНК-чипов низкой и высокой плотности [8,9]. Общедоступные лабораторные способы детекции основаны на методе полимеразной цепной реакции (ПЦР) [10], в том числе совмещенной с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) [11,12].

Геноидентификация сырьевого состава безалкогольных напитков на основе чая — не менее важное направление исследования, обусловленное риском фальсификации данного вида продукции путем подмены натурального чайного сырья синтетическими ароматизаторами и красителями или несоблюдения заявленного состава [13,14].

Безалкогольные напитки на основе чая потенциально могут быть приготовлены с использованием исключительно купажированного или даже моносортового чая вида *Camellia sinensis* в зависимости от выбранной рецептуры [15]. При этом они могут выпускаться как в готовой к употреблению жидкой форме, так и в виде чайных концентратов, геноидентификация сырьевого состава которых весьма актуальна [14,16].

Цель исследования — изыскание методологических подходов к сортовой геноидентификации чайного сырья и к видовой геноидентификации сырьевого состава безалкогольных напитков на основе чая.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие задачи:

- выявить полиморфные сайты рестрикции у 21 отобранного SNP-маркера *Camellia sinensis*, подобрать SNP-специфичные рестриктазы и рассчитать ПЦР-ПДРФ-профили встречаемых генотипов. Затем провести постаналитическую оценку 349 китай-

ских сортов чая на предмет их генотипической принадлежности и идентифицируемости, опираясь на биоинформационные данные о сортах из первоисточника [7];

- протестировать подобранный молекулярно-генетический подход к видовой идентификации сырьевого состава экспериментальных безалкогольных напитков на основе зеленого и черного чая, используя методы ПЦР, ПДРФ и прямого секвенирования амплифицируемого локуса хлоропластной ДНК. Использовать в исследовании экспериментальные напитки с натуральным ароматизатором «Лимон» и с синтетическим ароматизатором «Персик 716», а также коммерческие концентраты «ТИАКВА» на основе экстрактов из огрубелых стеблей зеленого или черного чая.

2. Объекты и методы

Исследование проведено 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.

В качестве модельных объектов теоретико-аналитического исследования послужила биоинформация о 349 сортах чая, культивируемых на чайных плантациях 12 провинций Китая и идентифицируемых с помощью 21 отобранного SNP-маркера, данные о которых были взяты из работы Li et al. [7], в частности из дополнительных материалов статьи, доступных к скачиванию по ссылке <https://www.mdpi.com/article/10.3390/plants12081643/s1>.

При этом из дополнительных материалов статьи использована информация, представленная в двух табличных формах Excel: Table S10 — The 21 SNP markers polymorphism for 349 tea plants identification (полиморфизм 21 SNP-маркера для идентификации 349 чайных растений) и Table S11 — The 21 pairs of primers for 349 tea plants rapid identification (21 пара праймеров для быстрой идентификации 349 чайных растений).

Проведенное нами биоинформационное исследование по выявлению полиморфных сайтов рестрикции у 21 отобранного SNP-маркера *Camellia sinensis* [7] с последующим подбором SNP-специфичных рестриктаз и расчетом ПЦР-ПДРФ-профилей встречаемых генотипов чая выполнено в программе NEBcutter V2.0 (<https://nc2.neb.com/NEBcutter2/>).

В качестве объектов экспериментального исследования послужили безалкогольные напитки на основе зеленого чая с натуральным ароматизатором «Лимон» и синтетическим ароматизатором «Персик 716», приготовленные в лаборатории безалкогольных напитков и минеральных вод. Данные напитки были получены на основе концентрата из экстракта зеленого чая «Гринфилд» с добавлением сахара, лимонной кислоты и ароматизаторов «Лимон» («БИОК», Россия) или «Персик 716» («Комбинат химико-пищевой ароматики», Россия). Дополнительно использованы в исследовании два коммерческих концентрата: концентрат «ТИАКВА» на основе экстракта из огрубелых стеблей зеленого чая («Курская биофабрика», Россия) и концентрат «ТИАКВА» на основе экстракта из огрубелых стеблей черного чая («Курская биофабрика», Россия).

Экстракция нуклеиновых кислот из разных объемов (25 мкл, 50 мкл, 100 мкл и 200 мкл) экспериментальных безалкогольных напитков на основе зеленого чая с натуральным ароматизатором «Лимон» и синтетическим ароматизатором «Персик 716», а также коммерческих концентратов осуществлена комплектом реагентов для экстракции ДНК из биологического материала «ДНК-сорб-С-М» («АмплиСенс», Россия).

ПЦР с выделенными образцами нуклеиновых кислот проведена с использованием набора реактивов Encyclo Plus PCR kit («Евроген», Россия) и праймеров (#1 и #2), инициирующих амплификацию локуса хлоропластной ДНК [17], в следующем режиме термоциклирования на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия): × 1: 95 °C — 5 мин; × 40: 95 °C — 10 сек, 61 °C — 10 сек, 72 °C — 10 сек; × 1: 72 °C — 1 мин.

Эндонуклеазное расщепление амплифицированного ПЦР-продукта выполнено инкубированием ПЦР-ПДРФ-пробы с рестриктазой *HinfI* (5 ед. на 1 пробу) в 1× SE-буфере «О» («СибЭнзим», Россия) при 37 °C в течение 4 часов в твердотельном термостате «Термит» («ДНК-технология», Россия).

Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов и ПДРФ-фрагментов осуществлено в камере для горизонтального электрофореза SE-1 («Хеликон», Россия) с использованием 2,5% агарозы в ТАЕ-буфере, окрашенном бромистым этидием. Визуализация полученных электрофореграмм проведена в трансиллюминаторе ECH-F15.M (Vilber Lourmat, Франция).

3. Результаты и обсуждение

3.1. Теоретико-аналитическая часть

При реализации первой задачи в качестве модельных объектов теоретико-аналитического исследования послужила отраженная в работе Li и др. [7] биоинформация о 349 сортах чая, культивируемых на чайных плантациях 12 провинций Китая и идентифицируемых с помощью 21 отобранного SNP-маркера [7].

В ходе проведенного биоинформационного исследования по выявлению полиморфных сайтов рестрикции в нуклеотидных последовательностях локусов генома *Camellia sinensis*, ограниченных соответствующими наборами праймеров [7], нами были подобраны диагностически значимые рестриктазы, способные к детекции SNPs и к идентификации генотипов чая по анализируемым маркерам [7]. При этом расчет ПЦР-ПДРФ-профилей встречаемых генотипов чая выполнен в программе NEBcutter V2.0.

Сведения о локусах *Camellia sinensis*, о фланкирующих праймерах, SNPs и их позициях, а также об амплифицируемых ПЦР-продуктах [7] и генерируемых ПДРФ-фрагментах с подобранными рестриктазами, характеризующими определенные генотипы чая, представлены в Таблице 1.

Из 21 SNP-маркера *Camellia sinensis* [7] только в локусе Chr1_5870698 не было выявлено ни одного полиморфного сайта рестрикции, что в конечном счете не позволило подобрать для него диагностически значимую эндонуклеазу рестрикции. Для четырех SNP-маркеров (Chr2_21178624, Chr10_109925494, Chr11_74629953, Chr13_95750187) были подобраны рестриктазы (*Sau7718II*, *Aba1330II*, *Mba1II*, *SetI*), однако в настоящее время они не доступны в коммерческой продаже.

Таким образом, из 21 SNP-маркера потенциалом их практического применения методом ПЦР-ПДРФ-генотипирования обладают 16 локусов, 11 из которых входят в группу наиболее информативных при идентификации сортов чая, не производных по существу (non-EDV, Essentially Derived Varieties) [7].

Данные об этих 11 SNP-маркерах ввиду их информативности, а также доступности диагностически значимых рестриктаз и их изошизомеров приведены в начале Таблицы 1.

Полиморфная позиция локуса Chr1_39654059 затрагивает сайт узнавания (CC/WGG) эндонуклеазы рестрикции *BstNI* и ее изоизомера *Bst2UI* с генерацией ПЦР-ПДРФ-профиля анализируемого SNP-маркера, характеризующего два гомозиготных (CC и TT) и один гетерозиготный (CT) генотип по длине образующихся фрагментов ДНК.

Полиморфная позиция локуса Chr1_178707315 сцеплена с участком узнавания (GAAGAC(2/6)) рестриктазы *BbsI* и ее изоизомера *BstV2I*, генерирующего ПЦР-ПДРФ-профиль анализируемого SNP-маркера, идентифицирующий два гомозиготных (CC (224/145 bp) и TT (369 bp)) и один гетерозиготный генотип CT (369/224/145 bp).

HpyCH4IV-рестрикционное картирование локуса Chr2_117215365 и рассчитанный ПЦР-ПДРФ-профиль демонстрируют генерацию генотип-специфичных фрагментов различной длины: 233/162 bp (генотип CC), 395 bp (генотип TT) и 395/233/162 bp (генотип CT).

Таблица 1. Сведения о 21 SNP-маркере *Camellia sinensis*

Table 1. Information about 21 SNP markers of *Camellia sinensis*

№ п.п.	Локус	Праймер	SNP	Позиция SNP	ПЦР-продукт	Рестриктаза (изоизомер)	ПДРФ-фрагменты	Генотип
1	Chr1_39654059	F+R	C	78	426	<i>BstNI</i> (<i>Bst2UI</i>)	347/79	CC
			T				426	TT
			Y				426/347/79	CT
2	Chr1_178707315	F+R	C	157	369	<i>BbsI</i> (<i>BstV2I</i>)	224/145	CC
			T				369	TT
			Y				369/224/145	CT
3	Chr2_117215365	F+R	C	234	395	<i>HpyCH4IV</i> (<i>HpySE526I</i>)	233/162	CC
			T				395	TT
			Y				395/233/162	CT
4	Chr2_123557945	F+R	G	59	297	<i>HpyCH4III</i> (<i>Bst4CI</i>)	217/58/22	GG
			T				275/22	TT
			K				275/217/58/22	GT
5	Chr2_194290628	R+F	A	169	404	<i>ApoI</i> (<i>AscI</i>)	235/169	AA
			C				404	CC
			M				404/235/169	AC
6	Chr6_152338984	F+R	C	286	510	<i>EcoRI</i> (<i>EcoRI</i>)	510	CC
			T				282/228	TT
			Y				510/282/228	CT
7	Chr8_104369549	F+R	A	140	490	<i>Acil</i> (<i>BspACT</i>)	490	AA
			G				352/138	GG
			R				490/352/138	AG
8	Chr8_139071641	R+F	C	142	511	<i>BsrI</i> (<i>BseII</i>)	220/154/117/20	CC
			T				220/174/117	TT
			Y				220/174/154/117/20	CT
9	Chr12_134922457	F+R	A	216	513	<i>MlyI</i> (<i>PpsI</i>)	394/63/50/6	AA
			G				255/139/63/50/6	GG
			R				394/255/139/63/50/6	AG
10	Chr13_107174655	F+R	A	140	323	<i>AflII</i> (<i>BstAflI</i>)	323	AA
			G				188/135	GG
			R				323/188/135	AG
11	Chr15_37705498	F+R	A	131	537	<i>BsmI</i> (<i>PctI</i>)	537	AA
			C				405/132	CC
			M				537/405/132	AC
12	Chr2_21178624	R+F	C	312	382	<i>Sau7718II</i>	301/81	CC
			T				382	TT
			Y				382/301/81	CT
13	Chr10_109925494	R+F	A	216	315	<i>Aba1330II</i>	315	AA
			G				215/100	GG
			R				315/215/100	AG
14	Chr11_74629953	F+R	C	339	396	<i>Mba1II</i>	340/56	CC
			T				396	TT
			Y				396/340/56	CT
15	Chr4_83365171	F+R	A	327	443	<i>HpyCH4III</i> (<i>Bst4CI</i>)	443	AA
			G				326/117	GG
			R				443/326/117	AG
16	Chr6_77482863	F+R	A	197	350	<i>BtsCI</i> (<i>BstF5I</i>)	149/132/69	AA
			G				281/69	GG
			R				281/149/132/69	AG

Таблица 1. Окончание / Table 1. End

№ п.п.	Локус	Праймер	SNP	Позиция SNP	ПЦР-продукт	Рестриктаза (изоизомер)	ПДРФ-фрагменты	Генотип
17	CHR10_61629141	F+R	C				182/161/101/63	CC
			T	242	528	<i>BtsCI</i> (<i>BstF5I</i>)	182/134/101/63/27	TT
			Y				182/161/134/101/63/27	CT
18	CHR10_160014631	F+R	C				445	CC
			G	141	445	<i>BciVI</i> (<i>BsuI</i>)	293/152	GG
			S				445/293/152	CG
19	CHR11_108419904	F+R	C				271/193	CC
			T	192	464	<i>Cac8I</i> (<i>BstC8I</i>)	464	TT
			Y				464/271/193	CT
20	CHR13_95750187	F+R	C				133/126/112/81	CC
			T	80	452	<i>SetI</i>	207/133/112	TT
			Y				207/133/126/112/81	CT
21	Chr1_5870698	F+R	G				–	GG
			T	279	386	–	–	TT
			K				–	GT

Генерация генотип-специфичных фрагментов также характерна и для других информативных SNP-маркеров, полиморфные позиции которых сцеплены с сайтами узнавания рестриктаз: *HpyCH4III* (ACN/GT) в локусе Chr2_123557945, *ApoI* (R/AATTY) в локусе Chr2_194290628, *EcoRI* (G/AATTC) в локусе Chr6_152338984, *AciI* (CCGC(–3/–1)) в локусе Chr8_104369549, *BsrI* (ACTGG(1/–1)) в локусе Chr8_139071641, *MlyI* (GAGTC(5/5)) в локусе Chr12_134922457, *AflII* (C/TTAAG) в локусе Chr13_107174655, *BsmI* (GAATGC(1/–1)) в локусе Chr15_37705498.

Постаналитическая оценка 349 китайских сортов чая на предмет их генотипической принадлежности и идентифицируемости [7] показала возможность идентификации 213 сортов, в том числе 190 непроизводных (non-EDV) и 23 производных (EDV) по существу. Их идентификация ведется по сортоспецифичным комбинациям генотипов 11 информативных SNP-маркеров *Camellia sinensis*: Chr1_39654059, Chr1_178707315, Chr2_117215365, Chr2_123557945, Chr2_194290628, Chr6_152338984, Chr8_104369549, Chr8_139071641, Chr12_134922457, Chr13_107174655, Chr15_37705498.

При этом смешанные нуклеотиды (Y, K, M, R), указываемые в генотипическом профиле сорта, соответствуют определенным гетерозиготам (CT, GT, AC, AG), а обычные нуклеотиды (C, T, A, G) — конкретным гомозиготам (CC, TT, AA, GG).

Анализ 67 сортов чая (50 non-EDV и 17 EDV) [7] на предмет их генотипической принадлежности и идентифицируемости по 11 SNP-маркерам не был проведен из-за неполной информации о детектируемых в них SNPs.

Оставшиеся 69 неидентифицируемых китайских сортов чая (39 non-EDV и 30 EDV) [7] формируют 29 SNP-ассоциированных групп, из которых 23 группы включают по 2 сорта, в 3 группы входят по 3 сорта, 2 группы вмещает 4 сорта и еще 1 группа объединяет 6 сортов чая соответственно. Для их сортовой идентификации могут быть применены различные молекулярно-генетические подходы, включая SNP-специфичную ПЦР или прямое секвенирование амплифицируемого локуса анализируемого SNP-маркера *Camellia sinensis* [7].

Настоящая работа стала логическим продолжением ранее проведенного нами биоинформационного исследования [12], где картированием выявленных полиморфных сайтов рестрикции и последующим профилированием встречаемых генотипов была установлена возможность детектирования полиморфных позиций других 8 SNP-маркеров *Camellia sinensis* [8] методом ПЦР-ПДРФ-анализа. Также была проведена постаналитическая оценка 117 китайских сортов [8] на предмет их генотипической принадлежности и идентифицируемости [12].

Таким образом, проведенные нами биоинформационные исследования направлены на развитие общедоступных молекулярно-генетических подходов к сортовой идентификации чая детекцией полиморфных позиций отобранных SNP-маркеров методом ПЦР, в том числе в сочетании с ПДРФ-анализом (как в двух конкретных научных работах).

Помимо сортовой идентификации чайного сырья методами ДНК-технологий представляется возможной также видовой идентификация готового напитка. Несмотря на значительную деградацию и удаление нуклеиновых кислот *Camellia sinensis* в процессе переработки чая, в экстрагированной форме остается достаточное количество наследственного материала для молекулярно-генетического анализа, особенно в концентрированной основе напитка [13,14].

3.2. Экспериментальная часть

В настоящей работе для видовой идентификации сырьевого состава экспериментального безалкогольного напитка на основе зеленого чая с натуральным ароматизатором «Лимон», произведенного в лаборатории института, использован метод ПЦР с праймерами #1 и #2, инициирующими амплификацию локуса хлоропластной ДНК растений, с последующим прямым секвенированием наработанного ПЦР-продукта.

Предварительно выровненные референсные нуклеотидные последовательности анализируемого локуса хлоропластной ДНК *Camellia sinensis* и *Citrus limon*, представленные на Рисунке 1, служили

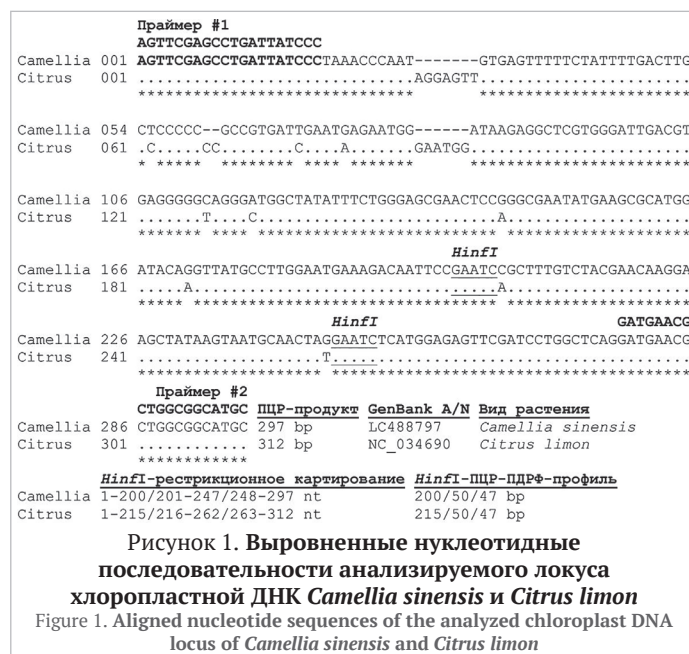
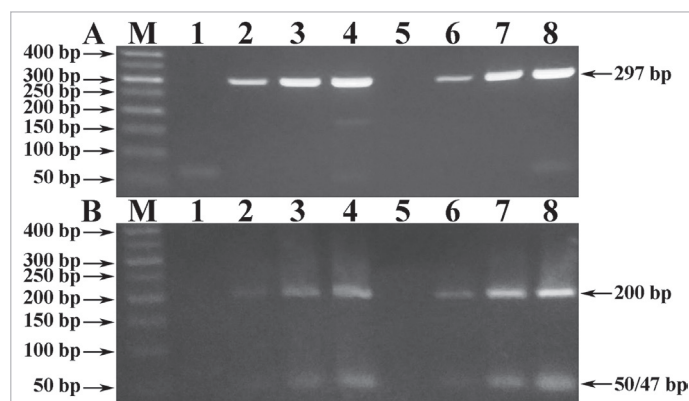


Рисунок 1. Выровненные нуклеотидные последовательности анализируемого локуса хлоропластной ДНК *Camellia sinensis* и *Citrus limon*
Figure 1. Aligned nucleotide sequences of the analyzed chloroplast DNA locus of *Camellia sinensis* and *Citrus limon*



Примечание: А — результат ПЦР; В — результат ПДРФ; М — маркер длин ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1, 5–2 и 3 мкл образца ДНК, выделенного из 25 мкл напитка; 2, 6–2 и 3 мкл образца ДНК, выделенного из 50 мкл напитка; 3, 7–2 и 3 мкл образца ДНК, выделенного из 100 мкл напитка; 4, 8–2 и 3 мкл образца ДНК, выделенного из 200 мкл напитка.
Note: A — PCR result; B — RFLP result; M — DNA length marker (50+ bp DNA Ladder); 1, 5–2 and 3 µl of DNA sample isolated from 25 µl of drink; 2, 6–2 and 3 µl of DNA sample isolated from 50 µl of drink; 3, 7–2 and 3 µl of DNA sample isolated from 100 µl of drink; 4, 8–2 and 3 µl of DNA sample isolated from 200 µl of drink.

теоретической базой для прогнозирования длины амплифицируемых ПЦР-продуктов и генерируемых ПДРФ-фрагментов при эндонуклеазном расщеплении ампликонов рестриктазой *HinfI*.

Результаты ПЦР-ПДРФ-анализа образцов ДНК, экстрагированных из разных объемов экспериментального безалкогольного напитка на основе зеленого чая с натуральным ароматизатором «Лимон», представлены на Рисунке 2.

Рисунок 2 демонстрирует усиление сигнала амплификации ПЦР-продукта по мере увеличения объема напитка, отобранного на выделение из него ДНК. При этом наблюдаемые длины амплифицированных ПЦР-продуктов и сгенерированных ПДРФ-фрагментов проанализированных образцов ДНК соответствовали профилю *Camellia sinensis*.

Последующий же результат прямого секвенирования амплифицированного локуса хлоропластной ДНК, чей фрагмент аналитической картины наглядно отображен на Рисунке 3, окончательно подтвердил принадлежность анализируемых образцов ДНК к виду *Camellia sinensis*.

Аналогичное заключение молекулярно-генетического тестирования было получено и в отношении образцов ДНК, экстрагированных как из разных объемов экспериментального безалкогольного напитка на основе зеленого чая с искусственным ароматизатором «Персик 716», так и из коммерческих концентратов «ТИАКВА» на основе экстрактов из огрубелых стеблей зеленого или черного чая.

Наглядная электрофореграмма результата ПЦР с праймерами #1 и #2, инициировавшими наработку ампликона локуса хлоропластного генома *Camellia sinensis* длиной 297 bp у исследованных образцов ДНК, представлена на Рисунке 4.

При этом праймеры #1 и #2, использованные в ПЦР, также были применены и в качестве сиквенсных при расшифровке амплифицированной нуклеотидной последовательности. Готовая смесь праймеров, валидированных на большом количестве видов растений, входит в состав набора Thermo Scientific Phire Plant Direct PCR Kit (Thermo Scientific, США) [18]. Этот набор ранее использовался нами при моделировании ДНК-технологий для видовой идентификации

растительных напитков [19] и с целью определения ботанического происхождения меда [20].

Высококонсервативный регион хлоропластной ДНК растений (межгенный спейсерный участок ISR tRNA-Val-16S rRNA) [21,22], амплифицируемый с этими праймерами, рассматривался в качестве маркерной последовательности. Ее идентификационный потенциал в ранее опубликованных работах [19,20] раскрывался нами методом ПЦР-ПДРФ-анализа с подобранными эндонуклеазами рестрикции.

Эндонуклеазное расщепление рестриктазой *HinfI* амплифицированного ПЦР-продукта длиной 297 bp, проведенное в настоящей работе, приводило к генерации ПДРФ-фрагментов длиной 200/50/47 bp. Выбор данной рестриктазы, имеющей два мономорфных сайта рестрикции в анализируемом локусе хлоропластной ДНК *Camellia sinensis* и *Citrus limon* (Рисунок 1), сделан для повышения разрешающей способности электрофоретического разделения ДНК в агарозном геле, и соответственно, для более точной интерпретации результатов ПЦР-ПДРФ-анализа. Это, в свою очередь, способствовало констатации факта детекции лишь ДНК *Camellia sinensis* — сырьевой основы исследованного напитка. Отсутствие же амплификации ПЦР-продукта длиной 312 bp можно объяснить сравнительно низким исходным количеством нуклеиновых кислот *Citrus limon* в образцах ДНК, экстрагированных из разных объемов напитка.

Дальнейшие исследования, направленные на подбор диагностически значимых рестриктаз, пригодных для видовой идентификации сырьевого состава безалкогольных напитков на основе чая методом ПЦР-ПДРФ, позволят полнее раскрыть аутентификационный потенциал данного молекулярно-генетического подхода. При этом в качестве генетической мишени могут быть выбраны и другие маркерные последовательности, в том числе стандартизированные наборы маркеров для ДНК-штрихкодирования растений [23].

4. Заключение

Биоинформационное исследование выявило полиморфные сайты рестрикции в нуклеотидных последовательностях локусов генома *Camellia sinensis*. В результате были подобраны рестриктазы, способные к детектированию SNPs и к идентификации генотипов чая. Из 16 локусов, имеющих потенциал для практического применения, 11 относятся к наиболее информативным SNP-маркерам, с которыми и была проведена постаналитическая оценка китайских сортов чая на предмет их генотипической принадлежности и идентифицируемости. Молекулярно-генетический подход к видовой идентификации сырьевого состава чайной продукции, включающий ПЦР и прямое секвенирование амплифицированного локуса хлоропластной ДНК, был протестирован на экспериментальных безалкогольных напитках на основе зеленого чая с натуральным ароматизатором «Лимон» и искусственным ароматизатором «Персик 716», а также на коммерческих концентратах «ТИАКВА» на основе экстрактов из огрубелых стеблей зеленого или черного чая. Этот подход эффективно определил принадлежность анализируемых образцов нуклеиновых кислот к виду *Camellia sinensis* — сырьевой основе исследованных напитков и концентратов. Таким образом, результаты проведенного исследования экспериментальных напитков и коммерческих концентратов указывают на надежность выбранного генодиагностического подхода и на его применимость для определения видовой подлинности чайной продукции. Для дальнейшего же раскрытия аутентификационного потенциала метода ПЦР с праймерами #1 и #2, совмещенного с ПДРФ-анализом, потребуется подбор диагностически значимых рестриктаз, пригодных для генерации видоспецифичных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей маркерной последовательности.

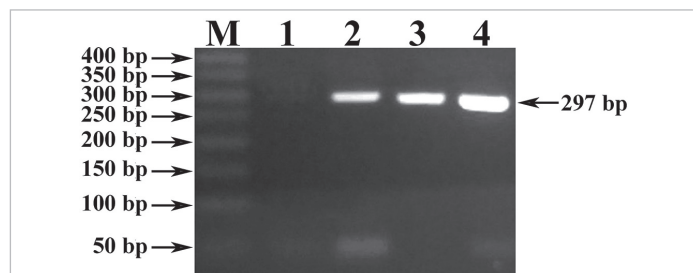


Рисунок 4. Электрофореграмма результата ПЦР образцов ДНК, экстрагированных из разных объемов экспериментального безалкогольного напитка на основе зеленого чая с искусственным ароматизатором «Персик 716»

Figure 2. Electropherogram of the PCR result of DNA samples extracted from different volumes of an experimental soft drink based on green tea with artificial flavoring "Peach 716"

Примечание: М — маркер длин ДНК (50+ bp DNA Ladder); 1–4 мкл образца ДНК, выделенного из 25 мл напитка; 2–4 мкл образца ДНК, выделенного из 50 мл напитка; 3–4 мкл образца ДНК, выделенного из 100 мл напитка; 4–4 мкл образца ДНК, выделенного из 200 мл напитка.

Note: M — DNA length marker (50+ bp DNA Ladder); 1–4 µl of DNA sample isolated from 25 µl of drink; 2–4 µl of DNA sample isolated from 50 µl of drink; 3–4 µl of DNA sample isolated from 100 µl of drink; 4–4 µl of DNA sample isolated from 200 µl of drink.

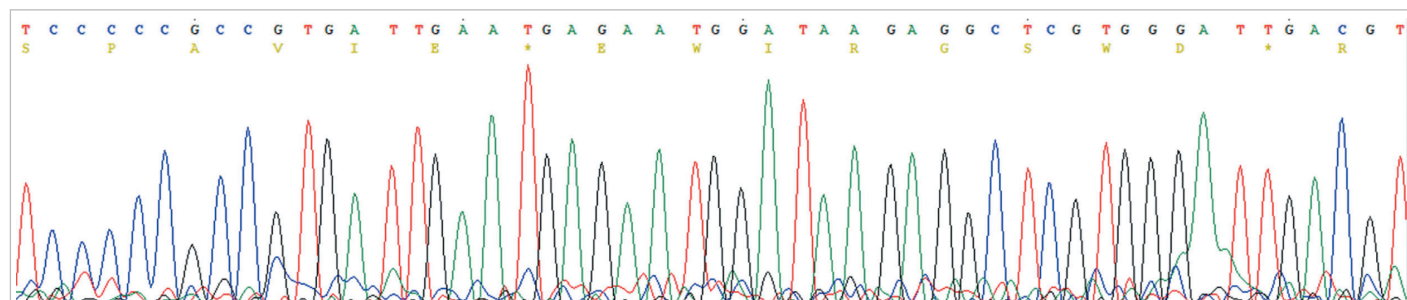


Рисунок 3. Фрагмент аналитической картины результата секвенирования амплифицированного локуса хлоропластной ДНК *Camellia sinensis*

Figure 3. Fragment of the analytical picture of the result of sequencing the amplified chloroplast DNA locus of *Camellia sinensis*

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Ding, Y., Huang, H., Cui, H., Wang, X., Zhao, Y. (2023). A non-destructive method for identification of tea plant cultivars based on deep learning. *Forests*, 14(4), Article 728. <https://doi.org/10.3390/f14040728>
- De Castro, O., Comparone, M., Di Maio, A., Del Guacchio, E., Menale, B., Troisi, J. et al. (2017). What is in your cup of tea? DNA verity test to characterize black and green commercial teas. *PLoS ONE*, 12(5), Article e017826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178262>
- Fang, W., Meinhardt, L. W., Tan, H., Zhou, L., Mischke, S., Wang, X. et al. (2016). Identification of the varietal origin of processed loose-leaf tea based on analysis of a single leaf by SNP nanofluidic array. *The Crop Journal*, 4(4), 304–312. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.02.001>
- Mphangwe, N. I. K., Vorster, J., Steyn, J. M., Nyirenda, H. E., Taylor, N. J., Apostolides, Z. (2013). Screening of tea (*Camellia sinensis*) for trait-associated molecular markers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171(2), 437–449. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0370-4>
- Hu, C. Y., Tsai, H. T., Chiu, C. F., Su, T. C., Le, N. H. K., Yeh, S. D. (2023). SSR-based molecular diagnosis for Taiwan tea cultivars and its application in identifying cultivar composition of the processed tea. *Journal of Food and Drug Analysis*, 31(3), 446–457. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.3465>
- Li, J.-W., Li, H., Liu, Z.-W., Wang, Y.-X., Chen, Y., Yang, N. et al. (2023). Molecular markers in tea plant (*Camellia sinensis*): Applications to evolution, genetic identification, and molecular breeding. *Plant Physiology and Biochemistry*, 198, Article 107704. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107704>
- Li, L., Li, X., Liu, F., Zhao, J., Zhang, Y., Zheng, W. et al. (2023). Preliminary investigation of essentially derived variety of tea tree and development of SNP markers. *Plants*, 12(8), Article 1643. <https://doi.org/10.3390/plants12081643>
- Wang, L., Xun, H., Aktar, S., Zhang, R., Wu, L., Ni, D. et al. (2023). Development of SNP markers for original analysis and germplasm identification in *Camellia sinensis*. *Plants*, 12(1), Article 162. <https://doi.org/10.3390/plants12010162>
- Wei, K., Wang, X., Hao, X., Qian, Y., Li, X., Xu, L. et al. (2022). Development of a genome-wide 200K SNP array and its application for high-density genetic mapping and origin analysis of *Camellia sinensis*. *Plant Biotechnology Journal*, 20(3), 414–416. <https://doi.org/10.1111/pbi.13761>
- Fan, K., Zhang, J., Wang, M., Qian, W., Sun, L., Shen, J. et al. (2022). Development and application of SNP-KASP markers based on genes related to nitrogen uptake, assimilation and allocation in tea plant (*Camellia sinensis* L.). *Agronomy*, 12(10), Article 2534. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102534>
- Khiavi, J. S., Falakro, K., Chaeikar, S. S. (2021). PCR-RFLP analyses of chloroplast DNA in some cultivated tea (*Camellia* sp.) genotypes. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 4(1), 25–36. <https://doi.org/10.22077/jhpr.2020.3116.1121>
- Вафин, Р. Р., Михайлова, И. Ю., Агейкина, И. И., Харламова, Л. Н. (2024). Прогнозная модель сортовой идентификации чая ПЦР-ПДРФ-анализом SNP-маркеров *Camellia sinensis*. *Пищевая промышленность*, 1, 74–77. [Vafin, R. R., Mikhailova, I. Yu., Ageykina, I. I., Kharlamova, L. N. (2024). Predictive model for tea varietal identification by PCR-RFLP analysis of *Camellia sinensis* SNP markers. *Food Industry*, 1, 74–77 (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.1.1.014>
- Ульянова, Е. В., Михайлова, И. Ю. (2024). Современные технологии в производстве напитков на основе чая. *Пиво и напитки*, 1, 23–27. [Ulyanova, E. V., Mikhailova, I. Yu. (2024). Modern technologies in the production of tea-based drinks. *Beer and Beverages*, 1, 23–27. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PIN.2024.01.09>
- Faller, A. C., Ragupathy, S., Shanmughanandhan, D., Zhang, Y., Lu, Z., Chang, P. et al. (2019). DNA quality and quantity analysis of *Camellia sinensis* through processing from fresh leaves to a green tea extract. *Journal of AOAC International*, 102(6), 1798–1807. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0518>
- Wu, Z., Li, X., Xu, X., Xing, A., Xu, Y., Yang, X. et al. (2023). Quality components identification and formation analysis of tea (*Camellia sinensis* L.) flower beverages from three cultivars. *LWT*, 181, Article 114739. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114739>
- Ujihara, T., Hayashi, N., Tanaka, J. (2012). Identification of Material Cultivar of Green Tea Infusions by Simple Sequence Repeat Markers. *Food Science and Technology Research*, 18(2), 209–217. <https://doi.org/10.3136/fstr.18.209>
- Al-Janabi, S. M., McClelland, M., Petersen, C., Sobra, I. B. W. S. (1994). Phylogenetic analysis of organellar DNA sequences in the *Andropogoneae*: *Saccharinae*. *Theoretical and Applied Genetics*, 88(8), 933–944. <https://doi.org/10.1007/BF00220799>
- Hwang, H., Bae, S. C., Lee, S., Lee, Y.-H., Chang, A. (2013). A rapid and simple genotyping method for various plants by direct-PCR. *Plant Breeding and Biotechnology*, 1(3), 290–297. <https://doi.org/10.9787/PBB.2013.1.3.290>
- Вафин, Р. Р., Михайлова, И. Ю., Агейкина, И. И., Харламова, Л. Н. (2023). Моделирование ДНК-технологии видовой идентификации сырьевого состава напитков на растительной основе. *Пищевая промышленность*, 8, 107–111. [Vafin, R. R., Mikhailova, I. Yu., Ageykina, I. I., Kharlamova, L. N. (2023). Modeling of DNA technology for species identification of the raw composition of plant-based beverages. *Food Industry*, 8, 107–111 (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.8.8.020>
- Вафин, Р. Р., Михайлова, И. Ю., Агейкина, И. И., Свиридов, Д. А., Ганин, М. Ю. (2023). Моделирование ДНК-технологии определения ботанического происхождения меда. *Пищевая промышленность*, 11, 72–75. [Vafin, R. R., Mikhailova, I. Yu., Ageykina, I. I., Sviridov, D. A., Ganin, M. Y. (2023). Modeling of DNA technology for determining the botanical origin of honey. *Food Industry*, 11, 72–75 (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.11.11.015>
- National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). tRNA-Val [*Camellia sinensis*]. Gene ID: 14412475, updated on 02-Apr-2022. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/14412475>. Accessed April 21, 2024.
- National Institutes of Health (NIH). National Library of Medicine (NLM). National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). 16S ribosomal RNA [*Camellia sinensis*]. Gene ID: 14412476, updated on 02-Apr-2022. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/14412476>. Accessed April 21, 2024.
- Шеховцов, С. В., Шеховцова, И. Н., Пелтек, С. Е. (2019). ДНК-штрихкодирование: методы и подходы. *Успехи современной биологии*, 139(3), 211–220. [Shekhovtsov, S. V., Shekhovtsova, I. N., Peltek, S. E. (2019). DNA barcoding: Methods and approaches. *Uspehi Sovremennoy Biologii*, 139(3), 211–220 (In Russian)] <https://doi.org/10.1134/S0042132419030074>

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>

Критерии авторства

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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 Yu. 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>

Contribution

The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-288-297>

Поступила 03.05.2024

Поступила после рецензирования 17.06.2024

Принята в печать 20.06.2024

© Дыдыкин А. С., Зубарев Ю. Н., Логунова Е. И., Кузлякина Ю. А., 2024

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

Научная статья

Open access

ОЦЕНКА РИСКОВ ПРОИЗВОДСТВА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДИКИ RCA

Дыдыкин А. С., Зубарев Ю. Н., Логунова Е. И., * Кузлякина Ю. А.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

оценка рисков,
функциональный
пищевой продукт,
йод

По результатам обзора нормативных правовых актов и документов по стандартизации выявлена необходимость разработки методологии оценки рисков при производстве функциональных пищевых продуктов с целью внедрения ее в систему контроля качества обогащенной йодом продукции. В статье описана разработка методологии оценки рисков, которая может быть использована для улучшения системы контроля качества функциональных пищевых продуктов, обогащенных йодом. Опасным событием являлось несоответствие продукта нормативным требованиям, а именно снижение количества йода в функциональных пищевых продуктах до уровня ниже 30 мкг/100г продукта, что составляет менее 15% от суточной потребности взрослого человека. Для оценки возможных рисков, способных повлиять на отличительные признаки функциональных пищевых продуктов, была предложена система составления картины первопричины RCA, включающая стандартные методы: причинно-следственная диаграмма Ишикавы, анализ дерева неисправностей FTA, анализ видов и последствий FMEA и анализ Парето. В качестве объекта исследования была выбрана технология обогащенных йодсодержащими пищевыми ингредиентами вареных колбасных изделий, что связано с широким разнообразием технологических режимов и способов обработки сырья, а также условий хранения готовых продуктов. Результаты исследования включали в себя обзор собранных данных, рассмотрение гипотезы, экспертное заключение о наиболее вероятных первопричинах отказов и о потерях, а также рекомендуемые предупреждающие и корректирующие действия.

Received 03.05.2024

Accepted in revised 17.06.2024

Accepted for publication 20.06.2024

© Dydykin A. S., Zubarev Yu. N., Logunova E. I., Kuzlyakina Yu. A., 2024

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

Original scientific article

Open access

RISK ASSESSMENT IN PRODUCTION OF FUNCTIONAL FOOD PRODUCTS BY MEANS OF RCA METHOD

Andrey S. Dydykin, Yuri N. Zubarev, Evlaliya I. Logunova, * Yuliya A. Kuzlyakina

V. M. Gorbатов Federal Research Center of Food System, Moscow, Russia

KEY WORDS:

risk assessment,
functional food
product, iodine

ABSTRACT

According to the results of review of the regulatory legal acts and standardization documents, the necessity has been determined to develop a methodology for risk assessment in production of functional food products and its introduction into operation for implementation of the quality control system of food products fortified with iodine. This article represents the description of development of risk assessment methodology assigned for assessing the quality control system for functional foods fortified with iodine. The hazardous event in this case is the non-compliance of the food product with the regulatory requirements, in particular the decrease of iodine content in the functional foods down to a level below 30 mcg/100g of the product, which is less than 15% of an adult person's daily requirement. To assess the probable risks that can affect the peculiar features of the functional foods, RCA root cause mapping system was proposed that includes the standard methods: Ishikawa cause and effect diagram, fault tree analysis FTA, failure mode and effect analysis FMEA, and Pareto analysis. The technology of producing of the cooked sausages fortified with iodine-containing food ingredients was chosen as the object of research, as this technology is associated with a wide variety of technological modes and methods of raw materials processing, as well as the storage conditions of the ready products. The results of the study included a review of the collected data, consideration of the hypothesis, expert opinion on the most probable root causes of failures and losses, and the recommended preventive and corrective actions.

1. Введение

Согласно Доктрине продовольственной безопасности РФ¹, определение термина «продовольственная безопасность» звучит следующим образом: состояние социально-экономического развития страны, при котором обеспечивается продовольственная независимость Российской Федерации, гарантируется физическая и экономическая доступность для каждого гражданина страны пищевой продукции, соответствующей обязательным требованиям, в объемах не меньше рациональных норм потребления пищевой продукции, необходимой для активного и здорового образа жизни (далее — продовольственная безопасность). Для достижения продовольственной безопасности необходимо решение задачи обеспечения населения качественными и безо-

пасными продуктами питания, доступными по цене и ассортименту, что позволит сформировать рацион здорового питания для каждого гражданина страны. Для этого необходимо совершенствование организации контроля качества и безопасности пищевой продукции, включая создание современной технической и методической базы.

В соответствии со Стратегией повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года², первоочередными задачами пищевой отрасли являются:

- повышение контроля качества и безопасности пищевой продукции;
- создание единой информационной системы прослеживаемости качества пищевой продукции на протяжении всего жизненного цикла продукта;

¹ Указ Президента «Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации» (утверждена Указом Президента РФ от 21 января 2020 года № 20)

² «Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года» (утверждена Распоряжением Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 года № 1364-р)

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Дыдыкин А. С., Зубарев Ю. Н., Логунова Е. И., Кузлякина Ю. А. (2024). Оценка рисков производства функциональных пищевых продуктов с помощью методики RCA. *Пищевые системы*, 7(2), 288–297. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-288-297>

FOR CITATION: Dydykin A. S., Zubarev Yu. N., Logunova E. I., Kuzlyakina Yu. A. (2024). Risk assessment in production of functional food products by means of RCA method. *Food Systems*, 7(2), 288–297. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-288-297>

- локализация производства пищевых ингредиентов, в том числе функциональных;
- разработка инновационных технологий производства функциональных пищевых продуктов с заданными свойствами;
- совершенствование системы методов контроля пищевых добавок, в том числе в составе пищевой продукции.

В соответствии с поставленными задачами была сформулирована цель данной работы, а именно: оценка возможных рисков, способных повлиять на отличительные признаки функциональных пищевых продуктов.

2. Объекты и методы

В качестве объектов исследования в работе использовали: технологический процесс производства обогащенных вареных колбасных изделий, документы по стандартизации на системы менеджмента — ГОСТ Р ИСО 9000–2015³, верификацию закупленной продукции — ГОСТ 24297–2013⁴. Также были применены национальные стандарты на функциональные пищевые продукты: ГОСТ Р 54059–2010⁵, ГОСТ Р 52349–2005⁶, ГОСТ Р 55577–2013⁷. Для оценки рисков в работе использовали элементы системы менеджмента качества, входящие в методику составления картины первопричины RCA: диаграмму Исикавы, анализ дерева неисправностей FTA, анализ видов и последствий отказов FMEA, анализ Парето. В качестве инструментов при выполнении исследований применяли: базы данных научных публикаций, рецензированных в РИНЦ и Scopus, информационную базу международных и российских нормативных и законодательных актов.

В рамках данного исследования был проведен поиск по трем базам данных: ScienceDirect, Elibrary и Google Scholar. Поиск информации и оценка баз данных показали, что большинство работ по теме публикации были посвящены как функциональным продуктам, так и функциональным ингредиентам с точки зрения технологии, питания и здоровья человека. В базе данных Google Scholar было найдено 33 статьи, из которых 23 статьи было опубликовано в ScienceDirect и 13 статей — в Elibrary.

В работе применяли сочетание стандартных методов оценки рисков. Идентификация рисков осуществлялась путем составления перечня источников риска и событий, способных повлиять на их реализацию. В исследовании использовали подход, в соответствии с которым группа экспертов идентифицировала виды отказов (потерь) при производстве функциональных пищевых продуктов (далее — ФПП) на основе анализа научных публикаций в области технологии производства функциональных пищевых продуктов. Для анализа рисков применяли метод RCA (root cause analysis — анализ первопричин), направленный на исследование потерь вследствие различных видов отказов без рассмотрения их внешних проявлений. Основными этапами метода RCA согласно ГОСТ Р ИСО/МЭК 31010–2011⁸ являются: формирование экспертной группы; установление области применения и целей метода RCA; сбор данных о потерях; проведение структурированного анализа для определения первопричины; разработка решений и рекомендаций; выполнение рекомендаций; верификация положительного результата от внедрения рекомендаций. Поскольку данное исследование носит теоретический характер, последние два этапа в работе не выполнялись [1,2].

Для осуществления анализа RCA были применены следующие структурированные методы анализа:

Диаграмма Исикавы (причинно-следственный анализ) — метод идентификации возможных причин нежелательного события. Группа экспертов устанавливает конечное событие и размещает его справа от диаграммы, после чего определяет основные категории причин и располагает их в виде «рыбьего скелета» слева от конечного события. С помощью данного метода осуществляется компоновка возможных причин и факторов в обобщенные категории для исследования всех возможных гипотез [3].

Анализ дерева неисправностей FTA (fault tree analysis) — дедуктивный метод идентификации и анализа факторов, способных привести к возникновению нежелательного события. Для графического изображения осуществляют последовательное построение ветвей диаграммы сверху вниз от конечного события (которое необходимо проанализировать) на более низкие уровни системы к базисным событиям до тех пор, пока анализ не перестанет быть целесообразным. Применение данного метода позволяет упростить понимание функционирования системы и рассматриваемых факторов [4].

Анализ видов и последствий отказов FMEA (failure mode and effects analysis) — данный подход подразумевает определение потенциальных потерь и оценку трех факторов риска: S — серьезности; O — вероятности; D — обнаружения. С помощью данного метода определяется ПЧР — приоритетное число риска, отражающее меру критичности потерь, вычисляемое путем перемножения S, O и D. Применение данного метода позволяет получить входные данные для последующей разработки программ мониторинга [5,6].

Анализ Парето — метод, позволяющий определить основные факторы, способные привести к возникновению нежелательного события. Для построения графика используется информация, полученная в ходе анализа FMEA. Данные представляются в виде столбиковой диаграммы на двухмерной системе координат. Вертикальная ось диаграммы отражает приоритетное число риска, а горизонтальная — перечень причин. Далее для учета совокупного процесса потерь строят кумулятивную кривую Лоренца, а на вертикальной оси откладывают дополнительную шкалу, отражающую проценты весо-мости причины [7].

Составление картины первопричины — выходные данные метода RCA. Они включают в себя: обзор собранных данных; рассмотрение гипотезы; заключение о наиболее вероятных первопричинах отказов и потерях; рекомендуемые и корректирующие действия.

В качестве инструмента для построения графических моделей анализа возможных рисков использовали программы Wondershare EdrawMax Build и Visual Paradigm.

3. Результаты и обсуждение

Качество пищевой продукции определяется ее способностью удовлетворять потребителя и отвечать требованиям заинтересованных сторон, включая производителей, розничных продавцов и регуляторные органы. Понятие качества продукции, изложенное в ГОСТ Р ИСО 9000–2015⁹, включает в себя не только выполнение функции в соответствии с назначением продукта, но также воспринимаемую ценность и выгоду для потребителя. В пищевой промышленности выделяют два аспекта качества продукции: с одной стороны, безопасность и санитарную целостность, в том числе обеспечение необходимых условий к реализации пищевых продуктов, с другой стороны — свойства продукта, направленные на удовлетворение потребителя: органолептические [8], диетические [9], функциональные [10], экологические [11,12], инновационные [13], а также экономические [14].

Качество готового продукта является важнейшей составляющей конкурентоспособности предприятия, способствующей стабильному росту и развитию. Любая система контроля качества требует наличия процедур входного и производственного контроля на предприятии. Производственный контроль базируется на принципах ХАССП в соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011¹⁰. Он предполагает разработку, внедрение и поддержку процедур управления качеством и безопасностью производимой пищевой продукции. Специфика проведения процедуры входного контроля зависит от вида перерабатываемой пищевой продукции и разрабатывается для каждого вида сырья и материалов в индивидуальном порядке. Основные положения по организации, проведению и оформлению результатов входного контроля сырья, материалов, полуфабрикатов и комплектующих изделий, используемых для разработки, производства и эксплуатации промышленной продукции (в т. ч. пищевой), установлены в ГОСТ 24297–2013⁴.

Рисунок 1 иллюстрирует три элемента, символизирующие динамику развития предприятия: желтый круг представляет само предприятие, синяя наклонная плоскость отражает его потенциал развития, а красный треугольник — фактор, препятствующий регрессу и обеспечивающий закрепление достижений.

⁹ ГОСТ Р ИСО 9000–2015 «Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь (с Поправкой от 12.10.2016)». М.: Стандартинформ, 2011. — 54 с.

¹⁰ Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011).

³ ГОСТ Р ИСО 9000–2015 «Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь (с Поправкой от 12.10.2016)». М.: Стандартинформ, 2011. — 54 с.

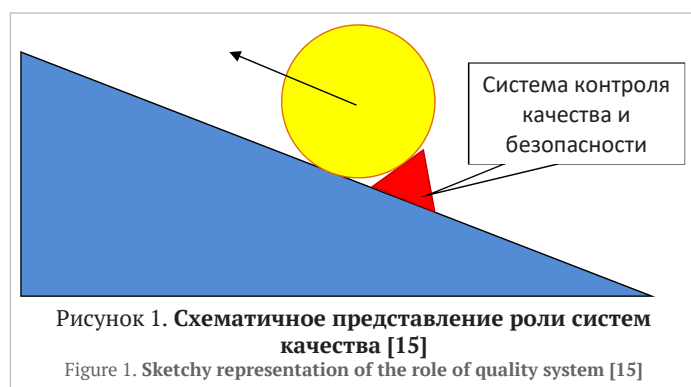
⁴ ГОСТ 24297–2013 «Верификация закупленной продукции. Организация проведения и методы контроля». М.: Стандартинформ, 2019. — 16 с.

⁵ ГОСТ Р 54059–2010 «Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования». М.: Стандартинформ, 2019. — 12 с.

⁶ ГОСТ Р 52349–2005 «Продукты пищевые функциональные. Термины и определения». М.: Стандартинформ, 2006. — 17 с.

⁷ ГОСТ Р 55577–2013 «Продукты пищевые специализированные и функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности». М.: Стандартинформ, 2014. — 19 с.

⁸ ГОСТ Р ИСО/МЭК 31010–2011 «Менеджмент риска. Методы оценки риска». М.: Стандартинформ, 2012. — 69 с.



Основной целью переработки пищевых продуктов традиционно является преобразование сырья в съедобные, безопасные, полезные и питательные продукты с желаемыми физико-химическими свойствами, увеличенным сроком хранения, оптимальными органолептическими свойствами и удобной формой для употребления в пищу [16]. В настоящее время в связи с ростом доли неинфекционных заболеваний, обусловленных неполноценным и несбалансированным питанием, одним из ведущих направлений научных исследований в области пищевой промышленности является разработка технологий производства функциональных пищевых продуктов с профилактическими свойствами. Однако производство ФПП требует реализации дополнительных мер, а именно: создания функционального пищевого ингредиента (далее — ФПИ) или оптимизации технологии пищевого продукта для обеспечения его профилактических свойств, а также усиления мер контроля в связи с усложнением технологии и использованием обогащающих компонентов [17].

Согласно СанПиН № 2.3.2.2804–10¹¹, для обогащенных одним или несколькими витаминами, макроэлементами и/или микроэлементами пищевых продуктов, установлены следующие требования: произведенных в России или ввезенных на ее территорию, установлены следующие требования:

- ❑ обогащение разрешено для продуктов массового потребления, которые регулярно используются в ежедневном рационе взрослых и детей с 3-х лет, а также для продуктов, подвергающихся технологической обработке, приводящей к значительным потерям витаминов и минеральных веществ;
- ❑ рекомендуется обогащать продукты питания такими витаминами и минеральными веществами, дефицит которых распространен среди населения;
- ❑ продукты питания могут быть обогащены витаминами и/или минеральными веществами независимо от их присутствия в исходном продукте;
- ❑ обогащающие микроэлементы, их дозировки и формы подбираются с учетом безопасности и эффективности, обеспечивая повышение пищевой ценности рациона;
- ❑ при расчете количества витаминов и минеральных веществ, добавляемых в пищевые продукты с целью обогащения, следует учитывать их естественное содержание в исходном продукте или сырье и в материалах. Кроме того, крайне важно учитывать потери при производстве и хранении для того, чтобы уровни этих витаминов и минеральных веществ не были ниже контрольного значения на протяжении всего срока годности продукта;
- ❑ комбинации веществ, формы, методы и этапы обогащения следует подбирать с учетом вероятности химического взаимодействия обогащающих ингредиентов и исходного продукта компонентов с целью их оптимальной сохранности при производстве и хранении;
- ❑ обогащение продуктов питания витаминами и минеральными веществами не должно ухудшать потребительские свойства продукта, например, снижать уровень и доступность других питательных компонентов, значительно ухудшать органолептические свойства продуктов или сокращать срок их хранения;
- ❑ обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами не должно влиять на их показатели безопасности;
- ❑ гарантированное содержание витаминов и минеральных веществ в обогащенных продуктах питания должно быть указано на маркировке индивидуальной упаковки продукции.

¹¹Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 27.12.2010 N1 об утверждении СанПиН 2.3.2.2804–10 Дополнения и изменения к СанПиН 2.3.2.1078–01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов»

К функциональным пищевым ингредиентам (далее — ФПИ), согласно ГОСТ Р 54059–2010¹², относятся: живые микроорганизмы, вещество или комплекс веществ животного, растительного, микробиологического, минерального происхождения или идентичные натуральным. Для внесения ФПИ в состав продукта обязательными являются доказанная физиологическая активность, научно обоснованная польза для здоровья человека и установленная суточная физиологическая потребность. Эффективность ФПИ должна быть подтверждена доказательной базой, полученной с помощью методов доказательной медицины. Кроме того, в соответствии с ГОСТ Р 52349–2005¹³, для ФПП обязательным условием является содержание в своем составе ФПИ не менее 15%, но не более 50% от суточной физиологической потребности. Правила маркировки ФПП допускают нанесение информации о содержании ФПИ на 100 грамм или на порцию продукта, а также информации об ожидаемом благоприятном влиянии ФПИ на состояние организма человека при систематическом употреблении ФПП, его содержащего [18]. Подробная информация об отличительных признаках и эффективности функциональных пищевых продуктов, используемых при маркировке ФПП и ФПИ, изложена в ГОСТ Р 55577–2013¹⁴.

Для расчета необходимой концентрации йода в ФПП принимается величина, составляющая от 15 до 50% от суточной нормы потребления йода для взрослого человека. В соответствии с МР 2.3.1.0253–21¹⁵, суточная норма йода установлена в количестве 150–240 мкг/сутки (в среднем ~ 200 мкг), а максимальная суточная доза, во избежание риска субклинического гипотиреоза, не должна превышать 600 мкг в сутки [19]. Минимальное пороговое значение содержания йода в ФПП установлено в количестве 30 мкг/100 гр продукта. В качестве обогащающих компонентов в технологии йодированных вареных колбасных изделий, согласно данным научных публикаций за последние 10 лет, могут быть использованы: йодированная соль [20,21,22], йодированные молочные белки [23,24], а также ламинария в натуральном или сушеном виде [25,26]. Путем элементарного расчета установлена концентрация йода в ФПП на уровне 30–100 мкг на 100 г продукта.

Обзор научных трудов показал, что при внесении гранулированных или порошкообразных пищевых добавок для обогащения переработанных функциональных пищевых продуктов фактическое содержание ФПИ в продукте может не соответствовать данным, заявленным на этикетке [27,28]. На наличие несоответствия количества йодсодержащих ФПП данным, заявленным изготовителем, могут влиять различные факторы, такие как нарушение технологии, жесткие технологические режимы, химическое взаимодействие с другими веществами, присутствующими в продукте, а также потери физиологически функциональных пищевых ингредиентов в различных условиях на протяжении всего срока годности готового продукта [29,30]. Отдельно стоит отметить необходимость контроля концентрации йода в обогащающих добавках, поскольку фактическое количество йода в ФПИ может не соответствовать заявленному производителем [31,32], а значит, расчеты по внесению ФПИ будут заведомо неверными. Ранее авторами настоящей публикации было проведено глубокое исследование йодсодержащих пищевых ингредиентов различной природы, выполнен обзор на сохранность йода в пищевых продуктах при различных условиях технологической обработки и хранения, а в качестве результатов исследований была составлена классификация йодсодержащих ФПИ по форме компонентов [33]. Авторы описывают данные факторы как триггеры рисков событий, поскольку они негативно влияют на процесс производства ФПП и лишают потребителя возможности улучшить физиологические свойства организма с помощью употребления ФПП.

3.1. Оценка рисков производства функциональных пищевых продуктов

Рабочая группа для оценки рисков производства функциональных пищевых продуктов была сформирована из четырех сотрудников ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН. В ее

¹²ГОСТ Р 54059–2010 «Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования». М.: Стандартинформ, 2019. — 12 с.

¹³ГОСТ Р 52349–2005 «Продукты пищевые функциональные. Термины и определения». М.: Стандартинформ, 2006. — 17 с.

¹⁴ГОСТ Р 55577–2013 «Продукты пищевые специализированные и функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности». М.: Стандартинформ, 2014. — 19 с.

¹⁵Методические рекомендации МР 2.3.1.0253–21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 22 июля 2021 г.)

состав вошли представители отдела функционального и специализированного питания и отдела технического регулирования.

Оценка риска представляла собой процесс, состоящий из идентификации, анализа и сравнительной оценки риска. В данной работе исследовалось обогащение колбасных вареных изделий функциональными пищевыми ингредиентами, направленное на предотвращение йододефицита и восполнение имеющегося дефицита йода в организме человека, а также на сохранение или улучшение здоро-

вья за счет наличия в составе продукта йода. Технологическая схема производства колбасных изделий, включающая этап внесения ФПИ, представлена на Рисунке 2.

Технология производства функциональных колбасных изделий, обогащенных йодом, подразумевает внесение ФПИ на этапе составления фарша. На технологической схеме красными элементами диаграммы выделены этапы приемки и подготовки, а также контроля физико-химических показателей ФПИ.

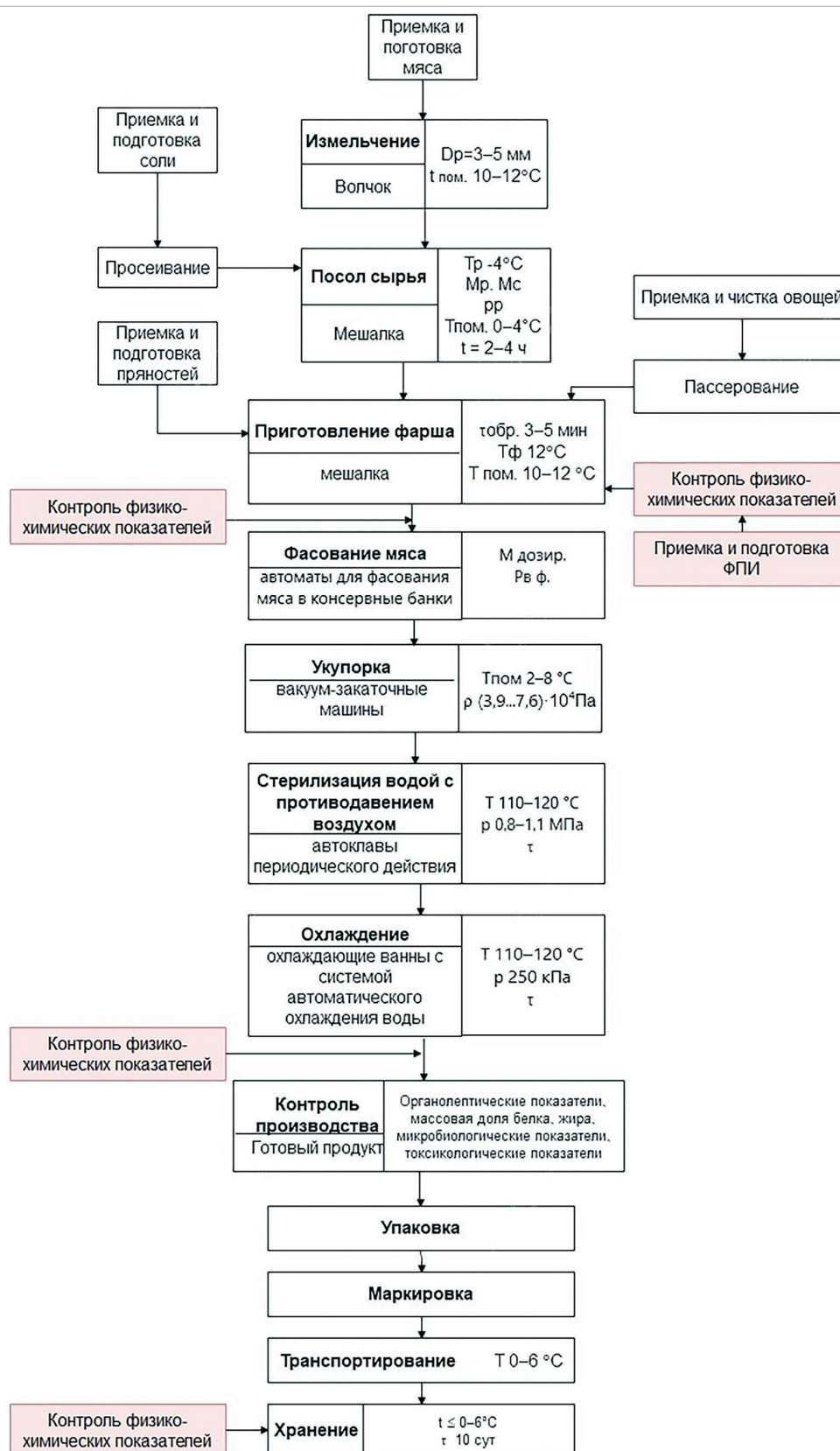
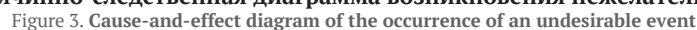


Рисунок 2. Технологическая схема производства функциональных вареных колбасных изделий

Figure 2. Process flow diagram of producing the functional cooked sausages

При построении диаграммы ФТА были использованы данные, полученные при составлении диаграммы Исикавы. Причины несоответствия концентрации йода данным, заявленным производителем ФПП в соответствии с нормативными техническими актами, были



представлены в виде блоков описания событий, возникающих при реализации рисков различного рода на предприятии. Основные события в нижней части диаграммы являлись конечными рисковыми событиями, не требующими дальнейшего логического развития. Результаты работы на данном этапе оценки рисков были использованы в дальнейшем для анализа видов и последствий отказов FMEA.

В соответствии с методикой FMEA составлялась таблица анализа рисков. Эксперты оценивали коэффициенты серьезности, вероятности и обнаружения причин, присваивая баллы от 1 до 10 в соответствии с квалитетическими шкалами. На основе данных, полученных в ходе анализа, для каждой выявленной причины возникновения рискового события рассчитывалось приоритетное число риска (далее — ПЧР) по формуле:

$$ПЧР = S \times O \times D \quad (1),$$

где S (severity) — серьезность наихудшего потенциального исхода из-за сбоя с точки зрения безопасности и функциональности системы; O (occurrence) — относительная вероятность того, что произойдет сбой; D (detection) — вероятность того, что режим отказа не будет обнаружен и/или исправлен соответствующими средствами управления, установленными на производственных линиях.

Для каждой области контроля с целью определения наибольшего влияния на реализацию потенциального риска с помощью диаграммы Парето рассчитывали суммарное ПЧРЭт путем сложения каждого из ПЧР. Данные вносили в Таблицу 1.

В результате экспертной оценки всех потенциально уязвимых этапов производства, хранения и транспортировки были выявлены наиболее существенные причины возникновения риска несоответствия концентрации йода в функциональном пищевом продукте заявленному на упаковке. Для ПЧР риска были установлены критические границы ПЧРгр в пределах от 400 до 720. В случае, если ПЧР > ПЧРгр, принималось решение о необходимости снижения риска до приемлемого уровня. Поскольку в области контроля персонала существует единственная причина возникновения риска — несоблюдение установленных инструкций по производству ФПП, а ПЧР лежит в пределах ПЧРгр, данная область подлежит проработке вне зависимости от других причин возникновения рисков.

Данные, полученные с помощью анализа методом FMEA, использовали при построении диаграммы Парето с целью определения ключевых проблем, расстановки приоритетов и оценки совокупного воздействия причин на реализацию риска несоответствия концентрации йода в ФПП данным, заявленным производителем. Для

каждой контролируемой области, кроме области контроля персонала, составляли отдельную диаграмму Парето (Рисунки 5–7).

Из представленной на Рисунке 5 диаграммы Парето следует, что основная причина возникновения риска несоответствия концентрации йода в ФПП заявленным данным связана с недостатками в области «Управление предприятием». В частности, риск увеличивается ввиду полного или частичного отсутствия предупреждающих мероприятий или из-за отсутствия контроля со стороны руководства за соблюдением надлежащей производственной практики. Меры по обнаружению и предупреждению, а также корректирующие мероприятия представлены в Таблице 1.

Из представленной на Рисунке 6 диаграммы Парето следует, что наибольшее влияние на возникновение риска несоответствия концентрации йода в ФПП данным, заявленным производителем в области контроля «Сырье и материалы», является ФПИ с истекающим сроком годности, высокая летучесть йода и нарушение условий хранения ФПИ на складе поставщика или в процессе транспортировки. Меры по обнаружению и предупреждению, а также корректирующие мероприятия представлены в Таблице 1.

Из представленной на Рисунке 7 диаграммы Парето следует, что в области «Технология» наибольший риск несоответствия концентрации йода в ФПП заявленным данным связан со следующими факторами: влияние высоких температур, некорректная

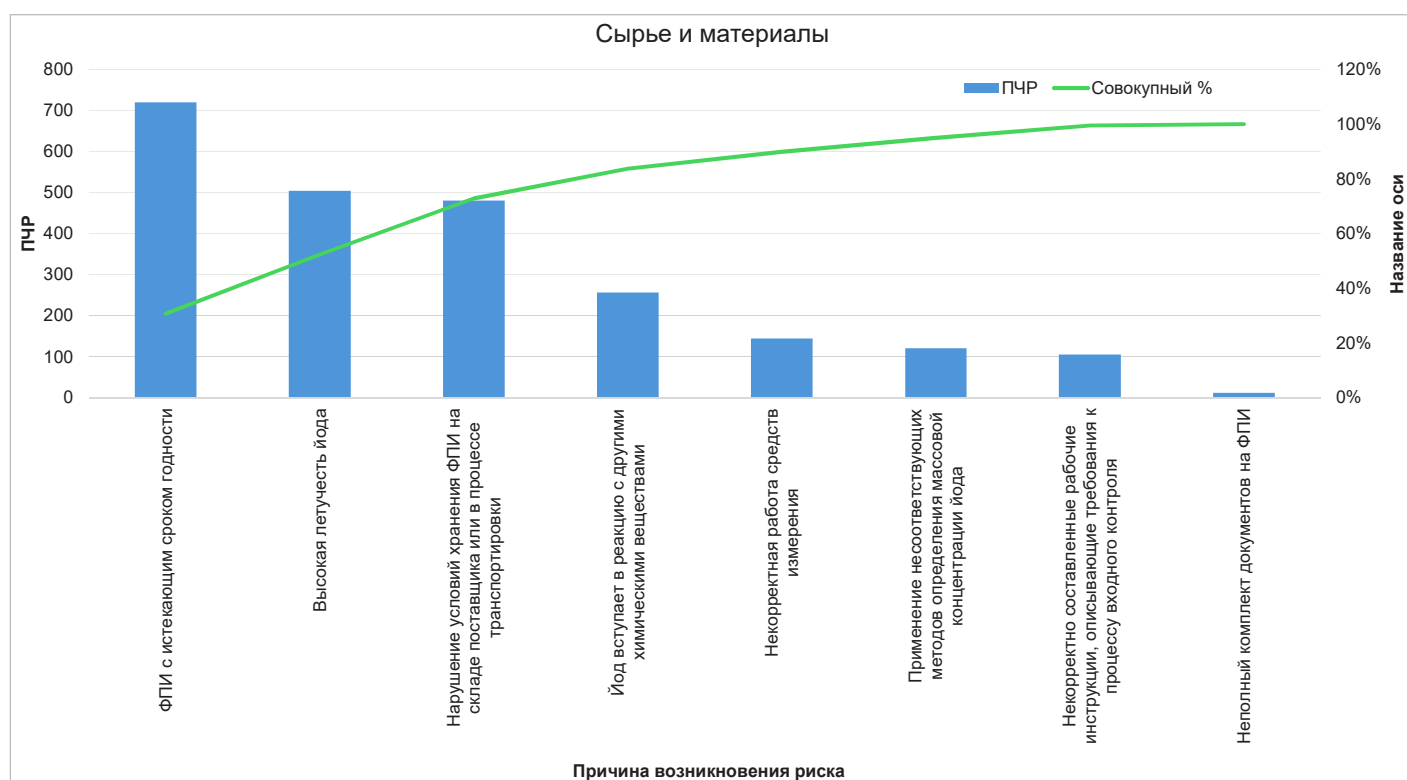
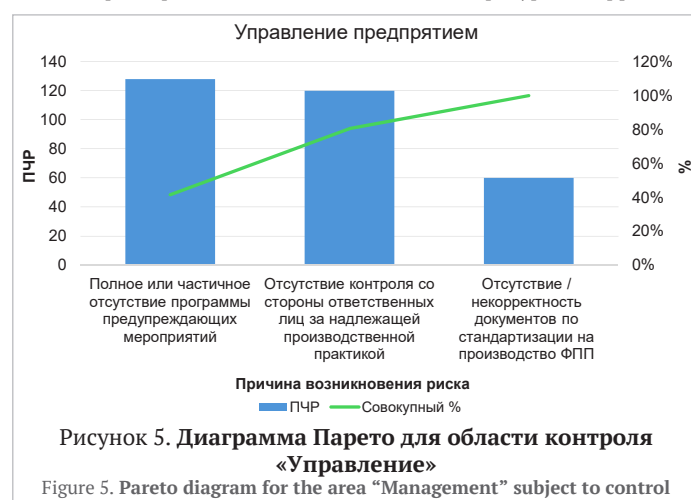


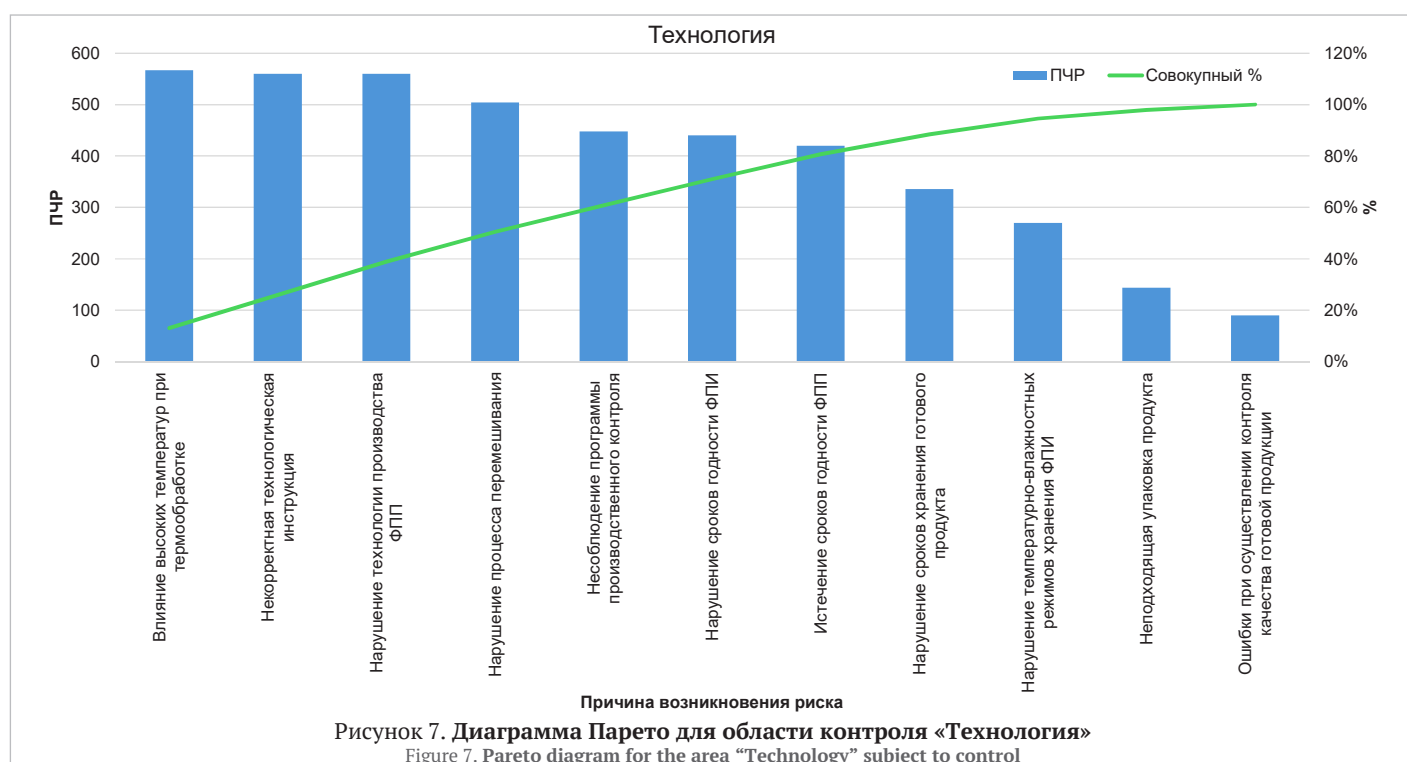
Таблица 1. Результаты анализа рисков методом FMEA
Table 1. Results of risks analysis by FMEA method

Область контроля	Риск	Причина	S	Меры по обнаружению	O	Меры по предупреждению	D	Корректирующие мероприятия	ПЧР
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Управление	Снижение качественных характеристик и установление некорректных требований к продукту в СТО /ТУ	Отсутствие / некорректность документов по стандартизации на производство ФПП	5	Проверка документов по стандартизации СТО / ТУ; Систематическая актуализация СТО /ТУ	3	Разработка СТО /ТУ с учетом соответствующих документов национальной системы стандартизации	4	Экспертиза СТО /ТУ; проверка стандарта организации на соответствие документам национальной системы стандартизации	60
	Несоответствующая программа производственного контроля	Отсутствие контроля со стороны ответственных лиц, включая руководящее звено за надлежащим производственным контролем	4	Проверка документации внутреннего аудита исполнения надлежащего производственного контроля	6	Регулярный внутренний аудит исполнения надлежащего производственного контроля	5	Внеочередной аудит исполнения надлежащего производственного контроля; инструктаж персонала	120
	Снижение контроля за установленными параметрами	Полное или частичное отсутствие программы предупреждающих мероприятий	8	Анализ причин несоответствий установленным параметрам	4	Составление плана предупреждающих мероприятий; своевременное устранение причин потенциальных несоответствий	4	Проверка протоколов системы менеджмента качества	128
Персонал	Нарушение технологии производства ФПП	Несоблюдение установленных инструкций по производству ФПП	9	Регулярная проверка знаний сотрудников	9	Своевременный инструктаж сотрудников	5	Внеочередная проверка компетенций сотрудников; повторный инструктаж; дисциплинарные взыскания	308
	Нарушение процесса входного контроля	Некорректно составленные рабочие инструкции, описывающие требования к процессу входного контроля	7	Проведение проверки корректности процесса входного контроля и выявление ошибок в рабочих инструкциях	5	Проверка выполнения рабочих инструкций и их корректировка	3	Внесение изменений в рабочие инструкции в соответствии с корректировками	105
		Неполный комплект документов на ФПП	3	Проверка сопроводительной документации каждой партии ФПП	2	Накопление статистических данных входящей документации	2	Запрос отсутствующих документов у поставщиков ФПП	12
Сырье и материалы	Некорректная работа средств измерения	8	Оценка соответствия средств измерения установленным требованиям	6	Регулярное техническое обслуживание средств измерения; обеспечение адекватных условий работы средств измерения	3	Калибровка средств измерения; ремонт или замена оборудования; разработка и утверждение графика поверки средств измерений	144	
	Применение несоответствующих методов определения массовой концентрации йода	8	Проверка журнала входного контроля	5	Корректный подбор метода определения концентрации йода в соответствии с формой вещества и характером анализируемого ФПП	3	Составление инструкции проведения лабораторного анализа ФПП на этапе входного контроля	120	
	ФПП со сниженным содержанием йода	ФПП с истекающим сроком годности	10	Проверка журналов приемки сырья и материалов	9	Верификация входящих ФПП с проверкой сроков годности	8	Замена ФПП с истекающим сроком годности на ФПП с соответствующим коэффициентом запаса срока годности; корректировка рецептуры с применением коэффициентов для использования ФПП со сниженным содержанием йода	720
	Нарушение условий хранения ФПП на складе поставщика или в процессе транспортировки	10	Верификация входящих ФПП на количественное содержание йода	6	Аудит поставщика и транспортной компании	8	Замена ФПП со сниженным содержанием йода на соответствующий нормам; корректировка рецептуры с применением коэффициентов для использования ФПП со сниженным содержанием йода	480	

Таблица 1. Окончание / Table 1. End

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ФПИ, не подходящие для данной технологии	Реакция йода с другими химическими веществами	8	Контроль количественного содержания йода в контрольных точках на производстве ФПП		4	Предварительное моделирование прототипа продукта и его испытания; подбор подходящей формы ФПИ	8	Выбраковка партии ФПП, в которой были обнаружены отклонения; корректировка рецептуры	256
	Высокая летучесть йода	9			7	Составление рецептуры и подбор технологии с учетом особенностей сохранности ФПИ в процессе производства и хранения	8		504
ПЧР-Эт									
Нарушения при хранении ФПИ на складе производства	Нарушение температурно-влажностных режимов хранения	9	Отслеживание изменений условий хранения ФПИ на производстве; проверка журналов температурно-влажностных режимов хранения		6	Установление системы мониторинга за температурно-влажностными режимами с назначением ответственного лица за данный процесс	5	Проверка физико-химических показателей ФПИ; установление условий хранения ФПИ, соответствующих виду сырья	270
	Нарушение сроков годности	8	Отслеживание сроков годности ФПИ на производстве; проверка журналов учета сырья и материалов на складе		7	Соблюдение сроков годности ФПИ на производстве. Соблюдение принципа FIFO/FEFO	6	Замена ФПИ с истекающим сроком годности на ФПИ с соответствующим коэффициентом запаса срока годности; корректировка рецептуры с применением коэффициентов для использования ФПИ со сниженным содержанием йода	336
Нарушение технологии внесения ФПИ	Несоответствия в утвержденной технологической инструкции; ошибки в части требований к технологическим режимам	10	Регулярный внутренний аудит технологических инструкций		8	Составление технологических инструкций в соответствии с требованиями действующих нормативных технических актов и национальных стандартов	7	Корректировка технологических инструкций; инструктаж персонала, ответственного за разработку технологической инструкции	560
	Неравномерное распределение йода в матрице продукта	9	Отбор образцов и анализ количества йода в рецептурной смеси		8	Соблюдение технологических инструкций	7	Повторное перемешивание с соблюдением температурных режимов	504
Потери йода после термообработки	Влияние высоких температур при термообработке	9	Отбор образцов и анализ количества йода в ФПП после термообработки		7	Составление рецептуры ФПП с учетом термостабильности йода содержащего ФПИ	9	Выбраковка партии ФПП, в которой были обнаружены отклонения; корректировка рецептуры	567
	Выявление несоответствия на этапе контроля качества готовой продукции	8	Выявление ошибок при выполнении производственного контроля		8	Регулярная проверка ответственным лицом работы системы производственного контроля	7	Устранение ошибок, допущенных при выполнении производственного контроля	448
	Ошибки при осуществлении контроля качества готовой продукции	5	Проверка процесса контроля качества готовой продукции		6	Проведение испытаний готовой продукции	3	Устранение ошибок при осуществлении контроля качества готовой продукции	90
	Нарушение технологии производства ФПП	10	Отбор образцов и анализ количества йода в готовом ФПП		8	Соблюдение технологических инструкций	7	Выбраковка партии ФПП, в которой были обнаружены отклонения; корректировка рецептуры	560
Потери йода в процессе хранения готового продукта	Истечение срока годности ФПП	10	Отслеживание сроков хранения ФПП; контроль изменения концентрации йода в ФПП в процессе хранения		6	Соблюдение сроков хранения ФПП	7	Утилизация ФПП по истечению срока годности; переход ФПП в категорию продуктов, не имеющих отличительных признаков ФПП	420
	Неподходящая упаковка продукта	9	Контроль изменения концентрации йода в ФПП в процессе хранения		4	Подбор подходящей упаковки для ФПИ	4	Замена способа упаковки или упаковочных материалов	144
	Нарушение условий хранения	8	Контроль изменения концентрации йода в ФПП в процессе хранения		6	Соблюдение условий хранения ФПП	4	Изменение условий хранения в соответствии с видом ФПП	192
	ПЧР-Эт								

Технология



технологическая инструкция, нарушение технологии производства ФПП, нарушение процесса перемешивания, несоблюдение программ производственного контроля, нарушение сроков хранения ФПИ, а также истечение срока хранения ФПП. Меры по обнаружению и предупреждению, а также корректирующие мероприятия представлены в Таблице 1.

Анализ первопричин реализации рисков несоответствия йодсодержащего функционального пищевого продукта нормативной документации методом RCA показал необходимость применения следующих мер предупреждения для краткосрочных перспектив:

1. В области управления предприятием — составление плана предупреждающих мероприятий, своевременное устранение причин потенциальных несоответствий и регулярный внутренний аудит предприятия;
2. В отношении персонала — своевременный инструктаж и регулярная проверка знаний;
3. В части контроля сырья и материалов — проведение входного контроля в соответствии с инструкциями и регулярная проверка средств измерения, строгая верификация входящих материалов, составление рецептуры и моделирование продукта с учетом особенностей используемого сырья;
4. В технологической области контроля — строгое соблюдение технологических инструкций и их корректировка при необходимости, регулярная проверка работы системы производственного контроля, контроля изменения концентрации йода в ФПП на всем жизненном цикле продукта.

5. Выводы

Продовольственная безопасность РФ достижима при условии обеспечения качественной продукцией населения с целью формирования рациона здорового питания. В связи с повсеместным распространением неинфекционных заболеваний, связанных с дефицитом пищевых и биологически активных веществ, особое внимание уделяется созданию обогащенных и функциональных пищевых продуктов. Йододефицит — одна из ключевых демографических проблем XXI века, и решить ее можно путем реализации программ по обогащению пищевых продуктов йодсодержащими функциональными пищевыми ингредиентами.

Функциональные пищевые продукты должны иметь отличительные признаки, которые заключаются в наличии пищевых и/или биологически активных веществ в своем составе в количестве, обеспечивающем от 15 до 50% от суточной потребности организма. Исследования показали высокую вероятность реализации риска несоответствия концентрации йода в функциональных пищевых продуктах данным, заявленным производителем в соответствии с нормативной документацией.

В данном исследовании были определены потенциальные риски, способные привести к несоответствию йодсодержащего функционального пищевого продукта данным, заявленным производителем в соответствии с нормативной документацией. По результатам исследования была составлена картина первопричины реализации рисков, описаны мероприятия по их предупреждению и даны рекомендации, включающие меры по обнаружению и корректирующие мероприятия.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Przystupa, K. (2019). The methods analysis of hazards and product defects in food processing. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(1), 44–50. <https://doi.org/10.17221/44/2018-CJFS>
2. Hisprastin, Y., Musfiroh, I. (2021). Ishikawa diagram dan failure mode effect analysis (FMEA) sebagai metode yang sering digunakan dalam manajemen risiko mutu di industry. *Majalah Farmasetika*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i1.27106> (In Indonesian)
3. Barsalou, M. (2023). Case study in hypothesis prioritization with Ishikawa diagrams. *Management Systems in Production Engineering*, 31(4), 381–388. <https://doi.org/10.2478/mspe-2023-0042>
4. Kim, D. H., Cho, W. I., Lee, S. J. (2020). Fault tree analysis as a quantitative hazard analysis with a novel method for estimating the fault probability of microbial contamination: A model food case study. *Food Control*, 110, Article 107019. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107019>
5. Wu, J.-Y., Hsiao, H.-I. (2021). Food quality and safety risk diagnosis in the food cold chain through failure mode and effect analysis. *Food Control*, 120, Article 107501. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107501>
6. Wu, Z., Liu, W., Nie, W. (2021). Literature review and prospect of the development and application of FMEA in manufacturing industry. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 112, 1409–1436. <https://doi.org/10.1007/s00170-020-06425-0>
7. Ali, K., Johl, S. K. (2022). Critical success factors of total quality management practices using Pareto analysis. *International Journal of Productivity and Quality Management*, 36(3), 353–381. <http://doi.org/10.1504/IJPMQ.2022.124704>
8. Embling, R., Neilson, L., Mellor, C., Durodola, M., Rouse, N., Haselgrove, A. et al. (2024). Exploring consumer beliefs about novel fortified foods: A focus group study with UK-based older and younger adult consumers. *Appetite*, 193, Article 107139. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2023.107139>
9. Eduardo, K., Aredo, V., Rios-Mera, J. D., Ambrosio, C. M. S., Siche, R., Saldaña, E. (2024). Market needs and consumer's preferences for healthier foods. Chapter in a book: *Strategies to Improve the Quality of Foods*. Academic Press, 2024. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15346-4.00013-6>
10. Sgroi, F., Sciortino, C., Baviera-Puig, A., Modica, F. (2024). Analyzing consumer trends in functional foods: A cluster analysis approach. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, Article 101041. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101041>
11. De Marchi, E., Scappaticci, G., Banterle, A., Alamprese, C. (2024). What is the role of environmental sustainability knowledge in food choices? A case study

- on egg consumers in Italy. *Journal of Cleaner Production*, 441, Article 141038. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.141038>
12. Chen, Y., You, L., Sun-Waterhouse, D. (2024). Effects of processing on the physicochemical characteristics and health benefits of algae products: Trade-offs among food carbon footprint, nutrient profiles, health properties, and consumer acceptance. *Trends in Food Science and Technology*, 147, Article 104375. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104375>
 13. Tzompa-Sosa, D. A., Sogari, G., Copelotti, E., Andreani, G., Schouteten, J. J., Moruzzo, R. et al. (2023). What motivates consumers to accept whole and processed mealworms in their diets? A five-country study. *Future Foods*, 7, Article 100225. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100225>
 14. Hough, G., Contarini, A. (2023). Can low-income consumers choose food from sustainable production methods? *Current Opinion in Food Science*, 51, Article 101035. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101035>
 15. Семенова, А. А., Насонова, В. В., Горошко, Г. П. (2011). Организация входного контроля пищевых добавок и ингредиентов на предприятиях мясной промышленности. *Все о мясе*, 3, 42–45. [Semenova, A. A., Nasonova, V. V., Goroshko, G. P. (2011). Organization of incoming inspection of food additives and ingredients at the meat processing industry enterprises. *Vsyo o Myase*, 3, 42–45. (In Russian)]
 16. Bagchi, D., Nair, S. (2016). Developing new functional food and nutraceutical products. Academic Press, 2016.
 17. Granato, D., Barba, F. J., Bursac Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11(1), 93–118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
 18. Кочеткова, А. А. (2019). Требования к упаковке и маркировке специализированной и функциональной пищевой продукции. *Мясные технологии*, 7(199), 40–45. [Kochetkova, A. A. (2019). Requirements for packaging and labelling of the specialized and functional food products. *Meat Branch*, 7(199), 40–45. (In Russian)]
 19. World Health Organization. (2001). Assessment of Iodine Deficiency Disorders and Monitoring Their Elimination: A Guide for Programme Managers, 2nd ed. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2001. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/61278> Accessed on 10 January 2024.
 20. Blankenship, J. L., Garret, t G. S., Khan, N. A., De-Regil, L. M., Spohrer, R., Gorstein, J. (2018). Effect of iodized salt on organoleptic properties of processed foods: A systematic review. *Journal of Food Science and Technology*, 55(9), 3341–3352. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3277-9>
 21. Dydykin, A. S., Aslanova, M. A., Derevitskaya, O. K., Soldatova, N. E. (22–25 September 2019). *Effectiveness of using iodine-containing additives in meat products for child nutrition*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. The 60th International Meat Industry Conference MEATCON2019, Kopaonik-Serbia, 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/333/1/012060>
 22. Kraysvitniy, M. V., Farionik, T. V. (2023). Production cooked sausages with the addition of iodized salt. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Food Technologies*, 25(100), 101–104. <https://doi.org/10.32718/nvlvet-fi0016>
 23. Асланова, М. А., Деревицкая, О. К., Солдатова, Н. Е. (2017). БАД для обогащения специализированных продуктов детского и взрослого питания. *Мясные технологии*, 10(178), 32–36. [Aslanova, M. A., Derevitskaya, O. K., Soldatova, N. E. (2017). Biologically active dietary supplement designed for fortifying of specialized baby and adult food product. *Meat Branch*, 10(178), 32–36. (In Russian)]
 24. Тулякова, Т. В., Шибанов, Е. И., Шибанова, А. А. (2020). Обогащение пищи органическим йодом с целью профилактики болезней щитовидной железы. *Пищевая промышленность*, 11, 52–57. [Tulyakova, T. V., Shibanov, E. I., Shibanova, A. A. (2020). An enrichment of food using organic iodine for prophylaxis of thyroid illness. *Food Industry*, 11, 52–57. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10128>
 25. Беляев, А. Г., Никитенко, О. С. (2022). Применение продуктов кунжута и ламинарии в изготовлении вареных колбасных изделий. *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК — продукты здорового питания*, 3, 177–186. [Belyaev, A. G., Nikitenko, O. S. (2022). The use of sesame and kelp products in the manufacture of boiled sausages. *Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex-Healthy Food Products*, 3, 177–186. (In Russian)] <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2022-3-177-186>
 26. Рулева, Т. А., Сарбатова, Н. Ю., Сычёва, О. В., Омаров, Р. С. (2018). Разработка рубленых мясорастительных полуфабрикатов функционального назначения. *Мясные технологии*, 1(181), 35–37. [Ruleva, T. A., Sarbatova, N. Yu., Sycheva, O. V., Omarov, R. S. (2018). Development of formulation of chopped meat and vegetable semi-finished food products of functional assignment. *Meat Branch*, 1(181), 5–37. (In Russian)]
 27. Tutelyan, V. A., Sukhanov, B. P., Kochetkova, A. A., Sheveleva, S. A., Smirnova, E. A. (2019). Russian regulations on nutraceuticals, functional foods, and foods for special dietary uses. Chapter in a book: *Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and around the World (Third Edition)*, Academic Press, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816467-9.00026-5>
 28. Vithanage, M., Herath, I., Achinthya, S. S., Bandara, T., Weerasundara, L., Mayakaduwa, S. S. et al. (2016). Iodine in commercial edible iodized salts and assessment of iodine exposure in Sri Lanka. *Archives of Public Health*, 74, Article 21. <https://doi.org/10.1186/s13690-016-0135-0>
 29. Qin Y. (2018). Applications of bioactive seaweed substances in functional food products. Chapter in a book: *Bioactive seaweeds for food applications*. Academic Press, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813312-5.00006-6>
 30. Kryzhova, Y., Antonuk, M., Stabnikov, V., Stabnikova, O. (2021). Stability of selenium and iodine in the functional meat products prepared with seaweeds under different cooking procedures. *Ukrainian Food Journal*, 10(1), 136–144. <http://doi.org/10.24263/2304-974X-2021-10-1-12>
 31. Szymandera-Buszka, K., Waszkowiak, K., Kaczmarek, A., Zaremba, A. (2021). Wheat dietary fibre and soy protein as new carriers of iodine compounds for food fortification — The effect of storage conditions on the stability of potassium iodide and potassium iodate. *LWT*, 137, Article 110424. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110424>
 32. Zaremba, A., Waszkowiak, K., Kmiecik, D., Jędrusek-Golińska, A., Jarzębski, M., Szymandera-Buszka, K. (2022). The selection of the optimal impregnation conditions of vegetable matrices with iodine. *Molecules*, 27(10), Article 3351. <https://doi.org/10.3390/molecules27103351>
 33. Dydykin, A. S., Zubarev, Yu. N., Logunova, E. I., Kuzlyakina, Yu. A. (2023). Modern forms of iodine-containing food components. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(3), 172–182. <https://doi.org/10.21323/2414-438x-2023-8-3-172-182>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Дыдыкин Андрей Сергеевич — доктор технических наук, доцент, руководитель отдела научно-прикладных и технологических разработок, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (доб. 264) E-mail: a.didikin@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0208-4792 Зубарев Юрий Николаевич — заместитель директора, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (доб. 110) E-mail: yu.zubarev@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6519-4553 Логунова Евлалия Игоревна — инженер-исследователь отдела функционального и специализированного питания, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (доб. 114) E-mail: e.logunova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6631-6305 * автор для контактов Кузлякина Юлия Алексеевна — кандидат технических наук, руководитель отдела Технического регулирования, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-61-21 E-mail: yu.kuzlyakina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1634-1486	Andrey S. Dydykin, Doctor of Technical Sciences, Docent, Head of the Department Functional and Specialized Nutrition, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (264) E-mail: a.didikin@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0208-4792 Yuriy N. Zubarev, Deputy Director, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (110) E-mail: yu.zubarev@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6519-4553 Evlaliya I. Logunova, Research Engineer of the Department Functional and Specialized Nutrition, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (114) E-mail: e.logunova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6631-6305 * corresponding author Yulya A. Kuzlyakina, Candidate of Technical Sciences, Chief Researcher, Head of the Department of Technical Regulation, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-61-21 E-mail: yu.kuzlyakina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1634-1486
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-298-304>

Поступила 27.04.2024

Поступила после рецензирования 18.06.2024

Принята в печать 20.06.2024

© Посокина Н. Е., Захарова А. И., 2024

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

Обзорная статья

Open access

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

Посокина Н. Е.*, Захарова А. И.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

растительное сырье,
бактериофаги, фаги,
фаговые коктейли,
бактериоцины,
ферменты,
фитохимикаты

Болезни пищевого происхождения, главным образом инфекционные, являются основной причиной заболеваемости и смертности во всем мире. Патогенные бактерии присутствуют практически на каждом этапе цепочки производства продуктов питания, ставя под угрозу программы компаний по обеспечению безопасности пищевых продуктов и вызывая вспышки заболеваний пищевого происхождения в различных регионах мира. Поиск новых решений, обеспечивающих соответствующую микробиологическую стабильность пищевых продуктов с минимальной обработкой, является ключевым фактором в борьбе с бактериальными патогенами, вызывающими пищевые инфекции. Применение химических и физических методов консервирования пищевых продуктов часто приводит к ухудшению их пищевой ценности, физических и органолептических свойств. Пищевые продукты с минимальной обработкой, изготовленные без каких-либо радикальных методов консервации, могут подвергаться особому риску развития микроорганизмов, в том числе патогенных. Низкотемпературные производственные процессы и холодильное хранение способствуют развитию психрофильных микроорганизмов, другую угрозу представляет высокая микробиологическая обсемененность сырья. Для сохранения качества пищевых продуктов наиболее часто используются физико-химические методы, в том числе упаковка в модифицированной атмосфере, мембранные методы или ультразвук. Альтернативно могут быть применены биологические методы: бактериофаги и фаговые коктейли, бактериоцины, инактивация ферментов деградации растительной ткани, фитохимикаты, съедобные покрытия. При этом они могут использоваться как индивидуально для ограничения роста бактерий в пищевой среде, так и в сочетании с другими методами с целью достижения максимального эффекта. В данной статье рассмотрены основные биологические методы борьбы с болезнетворными бактериями, наиболее часто встречающимися в пищевой среде. Целью данного обзора являлось рассмотрение существующих биологических методов обработки растительных объектов, а также выявление преимуществ и недостатков каждого способа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследования проводились в рамках государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН FGUS-2024-0004.

Received 27.04.2024

Accepted in revised 18.06.2024

Accepted for publication 20.06.2024

© Posokina N. E., Zakharova A. I., 2024

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

Review article

Open access

MODERN BIOLOGICAL METHODS OF PROCESSING PLANT RAW MATERIALS USED TO INCREASE ITS STORAGE CAPACITY

Natalia E. Posokina*, Anna I. Zakharova

All-Russian Scientific Research Institute of Preservation Technology, Vidnoe, Moscow region, Russia

KEY WORDS:

vegetable raw
materials,
bacteriophages,
phages, phage
cocktails,
bacteriocins,
enzymes,
phytochemicals

ABSTRACT

Foodborne illnesses, mainly infectious, are a leading cause of morbidity and mortality worldwide. Pathogenic bacteria are present at virtually every stage of the food production chain, compromising company food safety programs and causing outbreaks of foodborne illnesses in various regions of the world. Finding new solutions that provide adequate microbiological stability to minimally processed foods is key to controlling bacterial pathogens that cause foodborne illnesses. The use of chemical and physical methods of food preservation often leads to a deterioration in their nutritional value, physical and organoleptic properties. Minimally processed foods produced without any radical preservation methods may be at particular risk of developing microorganisms, including pathogens. Low-temperature production processes and refrigerated storage promote the development of psychrophilic microorganisms; another threat is posed by high microbiological contamination of raw materials. To preserve the quality of food products, the most commonly used physicochemical methods include modified atmosphere packaging, membrane methods or ultrasound. Alternatively, biological methods can be used: bacteriophages and phage cocktails, bacteriocins, inactivation of plant tissue degradation enzymes, phytochemicals, edible coatings. Moreover, they can be used either individually to limit the growth of bacteria in the food environment, or in combination with other methods in order to achieve maximum effect. This article discusses the main biological methods of combating pathogenic bacteria most commonly found in the food environment. The purpose of this review was to consider existing biological methods for processing plant objects, as well as to identify the advantages and disadvantages of each method.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2024-0004 of the state assignment of the V. M. Gorbakov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Фрукты и овощи — это метаболически активные, скоропортящиеся свежие продукты с достаточно коротким сроком хранения.

Послеуборочная обработка свежих продуктов используется в качестве стратегии, позволяющей свести к минимуму серьезные потери питательных свойств и качества. Более того, она имеет решающее

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Посокина, Н. Е., Захарова, А. И. (2024). Современные биологические способы обработки растительного сырья, применяемые для увеличения его хранимостности. *Пищевые системы*, 7(2), 298–304. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-298-304>

FOR CITATION: Posokina, N. E., Zakharova, A. I. (2024). Modern biological methods of processing plant raw materials used to increase its storage capacity. *Food Systems*, 7(2), 298–304. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-298-304>

значение с точки зрения безопасности потребителей. Обработка после сбора урожая замедляет физиологические процессы в свежих фруктах и овощах, такие как дыхание, старение и созревание. Кроме того, она также снижает частоту атак патогенов и микробного загрязнения, что увеличивает срок хранения свежих продуктов.

В последние годы безопасность пищевых продуктов, вызванная пищевыми патогенами и бактериями, вызывающими порчу, стала серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире.

Обычные антибактериальные методы, включая стерилизацию/пастеризацию, приготовление под давлением, радиационную обработку, а также химические антисептики могут снизить бактериальную активность в пище до значимых уровней. Но, при этом, они имеют и серьезные недостатки, такие как повышенные первоначальные затраты, возможность возникновения неисправностей оборудования из-за коррозионной активности, отрицательное воздействие на органолептические свойства пищевых продуктов и, возможно, их пищевую ценность.

Поиск натуральных биологических методов обработки, которые позволяют производить продукты питания, безопасные для потребления человеком и не влияющие на вкус, текстуру и питательные качества продуктов питания, является постоянной проблемой для различных пищевых отраслей во всем мире, особенно с учетом того, что человеческое население продолжает расти, а множественная устойчивость патогенных бактерий к антибиотикам становится все более распространенной.

В обзоре рассматриваются недавние исследования, посвященные послеуборочной обработке с помощью биологических методов, с целью охватить современное состояние текущих исследований и стратегий, используемых для сокращения послеуборочных потерь фруктов и овощей.

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

2. Материалы и методы

Объектами изучения являлись нормативные документы и научные публикации российских и зарубежных авторов, посвященные использованию биологических методов обработки растительных объектов с целью снижения количества контаминирующей микрофлоры и увеличения их хранимостности. Поиск осуществлялся на платформах eLibrary.ru, Scopus, ResearchGate и в открытых интернет-источниках. Был проведен поиск публикаций с использованием нескольких комбинаций ключевых слов, включая следующие: растительное сырье, бактериофаги, фаги, фаговые коктейли, бактериоцины, ферменты, фитохимикаты.

Из найденных публикаций были исключены источники, не содержащие полные тексты научных трудов. Основные публикации, включенные в обзор, охватывали временной интервал с 2017 по 2024 годы.

3. Бактериофаги

Количество вспышек заболеваний, вызванных патогенами пищевого происхождения, показывает, что методы, используемые в промышленности для борьбы с бактериальными патогенами пищевого происхождения, такими как *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria* и др., неэффективны [1]. В связи с этим есть необходимость разработки новых эффективных средств или методов для сохранения свежести продуктов и защиты их от патогенов. Использование бактериофагов является одним из альтернативных методов в качестве естественных антибактериальных средств.

Бактериофаги (фаги) — это вирусы, которые специфически взаимодействуют с бактериальными клетками и заражают их. Фаги ответственны за уничтожение почти половины бактериальной популяции, ежедневно образующейся в природе [2]. Учитывая короткое время размножения бактерий, фаги являются наиболее смертельными врагами бактерий. Использование бактериофагов не должно негативно восприниматься потребителями, поскольку они являются естественными врагами бактерий и встречаются в природе без каких-либо известных побочных эффектов на эукариотические организмы [3,4].

Открытие фагов предшествовало исследования Ханкина (1896) и Гамалея (1898), которые примерно в 1880-х годах сообщили о спорадических находках, предположительно, относящихся к фагам. Сегодня принято считать, что бактериофаги были открыты в ходе двух независимых исследований, проведенных Твортом (1915) и д'Эрелем (1917). Названия «бактериофаг» и «фаговая бляшка» были введены д'Эрелем, который впервые применил фаги для лечения тяжелой дизентерии в 1919 году. Фаги использовались в западном

мире для лечения бактериальных инфекций до того, как в 1940-х годах в клинической практике был использован первый антибиотик — пенициллин. Благодаря эффективности антибиотиков они стали широко применяться во время Второй мировой войны. В этой связи исследования фагов на Западе не нашли должного развития и были продолжены только в бывшем Советском Союзе и в странах Восточной Европы [5]. С момента открытия бактериофагов они считались ключевым инструментом в борьбе с бактериальными болезнями человека и животных. В настоящее время наблюдается рост устойчивости микробов к антибиотикам, в связи с чем внимание научного сообщества к использованию бактериофагов снова возросло.

Фаги представлены разнообразием видов и форм. По взаимодействию фагов с бактериальными клетками-хозяевами они делятся на 2 группы: облигатные и умеренные. Однако в последнее время в литературе упоминается и третья группа — хронические фаги [6].

3.1. Облигатные фаги

Облигатные фаги являются лучшими объектами для исследований в области фаготерапии. Их также называют литическими фагами, поскольку они имеют литический жизненный цикл внутри клеток-хозяев. Существует два способа, которыми литические фаги убивают бактерии-мишени: лизис изнутри (LWI) и лизис снаружи (LWO) [7,8]. Выбор метода зависит от множественности инфекции (MOI), которая представляет собой соотношение доступных вирулентных литических фагов и доступных бактериальных клеток-мишеней. Лизис изнутри применяется, когда один или несколько литических фагов инфицируют чувствительные бактериальные клетки. При заражении геном фага реплицируется внутри бактериальной клетки-хозяина с помощью собственных ферментов и белков репликации ДНК клетки. Когда вновь созданные фаги собираются, мембрана инфицированной клетки-хозяина лизируется, чтобы высвободить дочерние фаги. Лизис извне происходит, когда MOI равен или превышает количество, которое могут разместить бактериальные клетки-хозяева. Множественная адсорбция фагов в клетку вызывает быстрое набухание и деформацию формы с последующим разрушением клеточной мембраны. Ни бактериальная клетка-хозяин, ни адсорбированные фаговые частицы после LWO не выживают [9].

3.2. Умеренные фаги

Известны как лизогенные фаги, способные реплицироваться внутри клетки-хозяина и лизировать хозяина для высвобождения потомства, так и литические фаги. Разница в том, что лизогенный фаг может включать свой геном в бактериальную ДНК и, таким образом, формировать прочную связь с клеткой-хозяином. Фаг, геном которого встроен в ДНК клетки хозяина, называется профагом [10]. Геном профага реплицируется с геномом хозяина во время митоза, а затем распространяется в дочерние клетки. Благодаря этому профаг может присутствовать в бактериях-хозяевах на протяжении поколений. Профаг может выйти из лизогенного жизненного цикла и вернуться к литическому жизненному циклу посредством процесса, называемого индукцией профага, приводящему к его удалению из генома хозяина под действием таких стимуляторов, как радиация, pH, температура и тяжелые металлы [11]. При удалении профага из ДНК хозяина он может занять часть фланкирующих участков ДНК хозяина, и эти участки способствуют генетическому разнообразию бактериофагов и их хозяев посредством трансдукции [12].

3.3. Хронические фаги

Нитчатые фаги реплицируются и покидают клетку-хозяина путем почкования, а не лизиса, что приводит к непрерывному производству фага [2]. Тот факт, что нитчатые фаги не убивают клетки-хозяина, делает их непригодными для использования в качестве средства борьбы с патогенными микроорганизмами [12].

В последние годы в коммерческом использовании появился ряд препаратов на основе фагов для борьбы с некоторыми ведущими патогенами пищевого происхождения, включая *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* и *Escherichia coli* [13].

Перспектива их применения подтверждает уверенность отрасли в эффективности и безопасности фаговых препаратов, имеющих статус общепризнанных безопасных (GRAS) для использования в пищевой промышленности. Многие коммерческие фаговые компании имеют сертификат FDA.

Liu et al. [14] оценили потенциал антисальмонеллезного фага LSE7621 для биоконтроля патогена на листьях салата и обнаружили, что количество сальмонелл снизилось на 0,86 lg КОЕ/мл при MOI 100 и на 1,02 lg КОЕ/мл при MOI 1 в течение шести часов. Кроме того, в аналогичных экспериментах по заражению тофу (коагулированное соевое молоко) наблюдалось снижение количества сальмонелл

на 3,55 lg КОЕ/мл (MOI = 100) и 1,86 lg КОЕ/мл (MOI = 1) в течение четырех часов.

Применение бактериофагов в целях биоконтроля перспективно в ряде областей, включая сельское хозяйство и производство продуктов питания. Взаимоотношения бактериофагов с хозяевами представляют собой сложный симбиоз: с одной стороны, бактериофаги обладают антибактериальным эффектом, с другой — они регулируют рост микробных популяций и способствуют их эволюции путем горизонтального переноса генов.

Естественная способность бактериофагов (фагов) заражать и уничтожать бактерии-мишени, а также тот факт, что они повсеместно распространены в окружающей среде и безвредны для людей и животных, доказывают их важность как для обнаружения, так и для контроля патогенов на каждом этапе процесса производства продуктов питания.

К минусам использования фагов можно отнести их избирательное действие на определенный вид микроорганизмов. С целью обеспечения широкого спектра воздействия на патогенную микрофлору используют фаговые коктейли, конструируя их таким образом, чтобы обеспечить летальное воздействие на максимально широкий спектр контаминирующих микроорганизмов [15].

4. Фаговые коктейли

С целью оценки эффективности фагового коктейля для улучшения микробиологического качества продукции было проведено исследование пяти различных смешанных салатов: рукколы, разнолистного салата с морковью, разнолистного салата со свеклой, мытого и немывтого шпината, хранящихся в охлажденных условиях [16]. Палочки *Enterobacterales* составляли значительную группу бактерий в тестируемых продуктах. Выбранные бактерии были проверены на устойчивость к антибиотикам, а затем использованы для поиска специфических бактериофагов. Из сточных вод было выделено 43 фага, нацеленных на бактерии, доминирующие в смешанных салатах. Их титр определяли, а литическую активность оценивали с помощью автоматического ростового анализатора Bioscreen C Pro. Два метода нанесения фагового коктейля, включая распыление и впитывающую подушечку, были эффективны для рукколы, листового салата с морковью и для смешанного листового салата со свеклой. Максимальный уровень снижения количества бактерий через 48 ч инкубации достигал 99,9% по сравнению с контрольным образцом. В мытом и немывтом шпинате попытки уменьшить количество микроорганизмов не принесли должного эффекта. Снижение количества бактерий в салатных смесях зависело от состава автохтонных видов сапрофитных бактерий. Оба метода применения фагового коктейля значительно улучшили микробиологическое качество минимально обработанных продуктов. Таким образом, применение полноспектрального фагового коктейля может представлять собой альтернативный метод улучшения микробиологического качества пищевых продуктов, при этом не оказывая негативного влияния на их свойства [16].

В исследовании [17] описано комбинированное действие фагового коктейля (STG2, SEG5 и PS5), ЭДТА, низина и полилизина против бактериального коктейля, состоящего из *S. typhimurium*, *S. enteritidis* и *E. coli* O157: H7. В целом, фаговый коктейль (отдельно или в сочетании с низином и/или полилизином) не только продемонстрировал высокую антибактериальную активность против бактериального коктейля при различных температурах (4 °C, 24 °C и 37 °C), но и полностью ингибировал появление бактерий. Эти результаты позволяют предположить, что комбинация фагов с низином и/или полилизином имеет большой потенциал для одновременного контроля *S. typhimurium*, *S. enteritidis* и *E. coli*.

В исследовании, проведенном Wong et al. [18], пятикомпонентный фаговый коктейль использовался для контроля семи штаммов *S. enterica* после инокуляции на листья салата ромэн и дыню. Фаговый коктейль наносили на образцы за 24 часа до инокуляции бактериями. Результаты значительно различались между различными мишенями сальмонеллы и подчеркнули, что, хотя фаги обладают потенциалом для биоконтроля сальмонеллы, успех зависит от штамма [18,19].

В исследовании [20] были протестированы *Gluconobacter asaii* (бактериальный антагонист, встречающийся в природе в плодах яблоки) и бактериофаг в качестве средств биоконтроля *Listeria monocytogenes* на свежесрезанных кусочках дыни при низкой температуре в упаковке из функциональной пленки, изготовленной из смешанного цеолита и пегматита толщиной 20 мм. *Gluconobacter asaii* и бактериофаг были эффективны против *L. monocytogenes*, при этом объединение этих двух методов дало синергический эффект. Обработка только *G. asaii* снижала обсемененность приблизительно на 4–5 порядков, в то время как обработка только одним фагом дава-

ла снижение только на 1 порядок. Для сравнения, комбинированная обработка против листерий снизила популяцию до 6 КОЕ/г к седьмому дню, особенно в упаковке из функциональной пленки. Кроме того, срок хранения дыни, упакованной в функциональную пленку, увеличился на 5–6 дней по сравнению с контрольными образцами. Результаты данного исследования показывают, что комбинация *G. asaii* и фага может быть очень эффективной для снижения загрязнения *L. monocytogenes* свежесрезанной дыни при низкой температуре в упаковке из функциональной пленки.

Исследователи предсказывают, что высокотехнологичное и эффективное управление бактериофагами станет важной частью будущего противодействия бактериям, устойчивым к антибиотикам. В настоящее время применение фагов подходит в качестве дополнительного инструмента химической дезинфекции, особенно при применении дезинфицирующих средств и/или бактерий, устойчивых к антибиотикам. Кроме того, использование фагов будет иметь большую эффективность при применении фаговых коктейлей в сочетании, например, с бактерицидами и/или со съедобными покрытиями.

5. Бактериоцины

Появление в мире штаммов патогенов, устойчивых к имеющимся в настоящее время антибиотикам, и связанная с ними токсичность вызвали необходимость поиска других природных альтернатив противомикробным препаратам. В этом отношении недавние открытия в области противомикробных агентов, секретируемых видами бактерий против конкурирующих штаммов, приобретают важное значение. Эти природные вещества представляют собой синтезированные рибосомами низкомолекулярные, термостабильные, мембраноактивные, протеолитически разлагаемые и образующие поры катионные пептиды, известные как бактериоцины. Благодаря своему антибактериальному, противовирусному, противогрибковому и антибиопленочному потенциалу бактериоцины могут стать доступным средством борьбы с противомикробной резистентностью, одновременно минимизируя токсическое воздействие антибиотиков на организм хозяина [21].

Высокий потенциал бактериоцинов как натуральных пищевых консервантов вызвал всплеск интереса ученых к их исследованию, особенно в области молочнокислых бактерий (МКБ) [22]. МКБ — разнообразная группа каталазоотрицательных, неспорулирующих и грамположительных бактерий, известных как пробиотические молочнокислые бактерии. Они являются основными продуцентами молочной кислоты из глюкозы. МКБ обладают антимикробной активностью в отношении патогенных бактерий, их аутоагрегация составляет около 60%, также они показывают высокий процент образования биопленок. Для поддержания их развития требуется набор аминокислот, пептидов, нуклеотидных оснований, витаминов, жирных кислот и углеводов [23–25]. МКБ известны своей пользой для организма и в соответствующих условиях способны продуцировать природные антимикробные соединения, которые могут использоваться в качестве биоконсервантов в пищевых продуктах, тем самым увеличивая их сроки хранения [26–29]. Исследователями [30] отмечается их потенциал для использования в контролируемых средах в качестве специфических стартовых культур или естественных конкурентов в микробиоте. Примечательно, что несколько штаммов продуцируют бактериоцины, которые являются мощными антимикробными соединениями, оказывающими воздействие на микроорганизмы даже в низких концентрациях.

Растущий интерес к МКБ способствовал открытию множества новых пептидов [31]. Среди МКБ идентифицировано несколько важных родов, в том числе *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Lactosphaera*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, и *Weissella*, *Vagococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus* и *Leuconostoc*. Кроме того, другие роды, такие как *Bifidobacterium*, *Microbacterium*, *Aerococcus* и *Propionibacterium*, вносят свой вклад в разнообразие видов [24]. Известные виды МКБ включают *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus Lactis Lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus Casei*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, *Lactofermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *B. infantis*, *B. Teenis*, *B. breve*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus Lactis Cremoris*, *Lactobacillus Casei Rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum* и *Enterococcus faecium*, причем некоторые штаммы признаны пробиотиками [32–34]. В научных исследованиях указывается на наличие трех основных классов бактериоцинов: лантибиотики (класс I), нелантибиотики (класс II) и термочувствительные (класс III) бактериоцины.

5.1. Класс I: лантибиотики

Лантибиотики — бактериоцины класса I, которые содержат модифицированные аминокислоты лантионин и метиллантионин. Они представляют собой подкласс пептидных соединений с уникальны-

ми характеристикам [35]. На основании структурного сходства лантибиотиков подразделяются на два типа.

Лантибиотики типа А — положительно заряженные пептиды удлиненной формы. Самыми известными представителями этого типа являются низин и лактацин 3147 с молекулярной массой от 2 до 4 кДа. Эти лантибиотики в первую очередь действуют путем создания пор в цитоплазматической мембране чувствительных видов-мишеней, что приводит к деполяризации мембраны. Лантибиотики типа В представляют собой нейтральные или отрицательно заряженные пептиды с более глобулярной формой [36].

5.2. Класс II: нелантибиотики

Бактериоцины II класса представляют собой группу небольших пептидов (до 10 кДа), обладающих относительно высокой термостабильностью и мембраноактивными свойствами. В отличие от бактериоцинов I класса они не содержат лантионин. Проникают в мембрану клетки-мишени для ее гибели с помощью своей спиральной структуры, которая позволяет им внедряться в мембрану клетки-мишени, что приводит к деполяризации и гибели [37]. Нелантибиотики подразделяются на три типа: первый тип активен против *Listeria monocytogenes*; второй тип содержит два различных пептида, которые действуют синергически, вызывая противомикробный эффект; третий включает в себя кольцевые бактериоцины, которые способствуют образованию пор в клетках-мишенях [37,38].

5.3. Класс III: бактериоцины

Бактериоцины характеризуются молекулярной массой более 30 кДа и состоят из белков, очень чувствительных к нагреванию. В этой связи они не являются предметом интереса исследователей по сравнению с другими классами [39]. Представители этого класса — энтеролизин, вырабатываемый *Enterococcus faecium*, и гельветицин I, продуцируемый *Lactobacillus helveticus* [40].

5.4. Класс IV: бактериолизины

Представители данного класса состоят из лейконоцина S и лактоцина [41]. Это сложные бактериоцины, содержащие различные химические соединения, в том числе липиды [26]. Бактериоцины — это специализированные белки, которые проявляют бактерицидные свойства, подавляющие развитие контаминирующей микрофлоры определенных видов. Механизмы, за счет которых они оказывают антибактериальное действие, лежат в основе классификации бактериоцинов. Среди этих механизмов создание селективных пор или каналов в мембране бактериальной клетки-мишени является одним из наиболее хорошо изученных. О существовании мембраносвязанных рецепторов в клетке-мишени свидетельствует узкий диапазон действия некоторых бактериоцинов [42]. Было обнаружено, что лантибиотики, разновидность бактериоцинов класса I, такие как низин, обладают двойным механизмом действия. Механизмы действия бактериоцинов могут оказывать различное воздействие: в одном случае они могут связываться с липидом II (универсальный рецептор, участвующий в транспорте пептидогликана), что нарушает правильный синтез клеточной стенки и приводит к гибели клеток; с другой стороны, они могут использовать липид II для инициирования образования пор мембраны, что приводит к быстрой гибели клеток. Бактериоцины могут оказывать бактериостатическое действие на одни виды бактерий и бактерицидное действие на другие, благодаря избирательному воздействию на специфические участки клеточной мембраны, вызывая изменения ее функций и целостности [37]. Воздействуя на клетки микроорганизмов, бактериоцины могут вызывать различные биохимические реакции, такие как подавление синтеза пептидогликана, разрушение клеточной ДНК и нарушение процесса расщепления рибосомальной РНК. Исследования МКБ показали широкий спектр их ингибирующего действия как на грамотрицательные, так и на грамположительные бактерии [39]. Часть бактериоцинов обладают узким специфическим воздействием, которое присутствует только у некоторых грамположительных бактерий. Примером может служить низин, который ингибирует рост стафилококков, стрептококков, бацилл, клостридий и микобактерий [43].

Бактериоцины проявляют противомикробную активность в зависимости от пептида, который может воздействовать на несколько бактерий [44].

6. Производство и очистка бактериоцинов

Бактериоцины могут вырабатываться естественным путем во время ферментации пищевых продуктов, но более масштабные количества могут вырабатываться МКБ посредством ферментации *in vitro*, проводимой в оптимальных физических и химических услови-

ях [36–45]. На рост биомассы и бактериоцинов оказывают влияние температура, активная кислотность, содержание хлоридов и других компонентов [46].

Бактериоцины и другие метаболиты, продуцируемые молочнокислыми бактериями, обычно считаются безопасными соединениями с такими свойствами, как стабильность, антимикробная активность, нетоксичность и минимальная модификация вкуса. В настоящее время в качестве пищевых добавок коммерциализированы только низин и педиоцин PA-1. Однако другие бактериоцины МКБ, такие как лакцин 3147 [47] и энтероцин AS-48 [48], перспективны в качестве биоконсервантов в пищевых продуктах.

МКБ, вырабатывающие бактериоцины, можно использовать для консервирования продуктов растительного происхождения. Исследователями [28] было установлено, что включение МКБ, продуцирующих бактериоцины, снижало начальную бактериальную нагрузку в готовых к употреблению смешанных овощных салатах.

Стартовые культуры, вырабатывающие бактериоцины, также используют при ферментации овощной продукции, при этом подавляется рост микроорганизмов, вызывающих порчу продукта [26]. В качестве примера механизма действия бактериоцинов можно привести лактицин 3147, который является двухкомпонентным бактериоцином, полученным из *Lactobacillus Lactis* subsp. *Lactis* DPC3147. Он эффективен против различных видов микроорганизмов [47,48]. Исследования бактериоцинов, выделяемых *Lactobacillus plantarum* F12, также показали их ингибирующую активность в отношении широкого спектра бактерий, вызывающих порчу [49].

Известно, что упаковочные пленки должны обладать определенными барьерными свойствами и защищать продукт от неблагоприятных условий внешней среды. С этой целью в настоящее время исследуются возможности включения бактериоцинов в упаковочные пленки. Исследования [50] показали, что при контакте упаковки с противомикробными пептидами и поверхностью пищевого продукта бактериоцин проникает в его матрицу и запускается процесс контролируемой диффузии. Этот процесс имеет преимущества перед опрыскиванием или погружением продуктов в бактериоцин. Для борьбы с инфекциями пищевого происхождения авторами [51] было предложено использовать мультибактериоцины — продуцирующие бактерии, сочетающие низин А с другими бактериоцинами.

Усилия ученых направлены на повышение функциональности существующих бактериоцинов, которые могут использоваться для увеличения хранимостойкости как свежего сырья, так и готовых пищевых систем. Исследования сосредоточены на устранении текущих ограничений молекулярной инженерии бактериоцинов и их производных. Цели включают повышение активности, расширение спектра противомикробных препаратов и повышение скорости доставки и высвобождения в пищевой среде. Один из потенциальных подходов в этой области включает модификацию и изменение аминокислотных последовательностей бактериоцинов [52].

Нетоксичность и статус считающихся безопасными бактериоцинов МКБ означает их огромный потенциал коммерциализации, а исследования их биологии в настоящее время являются наиболее широко изучаемым предметом биотехнологии. Их собственный пищевой консервирующий потенциал может быть усилен комбинаторными подходами с другими противомикробными агентами.

7. Ферменты

Ферменты — это глобулярные белки, которые действуют как катализаторы, ускоряющие реакцию за счет снижения энергии активации. Некоторым ферментам для каталитической активности требуются кофакторы — небольшие органические молекулы или ионы металлов. В отличие от химических катализаторов, ферменты имеют природное происхождение, действуют при умеренной температуре и давлении, обладают высокой специфичностью и биоразлагаемостью [53]. Ферменты, присутствующие во фруктах и овощах, играют огромную роль в определении текстуры, цвета, аромата и вкусовых качеств обработанных продуктов [54]. Основными ферментами в данном контексте являются липоксигеназа, пероксидаза, полифенолоксидаза и пектолитические ферменты. Липоксигеназа катализирует окисление полиненасыщенных жирных кислот в присутствии кислорода, что приводит к образованию летучих альдегидов и тем самым к изменению аромата. Пероксидаза считается причиной изменения вкуса и аромата и, кроме того, приводит к потемнению (побурению) растительных объектов. Полифенолоксидаза обуславливает потемнение тканей путем окисления полифенолов до хинонов. Пектолитические ферменты способствуют размягчению тканей и, соответственно, к изменению текстуры овощей и фруктов [55]. Таким образом, инактивация данных ферментов должна способст-

воват сохранению органолептических показателей растительных объектов или отсрочке возможных их изменений.

Целью исследования [56] было продление срока хранения фруктов и овощей с помощью нового метода, основанного на использовании микробного фермента глюкозооксидазы и нанесении тонкого слоя перекиси водорода на пищевой продукт, который защищал фрукты от гниения. Полученные наночастицы (ZnO, Ag) лигировали с помощью окисления глюкозы (GOx), полученной из *Aspergillus niger*. Исследования показали, что лигированные ферменты проявляют относительно повышенную активность. Для сравнения их эффективности были приготовлены четыре типа спреев. Глюкозооксидаза/наночастицы серебра (GOx/AgNP), глюкозооксидаза/наночастицы оксида цинка (GOx/ZnONP), спрей AgNP и ZnONP наносились на образцы плодов гуавы в качестве послеуборочных обеззараживающих средств в течение 15 дней. Параметры качества фруктов, такие как общее количество взвешенных веществ (TSS), pH, убыль массы, эффективность улавливания свободных радикалов DPPH и твердость, подтверждают, что использование биоконъюгатов, особенно GOx/ZnONP, было эффективным и способствовало сохранению внешнего вида и химического состава плодов. Следовательно, ферменты, лигированные на поверхности наночастиц (ZnONP), исключительно полезны для продления срока хранения фруктов, таких как гуава, после сбора урожая.

В условиях глобализации экономики контроль за созреванием фруктов имеет стратегическое значение, поскольку чрезмерное размягчение ограничивает их срок хранения. В исследовании [57] были предприняты попытки по уменьшению степени размягчения плодов трансгенных томатов за счет подавления генов, кодирующих белки, разрушающие клеточную стенку. Однако они имели весьма ограниченный успех. Сообщается, что N-гликаны играют важную роль во время созревания фруктов, хотя роль какого-либо конкретного фермента пока неизвестна. Авторы идентифицировали два специфичных для созревания фермента, модифицирующих N-гликопротеин. Показано, что их инактивация увеличивает срок хранения плодов за счет снижения скорости размягчения. Анализ трансгенных томатов выявил примерно в 2–2,5 раза более твердые плоды, а также увеличенный срок хранения примерно на 30 дней. Кроме того, сравнительные транскриптомные исследования демонстрируют снижение регуляции генов, связанных с деградацией и созреванием клеточной стенки. Из этих результатов очевидно, что процессинг N-гликанов участвует в размягчении фруктов, связанном с созреванием. Генетические манипуляции с обработкой N-гликанов могут иметь стратегическое значение для увеличения срока хранения плодов без какого-либо негативного влияния на фенотип и урожайность.

По мере увеличения количества идентифицированных ферментов и совершенствования методологий производства ферментов можно ожидать появления новых и/или улучшенных функциональных возможностей и дальнейших коммерческих пищевых ферментов, чтобы гарантировать их эффективность в сочетании с безопасностью.

8. Съедобные покрытия

В настоящее время пищевая промышленность [58,59] сталкивается с новыми вызовами в области устойчивого развития и безопасности продуктов, связанными с технологиями, упаковкой и обработкой. Стремление к получению новых и натуральных продуктов в сочетании с изменением образа жизни потребителей приводит к спросу на пищевые продукты, которые были бы менее обработаны, но обладали бы более длительным сроком хранения, сохраняя при этом питательную ценность и вкусовые качества в процессе хранения. Эти требования представляют собой реальные проблемы при работе со скоропортящимися пищевыми продуктами, такими как фрукты и овощи. В последние годы пищевые покрытия интенсивно разрабатываются и изучаются из-за их способности улучшать качество, срок годности, безопасность и функциональность обработанных продуктов.

Пищевые покрытия — это экологически чистая технология, применимая ко многим растительным продуктам для контроля влагопередачи, газообмена или процессов окисления. Пищевые покрытия дают тот же эффект, что и хранение в модифицированной атмосфере, обеспечивая объекту дополнительную защиту. Функциональность съедобных пленок и покрытий схожа. Однако съедобные пленки и покрытия различаются по своим технологическим и физико-механическим характеристикам, поскольку они предназначены для улучшения срока хранения, барьерных и питательных свойств пищевых продуктов [60].

В связи с растущей обеспокоенностью потребителей по поводу устойчивости производства пищевых продуктов, биомакромолекулы стали использоваться при изготовлении съедобных пленок

и покрытий. Биополимеры, включающие полисахариды, белки и липиды, являются основными составляющими съедобных пленок и покрытий. Они образуют стабильные коллоидные дисперсии, которые обеспечивают удобство обработки с помощью различных методов нанесения/использования [61].

Съедобные пленки и покрытия из биополимеров требуют усовершенствований для повышения их эффективности из-за ряда структурных и барьерных ограничений. Таким образом, подготовка смесей и композитов, включение целевых молекул для придания различных функциональных свойств и создание сложных многослойных слоев являются частью современных исследовательских подходов, разработанных для преодоления этих ограничений. Эти подходы обеспечивают улучшенную сохранность пищевых продуктов и увеличенный срок хранения, что является важным требованием по утилизации пищевых отходов, с минимальным влиянием или без минимального влияния на текстуру, вкус и пищевую ценность продуктов питания [62].

Съедобные покрытия наносятся различными способами — погружением в раствор, распылением или покрытием с целью контроля влагопереноса, газообменных процессов или окисления. Кроме того, в съедобную матрицу могут быть включены некоторые функциональные ингредиенты и далее нанесены на поверхность пищевых продуктов с целью повышения безопасности или питательных и сенсорных свойств. В случае фруктов и овощей в оболочке следует учитывать их параметры качества, такие как цвет, твердость, микробная нагрузка, степень разложения, потеря веса, органолептические свойства и параметры питания, которые очень специфичны для типа продуктов и условий их хранения [63].

Одним из ингредиентов, используемых для создания съедобных покрытий, является гуммиарабик — полисахаридный полимер, который встречается в природе и широко применяется в биологической промышленности. Его получают в основном из деревьев акации сенегальской и акации сейал. Недавно гуммиарабик стал использоваться в качестве пищевого покрытия после сбора урожая и вызвал большой интерес благодаря своей способности сохранять качество и увеличивать срок хранения свежих продуктов. Он считается эффективным пищевым консервантом благодаря своим благоприятным эмульгирующим, стабилизирующим, связывающим и продлевающим срок хранения свойствам [64].

Одним из основных преимуществ использования пищевых пленок и покрытий является то, что несколько активных ингредиентов могут быть включены в полимерную матрицу и употребляться с пищевыми продуктами, тем самым повышая безопасность или даже питательные и сенсорные свойства. Действенность пищевых покрытий для свежих продуктов полностью зависит от контроля внутреннего газового состава.

9. Фитохимикаты

Фрукты и овощи являются наиболее важными источниками фитохимических веществ, которые могут использоваться как в рационе человека, так и в качестве натуральных противомикробных средств при консервировании пищевых продуктов. Их польза для здоровья обусловлена главным образом высокой антиоксидантной активностью. Антимикробные препараты растительного происхождения могут играть роль не только в подавлении пищевых патогенов, но также способствовать приданию вкуса пище. Фитохимические вещества оказывают сильное влияние на контроль и предотвращение естественных процессов порчи и роста микроорганизмов, включая патогены, вызывающие проблемы с безопасностью пищевых продуктов [65].

Помимо потенциального продления срока годности различных товаров (включая продукты питания, косметику и фармацевтические препараты), фитохимические вещества, полученные из побочных продуктов пищевой масложировой промышленности, также могут иметь дополнительные преимущества благодаря своим антиоксидантным и антибактериальным свойствам [66].

Увеличение и/или снижение фитохимических показателей может быть полезно при хранении фруктов: повышенная концентрация антиоксидантов может продлить срок хранения и снизить поражение послеуборочными заболеваниями [67].

Для ингибирования микроорганизмов порчи и патогенов используют эфирные масла [68]. Например, авторы [69] установили, что добавление к промытой воде салата-латука базиликового масла в концентрации 0,1–1% по эффективности равно добавлению хлора в концентрации 125 мг/кг. Вызывает интерес также использование экстракта из семян грейпфрута, обладающего антимикробными свойствами благодаря высокому содержанию фенольных соедине-

ний. Этот экстракт использовали для ингибирования роста *Listeria monocytogenes* и *Salmonellas* sp. на нарезанных свежих огурцах и салате-латуке [70]. Консервирующим эффектом обладает также экстракт зеленого чая при обработке нарезанного свежего салата-латука, при этом снижаются потери аскорбиновой кислоты и каротиноидов [71].

Конкретный вид обработки растительных объектов может быть выбран на основе анализа контаминирующих микроорганизмов и экономической целесообразности в цепочке создания стоимости конечного продукта.

10. Выводы

Послеуборочные потери цельных и свежесрезанных фруктов и овощей приводят к значительному сокращению доступности продовольствия и к увеличению экономических потерь. Кроме того, регулирующие органы все больше ограничивают использование синтетических химикатов после сбора урожая. Это усилило необходимость разработки экологически безопасных подходов к послеубо-

рочному управлению, таких как использование природных соединений, микроорганизмов-антагонистов.

Исследования по разработке новых технологий для улучшения послеуборочной обработки свежих фруктов и овощей, а также продуктов минимальной переработки в настоящее время имеют решающее значение.

Производители продуктов питания стремятся удовлетворить меняющиеся пожелания потребителей, сохраняя при этом наивысшую пищевую ценность поставляемой ими продукции. Для сохранения пищевых продуктов наиболее часто используются физико-химические методы, в том числе упаковка в модифицированной атмосфере, мембранные методы или ультразвук. Альтернативно могут быть применены биологические методы: бактериофаги и фаговые коктейли, бактерицины, инактивация ферментов деградации растительной ткани, фитохимикаты, съедобные покрытия. При этом они могут использоваться как монообработка для ограничения роста бактерий в пищевой среде, а также в сочетании с другими методами обработки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Paparella, A., Maggio, F. (2023). Detection and control of foodborne pathogens. *Foods*, 12(19), Article 3521. <https://doi.org/10.3390/foods12193521>
- Chung, K. M., Liao, X. L., Tang, S. S. (2023). Bacteriophages and their host range in multidrug-resistant bacterial disease treatment. *Pharmaceuticals*, 16 (10), Article 1467. <https://doi.org/10.3390/ph16101467>
- Vaca, J., Ortiz, A., Sansinenea, E. (2022). A study of bacteriocin like substances comparison produced by different species of *Bacillus* related to *B. cereus* group with specific antibacterial activity against foodborne pathogens. *Archives of Microbiology*, 3, 205(1), Article 13. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03536-0>
- Jamal, M., Bukhari, S., Andleeb, S., Ali, M., Raza, S., Nawaz, M. et al. (2018). Bacteriophages: An overview of the control strategies against multiple bacterial infections in different fields. *Journal of Basic Microbiology*, 59(2), 123–133. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800412>
- Petrovic Fabijan, A., Iredell, J., Danis-Wlodarczyk, K., Kebriaei, R., Abedon S. (2023). Translating phage therapy into the clinic: Recent accomplishments but continuing challenges. *PLOS Biology*, 21(5), Article e3002119. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002119>
- Zuppi, M., Hendrickson, H. L., O'Sullivan, J. M., Vatanen, T. (2022). Phages in the gut ecosystem. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, Article 822562. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.822562>
- Mani, I. (2023). Phage and phage cocktails formulations. Chapter in a book: *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Elsevier Inc., 2023. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2023.04.007>
- Gordillo Altamirano, F. L., Barr, J. J. (2019). Phage therapy in the Postantibiotic Era. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), Article e00066–18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18>
- Dennehy, J. J., Abedon, S. T. (2020). Adsorption: Phage Acquisition of Bacteria. Chapter in a book: *Bacteriophages*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41986-2_2
- Amjad, K. (2020). Phage-bacteria interaction and prophage sequences in bacterial genomes. Electronic Thesis and Dissertation Repository. The University of Western Ontario. <https://ir.lib.uwo.ca/etd/6957>
- Aframian, N., Bendori, S. O., Hen, S., Guler, P., Stokar-Avihail, A., Manor, E. et al. (2021). Dormant phages communicate to control exit from lysogeny. *bioRxiv*, Preprint <https://doi.org/10.1101/2021.09.20.460909>
- Schneider, C. L. (2017). Bacteriophage-mediated horizontal gene transfer: Transduction. Chapter in a book: *Bacteriophages*. Springer, Cham. 2020. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40598-8_4-1
- Endersen, L., Coffey A. (2020). The use of bacteriophages for food safety. *Current Opinion in Food Science*, 36, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.006>
- Liu, A., Liu, Y., Peng, L., Cai, X., Shen, L., Duan, M. et al. (2020). Characterization of the narrow-spectrum bacteriophage LSE7621 towards *Salmonella* Enteritidis and its biocontrol potential on different foods. *LWT*, 118, Article 108791. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108791>
- Liu, N., Lewis, C., Zheng, W., Fu, Z. Q. (2020). Phage cocktail therapy: Multiple ways to suppress pathogenicity. *Trends in Plant Science*, 25(4), 315–317. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.01.013>
- Wójcicki, M., Świder, O., Gientka, I., Błażej, S., Średnicka, P., Shymialewicz, D. et al. (2023). Effectiveness of a phage cocktail as a potential biocontrol agent against saprophytic bacteria in ready-to-eat plant-based food. *Viruses*, 15, Article 172. <https://doi.org/10.3390/v15010172>
- Duc, H. M., Zhang, Y., Hoang, S. M., Masuda, Y., Honjoh, K.-I., Miyamoto, T. (2023). The use of phage cocktail and various antibacterial agents in combination to prevent the emergence of phage resistance. *Antibiotics*, 12(6), Article 1077. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12061077>
- Wong, C. W. Y., Delaquis, P., Goodridge, L., Lévesque R. C., Fong, K., Wang, S. (2020). Inactivation of *Salmonella enterica* on post-harvest cantaloupe and lettuce by a lytic bacteriophage cocktail. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.cfrs.2019.11.004>
- Toprak, Z. T., Sanlibaba, P. (2020). Application of Phage for Biocontrol of *Salmonella* Species in Food Systems. *Turkish Journal of Agriculture — Food Science and Technology*, 8(10), 2214–2221. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i10.2214-2221.3689>
- Hong, Y.-P., Cho, J. W., Lee, J. H., Yang, R.-Y. (2015). Combining of bacteriophage and G. asaii application to reduce *L. monocytogenes* on fresh-cut melon under low temperature and packing with functional film. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 3(1–2), 79–83. <https://doi.org/10.11648/j.fjns.s.2015030102.25>
- Lahiri, D., Nag, M., Dutta, B., Sarkar, T., Pati, S., Basu, D. et al. (2022). Bacteriocin: A natural approach for food safety and food security. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, Article 1005918. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1005918>
- Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., Chikindas, M. L. (2001). Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 1–20. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00560-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00560-8)
- Anjana, P., Tiwari, S. K. (2022). Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, Article 851140. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.851140>
- Taye, Y., Degu, T., Fesseha, H., Mathewos, M. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products. *The Scientific World Journal*, Article 4697445. <https://doi.org/10.1155/2021/4697445>
- Barreto Pinilla, C. M., Brandelli, A., Ataíde Isaia, H. (2024). Probiotic Potential and Application of Indigenous Non-Starter Lactic Acid Bacteria in Ripened Short-Aged Cheese. *Current Microbiology*, 81, Article 202. <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03729-2>
- Mekala, P. N., Ansari, R. M. H. (2023). Biotechnological potential of lactic acid bacteria derived bacteriocins in sustainable food preservation. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 14(3), 24–35. <https://doi.org/10.30574/wjbps.2023.14.3.0245>
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665–684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
- Contessa, C. R., de Souza, N. B., Gonçalves, G. B., de Moura, C. M., da Rosa, G. S., Moraes, C. C. (2021). Development of active packaging based on agar-agar incorporated with bacteriocin of *Lactobacillus sakei*. *Biomolecules*, 11(12), Article 1869. <https://doi.org/10.3390/biom11121869>
- Strack, L., Carli, R. C., da Silva, R. V., Sartor, K. B., Colla, L. M., Reinehr, C. O. (2020). Food biopreservation using antimicrobials produced by lactic acid bacteria. *Research Society and Development*, 9(8), Article e998986666. <https://doi.org/10.33444/rsd-v9i8.6666>
- Perez, R. H., Zendo, T., Sonomoto, K. (2022). Multiple bacteriocin production in lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 134(4), 277–287. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.07.007>
- Tang, H., Huang, W., Yao, Y.-F. (2023). The metabolites of lactic acid bacteria: Classification, biosynthesis and modulation of gut microbiota. *Microbial Cell*, 10(3), 49–62. <https://doi.org/10.15698/mic2023.03.792>
- Alameri, F., Tarique, M., Osaili, T., Obaid R., Abdalla, A., Masad R. et al. (2022). Lactic acid bacteria isolated from fresh vegetable products: Potential probiotic and postbiotic characteristics including immunomodulatory effects. *Microorganisms*, 10(2), Article 389. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020389>
- Szutowska, J., Gwiazdowska, D. (2021). Probiotic potential of lactic acid bacteria obtained from fermented curly kale juice. *Archives of Microbiology*, 203(3), 975–988. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02095-4>
- Parlindungan, E., Lugli, G., Ventura, M., van Sinderen, D., Mahony, J. (2021). Lactic acid bacteria diversity and characterization of probiotic candidates in fermented meats. *Foods*, 10(7), Article 1519. <https://doi.org/10.3390/foods10071519>
- Małaczewska, J., Kaczorek-Łukowska, E. (2021). Nisin — a lantibiotic with immunomodulatory properties: A review. *Peptides*, 137, Article 170479. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170479>
- Wang, X., Gu, Q., Breukink, E. (2020). Non-lipid II targeting lantibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Biomembranes*, 1862(8), Article 183244. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2020.183244>
- Negash, A. W., Tsehai, B. A. (2020). Current applications of bacteriocin. *International Journal of Microbiology*, 2020, Article 4374891. <https://doi.org/10.1155/2020/4374891>
- Antoshina, D. V., Balandin, S. V., Ovchinnikova, T. V. (2022). Structural features, mechanisms of action, and prospects for practical application of class II bacteriocins. *Biochemistry (Moscow)*, 87(11), 1387–1403. <https://doi.org/10.1134/S0006297922110165>
- Timothy, B., Iliyasu, A. H., Anvikar, A. R. (2021). Bacteriocins of lactic acid bacteria and their industrial application. *Current Topics in Lactic Acid Bacteria and Probiotics*, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.35732/ctlabp.2021.7.1.1>
- Angelescu, I.-R., Grosu-Tudor, S.-S., Cojoc L.-R., Maria, G.-M., Zamfir, M. (2021). Isolation, characterization, and applicability of Helveticin 34.9, a class iii bacteriocin produced by *Lactobacillus Helveticus* 34.9. *Research Square*, Preprint. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-808205/v1>

41. Kumariya, R., Garsa, A. K., Rajput, Y. S., Sood, S. K., Akhtar, N., Patel, S. (2019). Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 128, 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.002>

42. Darbandi, A., Asadi, A., Mahdizade Ari, M., Ohadi, E., Talebi, M., Halaj Zadeh, M. et al. (2022). Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(1), Article e24093. <https://doi.org/10.1002/jcla.24093>

43. Lauková, A., Pogány Simonová, M., Focková, V., Kološta, M., Tomáška, M., Dvorožňáková, E. (2020). Susceptibility to bacteriocins in biofilm-forming, variable staphylococci isolated from local slovak ewes' milk lump cheeses. *Foods*, 22, 9(9), Article 1335. <https://doi.org/10.3390/foods9091335>

44. Simons, A., Alhanout, K., Duval, R. E. (2020). Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial origin: Overview of their biology and their impact against multidrug-resistant bacteria. *Microorganisms*, 8(5), Article 639. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050639>

45. Huang, F., Teng, K., Liu, Y., Cao, Y., Wang, T., Ma, C. et al. (2021). Bacteriocins: Potential for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article 5518825. <https://doi.org/10.1155/2021/5518825>

46. Veettil, V. N., Chitra V. A. (2022). Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* using Response Surface Methodology. *Cellular and Molecular Biology*, 68(6), 105–110. <https://doi.org/10.14715/cmb/2022.68.6.17>

47. Ryan, A., Patel, P., O'Connor, P. M., Ross, R. P., Hill, C., Hudson, S. P. (2021). Pharmaceutical design of a delivery system for the bacteriocin lactacin 3147. *Drug Delivery and Translational Research*, 11(4), 1735–1751. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00984-9>

48. Lauková, J. N., Fields, F. R., Kalwajts, V. R., Gonzalez, A. J., O'Connor, S., Zhang, A. et al. (2020). Synthetic peptide libraries designed from a minimal Alpha-helical domain of AS-48-Bacteriocin homologs exhibit potent antibacterial activity. *Frontiers In Microbiology*, 11, Article 589666. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.589666>

49. Wang, M. (2023). In Vitro fermentation. *Fermentation*, 9(2), Article 86. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020086>

50. Steier, V., Prigolovkin, L., Reiter, A., Neddermann, T., Wiechert, W., Reich, S. J. et al. (2024). Automated workflow for characterization of bacteriocin production in natural producers *Lactococcus lactis* and *Latilactobacillus sakei*. *Microbial Cell Factories*, 23(1), Article 74. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02349-6>

51. Abedin, M. M., Chourasia, R., Phukon, L. C., Sarkar, P., Ray, R. C., Singh, S. P. et al. (2023). Lactic acid bacteria in the functional food industry: Biotechnological properties and potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 5, 1–19. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2227896>

52. Guo, L., Stoffels, K., Broos, J., Kuipers, O. P. (2024). Engineering hybrid lantibiotics yields the highly stable and bacteriocidal peptide cerocin V. *Microbiology Research*, 282, Article 127640. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127640>

53. Fernandes, P. (2018). Enzymatic processing in the food industry. Chapter in a book: Reference Module in Food Science. Elsevier, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22341-X>

54. Heirangkhongjam, M. D., Agarwal, K., Agarwal, A., Jaiswal N. (2022). Role of enzymes in fruit and vegetable processing industries: Effect on quality, processing method, and application. Chapter in a book: Novel Food Grade Enzymes. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-1288-7_3

55. Motta, J. F. G., Freitas B. C. B. de, Almeida A. F. de, Martins G. A. de S., Borges, S. V. (2023). Use of enzymes in the food industry: A review. *Article Food Science and Technology*, 43, Article e106222. <https://doi.org/10.1590/fst.106222>

56. Shouket, S., Khurshid, S., Khan, J., Batool, R., Sarwar, A., Aziz, T. et al. (2023). Enhancement of shelf-life of food items via immobilized enzyme nanoparticles on varied supports. A sustainable approach towards food safety and sustainability. *Food Research International*, 169, Article 112940. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112940>

57. Meli, V. S., Ghosh, S., Prabha, T. N., Chakraborty, N., Chakraborty, S., Datta, A. (2010). Enhancement of fruit shelf life by suppressing N-glycan processing enzymes. *PNAS*, 107(6), 2413–2418. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909329107>

58. Посокина, Н. Е., Захарова, А. И. (2023). Современные нетермические способы обработки растительного сырья, применяемые для увеличения его хранимоспособности. *Пищевые системы*, 6(1), 4–10. [Posokina, N. E., Zakharova, A. I. (2023). Modern non-thermal method of processing plant raw materials used to increase its storability. *Food Systems*, 6(1), 4–10. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-4-10>

59. Miteluț, A. C., Popa, E. E., Draghici, M. C., Popescu, P. A., Popa, V. I., Bujor, O. C. et al. (2021). Latest developments in edible coatings on minimally processed fruits and vegetables: A review. *Foods*, 10(11), Article 2821. <https://doi.org/10.3390/foods10112821>

60. Díaz-Montes, E., Castro-Muñoz, R. (2021). Edible films coatings as food-quality preservers: An overview. *Foods*, 26, 10(2), Article 249. <https://doi.org/10.3390/foods10020249>

61. Martins, V. F. R., Pintado, M. E., Morais, R. M. S. C., Morais, A. M. M. B. (2024). Recent highlights in sustainable bio-based edible films and coatings for fruit and vegetable applications. *Foods*, 13(2), Article 318. <https://doi.org/10.3390/foods13020318>

62. Matloob, A., Ayub, H., Mohsin, M., Ambreen, S., Khan, F. A., Oranab, S. et al. (2023). A review on edible coatings and films: Advances, composition, production methods, and safety concerns. *ACS Omega*, 8(32), 28932–28944. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c03459>

63. Miteluț, A. C., Popa, E. E., Drăghici, M. C., Popescu, P. A., Popa, V. I., Bujor, O.-C. et al. (2021). Latest developments in edible coatings on minimally processed fruits and vegetables: A review. *Foods*, 10(11), Article 2821. <https://doi.org/10.3390/foods10112821>

64. Tiamiyu, Q. O., Adebayo, S. E., Yusuf, A. A. (2023). Gum Arabic edible coating and its application in preservation of fresh fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry Advances*, 2, Article 100251. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100251>

65. Pinto, L., Tapia-Rodríguez, M. R. Baruzzi, F. Ayala-Zavala, J. F. (2023). Plant antimicrobials for food quality and safety: Recent views and future challenges. *Foods*, 12(12), Article 2315. <https://doi.org/10.3390/foods12122315>

66. Biswas, O., Kandasamy, P., Nanda, P. K., Biswas, S., Lorenzo, J. M., Das, A. et al. (2023). Phytochemicals as natural additives for quality preservation and improvement of muscle foods: A focus on fish and fish products. *Food Materials Research*, 3, Article 5. <https://doi.org/10.48130/FMR-2023-0005>

67. Galal, H. (2021). Impact of post-harvest treatments on the antioxidant content of fruits and vegetables. *Egyptian Journal of Horticulture*, 49 (1), 25–33. <https://doi.org/10.21608/EJOH.2021.96104.1184>

68. Albuquerque, P. M., Azevedo, S. G., de Andrade, C. P., D'Ambros, N. C. d. S., Pérez, M. T. M., Manzato, L. (2022). Biotechnological applications of nanoencapsulated essential oils: A review. *Polymers*, 14(24), Article 5495. <https://doi.org/10.3390/polym14245495>

69. Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M. J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84(2), 152–158. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00338.x>

70. Kim, T., Kim, J.-H., Oh, S.-W. (2021). Grapefruit seed extract as a natural food antimicrobial: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 14(4), 626–633. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02610-5>

71. Awad, A. M., Kumar, P., Ismail-Fitry, M. R., Jusoh, S., Ab Aziz, M. F., Sazili, A. Q. (2021). Green extraction of bioactive compounds from plant biomass and their application in meat as natural antioxidant. *Antioxidants*, 10(9), Article 1465. <https://doi.org/10.3390/antiox10091465>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Посокина Наталья Евгеньевна — кандидат технических наук, заведующая лабораторией, лаборатория технологии консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл., Видное, Школьная ул., 78 Тел.: +7–926–367–75–07 E-mail: n.posokina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7857-6785 * автор для контактов	Natalia E. Posokina , Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of Food Canning Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Preservation Technology 78, Shkol'naya Str., Vidnoe, 142703, Moscow region, Russia Tel.: +7–926–367–75–07 E-mail: n.posokina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7857-6785 * corresponding author
Захарова Анна Ивановна — научный сотрудник, лаборатория технологии консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл., Видное, Школьная ул., 78 Тел.: +7–903–187–14–08 E-mail: a.zaharova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2336-1816	Anna I. Zakharova , Researcher, Laboratory of Food Canning Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Preservation Technology 78, Shkol'naya Str., Vidnoe, 142703, Moscow region, Russia Tel.: +7–903–187–14–08 E-mail: a.zaharova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2336-1816
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-305-311>

Поступила 08.05.2024

Поступила после рецензирования 18.06.2024

Принята в печать 20.06.2024

© Кучеренко И. В., Кураева Е. В., Масежная Е. С., 2024

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ЗАМОРАЖИВАНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ КУЛЬТУР ЛАКТОКОККОВ ПРИ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Кучеренко И. В.*, Кураева Е. В., Масежная Е. С.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

лактококки,
замораживание,
лиофилизация,
выживаемость,
хранение

Важной составляющей в деятельности коллекции заквасочных микроорганизмов является сохранение фонда производственно-ценных культур. Широко распространённым методом длительного хранения коллекционных культур является лиофилизация. Критическим параметром процесса лиофилизации является температура предварительного замораживания. В данной статье представлены результаты исследований выживаемости культур лактококков в процессе лиофилизации с предварительным замораживанием при температурах: минус 20 °С, минус 30 °С и минус 55 °С. Средой культивирования и лиофилизации являлось 10%-ное восстановленное обезжиренное молоко. Выявлена различная реакция микроорганизмов видов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris* и *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* на замораживание и лиофильную сушку при испытанных режимах. Наиболее высокая выживаемость лактококков наблюдалась при температуре замораживания минус 20 °С. Самыми устойчивыми были культуры *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* — выживаемость после сушки с замораживанием при температуре минус 20 °С составила 42,6–57,9%. Самая низкая выживаемость характерна для *Lactococcus cremoris* при всех режимах замораживания (от 3,1 до 15,7%). Лيوфилизация коллекционных культур лактококков позволяет обеспечить высокую выживаемость клеток.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FRFF-2023-0001 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 08.05.2024

Accepted in revised 18.06.2024

Accepted for publication 20.06.2024

© Kucherenko, I. V., Kuraeva, E. V., Masegnaya, E. S., 2024

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

Original scientific article

Open access

EFFECT OF FREEZING TEMPERATURE ON RATE OF SURVIVAL OF LACTOCOCCUS CULTURES DURING LYOPHILIZATION

Irina V. Kucherenko*, Elena V. Kuraeva, Elena S. Masegnaya

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

KEY WORDS:

lactococcus, freezing,
lyophilization, survival,
storage

ABSTRACT

The important component in the activities of the collection of starter microorganisms is the preservation of the pool of the strains valuable for industrial production. Lyophilization (also known as freeze drying) is a widely used method for the long-term storage of the collection cultures. The critical parameter of the process of lyophilization is the pre-freezing temperature. This article brings forward the results of researches of the rate of survival of lactococcus strain cultures during their lyophilization with pre-freezing at the temperatures of minus 20 °C, minus 30 °C and minus 55 °C. Reconstituted 10% skim milk was used as the medium for strain culturing and lyophilization. Different reactions were detected among the microorganisms of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* for their freezing and lyophilization under the tested conditions. The highest rate of survival of lactococcus strains was observed at the freezing temperature of minus 20 °C. The most resistant cultures appeared to be *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* — their rate of survival after lyophilization at minus 20 °C amounted to 42.6–57.9%. The lowest survival rate was recorded for *Lactococcus cremoris* in all freezing modes (from 3.1 to 15.7%). Lyophilization of lactococcus collection cultures ensures high survival rate of the cells.

FUNDING: The article was prepared as part of research on state task No. FRFF-2023-0001 of the V. M. Gorbatov Federal Scientific Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

1. Введение

Поддержание коллекций микроорганизмов являются одним из важных направлений деятельности биоресурсных коллекций и производителей бактериальных заквасок. Основными задачами хранения культур микроорганизмов являются: поддержание их в жизнеспособном состоянии, предотвращение мутационных изменений, и сохранение стабильности характерных и важных в таксономическом и технологическом отношении свойств. Для этого необходимо обеспечить содержание микроорганизмов в условиях, которые исключают утрату жизнеспособности и предотвращают мутационные изменения их свойств. В практике работы микробиологических лабораторий и специализированных коллекций применяются различные методы и способы обратимой консервации и хранения

культур микроорганизмов в зависимости от индивидуальных особенностей сохраняемых культур, выполняемых целей и задач, материального и технического уровня и других условий [1].

Несмотря на углубление знаний в области физиологии, биохимии и генетики микроорганизмов, нельзя утверждать о наличии чётких представлений по различным аспектам управления и методологии обратимой консервации различных видов и штаммов коллекционных культур.

Методы хранения культур микроорганизмов подразделяются на краткосрочные и долгосрочные. Все способы сохранения коллекционных культур имеют достоинства и недостатки, условия поддержания культур оказывают различное влияние на сохранность жизнеспособности, а также стабильность свойств микроорганизмов.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Кучеренко И. В., Кураева Е. В., Масежная Е. С. (2024). Влияние температуры замораживания на выживаемость культур лактококков при лиофилизации. *Пищевые системы*, 7(2), 305–311. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-305-311>

FOR CITATION: Kucherenko, I. V., Kuraeva, E. V., Masegnaya E. S. (2024). Effect of freezing temperature on rate of survival of lactococcus cultures during lyophilization. *Food Systems*, 7(2), 305–311. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-305-311>

Но в основе всех методов лежит снижение их метаболической активности вплоть до состояния анабиоза.

Для непродолжительного хранения используются наиболее простые способы, которые не требуют наличия дорогого оборудования и необходимы в повседневной работе с культурами [2]:

- субкультивирование,
- хранение под минеральным маслом,
- хранение в воде и водно-солевых растворах,
- сушка на твердых носителях,
- замораживание.

Одним из самых старых и широко используемых в лабораториях и микробиологических производствах методов является периодический пересев бактерий в новую свежую жидкую или твердую питательную среду. Важными моментами для обеспечения сохранности культур при этом является состав питательной среды, условия культивирования, температура хранения, а также продолжительность хранения между перевивками [2]. Для различных таксономических групп микроорганизмов подбираются различные параметры субкультивирования, которые определяются их культуральными и физиолого-биохимическими свойствами. Этот метод обычно используется для кратковременного поддержания в жизнедеятельном состоянии рабочих культур при определении их таксономического положения (идентификации) и изучении свойств культур микроорганизмов, например при выделении из различных источников, отборе и подборе их в состав заквасочной микрофлоры. Метод субкультивирования используется также при сохранении культур, которые не выдерживают других методов хранения [3].

Ещё одним из относительно простых и недорогих методов является хранение под минеральным маслом, с помощью которого сохраняются месяцы и даже годы многие виды бактерий. Выращенные в пробирках с твердой питательной средой культуры заливают слоем минерального масла, например, вазелинового, высотой не менее 2 см. Масло понижает метаболизм бактерий и защищает сохраняемую культуру от высыхания [2]. Пересевать культуры под маслом можно 1–2 раза в год. Этот метод в практике кратковременного хранения молочнокислых бактерий обычно не используется. Практикуется также хранение микроорганизмов путём сушки на различных твердых носителях. Как правило метод высушивания применяется для споровых бактерий, так как многие бактериальные культуры вымирают уже в процессе высыхания.

Весьма распространено сохранение бактерий путём простого замораживания при температурах ниже точки замерзания воды. Содержание культур в замороженном виде обеспечивает более длительное сохранение жизнеспособных клеток, снижает опасность загрязнения посторонними микроорганизмами, что делает этот метод весьма эффективным при работе с большим числом штаммов [4,5].

По данным В. Д. Похиленко с соавторами [2] срок гарантированного хранения замороженных лактобактерий ограничивается месяцем для палочковидных форм и составляет до полугода для кокковых форм. У М. А. Кириленко с соавторами показана возможность более продолжительного хранения (до 24 месяцев) живых лактобацилл при температуре минус 20 °С, что, по их мнению, позволяет создавать банк длительного хранения бактерий с исключением значимой потери их активности [5].

Вопросам сохранности различных микроорганизмов, в том числе молочнокислых бактерий и бактериальных заквасок при различных способах консервации и хранения посвящено большое количество исследований [5,6,7], но эта проблема остаётся актуальной и по сей день, поскольку с использованием современных молекулярно-генетических методов исследований установлены факты накопления многочисленных мутаций в геномах бактерий в процессе длительного хранения.

Существует три способа перевода микроорганизмов в состояние анабиоза:

- ксенобиоз — высушивание путём удаления воды до минимального её содержания;
- криоанабиоз — замораживание, при котором клеточная вода превращается в лёд и становится невозможным её участие в процессах метаболизма;
- лиофилизация — высушивание из замороженного состояния в вакууме [2].

Современные представления о вреде замораживания для живых организмов, которое зависит от скоростей замораживания-оттаивания, сложились в результате исследований повреждающего действия образования льда на разные типы биологических клеток [8]. В соответствии с так называемой двухфакторной гипотезой повреждения и гибель клеток при замораживании происходят из-за кри-

сталлизации воды внутри или вне клеток, которое зависит от скорости охлаждения. При низких скоростях замораживания образование кристаллов льда происходит в первую очередь вне клеток. При этом увеличивается концентрация растворённых веществ во внешней среде, окружающая среда приобретает свойства гипертонического раствора, вызывает отток воды из клеток и их осмотическое сжатие (сублимационная дегидратация). При высоких скоростях охлаждения концентрирование веществ во внешней среде происходит быстро и внутренней воде недостаточно времени для перемещения по химическому градиенту из внутриклеточного пространства в сконцентрированную внеклеточную среду. Поэтому внутри клеток остается большее количество воды и при дальнейшем охлаждении формируются кристаллы льда. Собственно, при замораживании образуются мелкие кристаллы, но в процессе медленного отогрева происходит рекристаллизация и их размеры могут увеличиться. Это может вызвать повреждения цитоплазматических мембран и клеточных органелл [9].

Установлено, что обеспечить максимальную выживаемость разных видов клеток можно при различных скоростях замораживания-оттаивания. В частности, G.-Q. Wang с соавторами [10] при изучении влияния температур замораживания культур *L. plantarum* показали, что оптимальными для отдельных штаммов были различные температуры замораживания, которые оказали влияние на выживаемость за счёт изменения целостности и проницаемости клеточных мембран и активности лактатдегидрогеназы.

Имеются данные о различной продолжительности хранения микроорганизмов при разных температурных режимах замораживания, которые свидетельствуют об увеличении сохранности культур по мере снижения температуры хранения: от 6 месяцев до 10 лет и более при температурах от минус (15–20) °С до минус (70–80) °С и ниже [1]. Однако для этого требуется обеспечение стабильного режима хранения, поскольку даже непродолжительные изменения температуры хранения бактерий негативно сказываются на их жизнеспособности.

Хранение культур промышленных микроорганизмов в жидком азоте (температура минус 196 °С) в течение 15–20 лет подтвердило высокую сохранность количества жизнеспособных клеток без дополнительных изменений исходных морфологических, культуральных и биохимических свойств по сравнению со свойствами этих культур, размороженных непосредственно после замораживания [11].

Клетки лиофильно высушенных микроорганизмов могут длительное время сохраняться в жизнеспособном состоянии при соответствующих условиях — пониженной температуре (около 4 °С), без доступа кислорода и света. Это значительно упрощает практическую работу по поддержанию коллекционного фонда, поскольку позволяет хранить большое количество ампул с культурами на небольшой площади. Холодильные камеры для такого хранения значительно дешевле специализированных криохранилищ и более эффективны с точки зрения энергозатрат [2,12]. Но при этом способе хранения количество жизнеспособных клеток постепенно снижается и требуется периодическая «пересушка» культур. Кроме этого возможно, что лиофилизация приводит к отбору наиболее устойчивых клеток в культуре, которые могут и не обладать желаемыми свойствами [13].

Процесс лиофильной сушки подразделяется на три стадии: замораживание, первичное высушивание или собственно лиофилизация (сублимация) и вторичное высушивание или досушивание. На начальной стадии сушки удаляется путём перевода из твердого в газообразное состояние около 95% воды в материале. Фаза вторичной сушки направлена на удаление незамерзших молекул воды, поскольку лед был удален на этапе первичной сушки. При лиофилизации на клетки воздействуют низкие температуры и комплекс различных стрессовых физико-химических факторов, обусловленных фазовым переходом воды. Но все факторы, которые могут вызывать повреждения клеток во время замораживания, хранения и реактивации, до конца не изучены [14,15]. Главные условия успешной криоконсервации и лиофилизации опираются на два основных защитных механизма: перевод воды из жидкой в аморфную фазу и обратимую дегидратацию клеток. Применяющиеся в различных лабораториях и коллекциях методы консервации не являются абсолютно совершенными, что обуславливает трудности сохранения свойств культур.

Из всех таксономических групп микроорганизмов (прокариот, эукариот, вирусов) лиофилизацию переносят наиболее стойко бактерии, но выживаемость разных видов, даже отдельных штаммов в пределах одного вида и даже подвида может сильно различаться. Хотя сублимационная сушка является надёжным методом сохранения микроорганизмов, она всё-таки приводит к снижению активности бактерий. Кроме этого, культуры различаются по своей

чувствительности к лиофилизации. Следовательно, необходимо оптимизировать переменные, относящиеся к этому процессу. Восстановление лиофилизированных коллекционных культур после хранения также является важным моментом в обеспечении сохранности коллекционного фонда [13]. Выживаемость бактерий может существенно снизиться в силу окислительного действия кислорода, которое можно предотвратить в случае хранения штаммов в ампулах, запаянных под вакуумом.

Одним из самых критичных параметров процесса лиофильной сушки является температура предварительного замораживания, и пока нет полной ясности зависит ли выживаемость и сохранение свойств разных видов и штаммов от уровня температуры предварительного замораживания или криопротекторных веществ [10]. Существенное влияние на сохранение жизнеспособности бактерий при лиофилизации оказывают условия подготовки штаммов к лиофилизации. Результат сублимационной сушки определяется кроме режимов самого процесса консервации состоянием подготовленной культуры: концентрацией жизнеспособных клеток, составом среды культивирования, фазой развития клеточной популяции [2]. При подготовке штаммов к сублимации необходимо добиваться высоко-го содержания клеток — не менее 10^8 КОЕ/мл [3].

Многие из этих факторов учтены в инструкции по сушке и хранению заквасочных культур, в соответствии с которой осуществляется многолетнее сохранение коллекционного фонда экспериментальной биофабрики ВНИИМС. Однако, практический опыт коллекционной деятельности указывает на необходимость совершенствования методов их консервации с учётом видовой и штаммовой чувствительности к параметрам консервации, с индивидуальным подбором криопротекторов и режимов реактивации.

Целью данной работы является изучение влияния различных режимов предварительного замораживания на выживаемость и сохранение метаболической активности лактококков при лиофилизации и хранении.

2. Объекты и методы

Объектами исследований являлись следующие коллекционные культуры, которые используются при изготовлении бактериальных заквасок для ферментированных молочных продуктов:

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (далее *L. lactis*) штаммы 357–3, 390–1, 549–5;
- *Lactococcus cremoris* (*L. cremoris*) штаммы 374–15, 417–3, 418–5;
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (далее *L. diacetylactis*) штаммы 1–1–3, 20–3, 82–6.

С целью проведения исследований лиофильную сушку коллекционных культур проводили на колпаковой лиофильной сушилке серии Scientz-10N/10ND в исполнении Top-Press (NINGBO Scientz Bio-technology CO, Китай) с температурой конденсатора до -55°C и предельным остаточным давлением 10 Па. Для замораживания и последующей сушки в стерильные флаконы вносили по 1 см^3 16-часовой культуры лактококка, закрывали стерильными резиновыми пробками для лиофильной сушки, замораживали в течение 1 часа при трёх режимах: минус $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, минус $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, минус $(55 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, затем флаконы с замороженными культурами переставляли в камеру сушилки. Культуры выдерживались в течение $(4,5 \pm 0,5)$ часов при заданных параметрах и досушивались в течение $(2,5 \pm 0,5)$ часов при температуре $(25 \pm 1)^{\circ}\text{C}$. Затем производилась укупорка флаконов под вакуумом.

Реактивацию лиофилизированных культур осуществляли ресуспендированием в 5 см^3 10%-ного стерильного восстановленного обезжиренного молока и культивированием при температуре $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ до сквашивания.

Микроскопический препарат готовили в соответствии с МР 2.3.2.2327–08¹. Изучение и фотографирование микроскопических препаратов осуществляли с помощью микроскопа Levenhuk MED D10T LCD (USA) с цифровой камерой и ЖК-экраном с числом мегапикселей 5.

Метаболическую активность оценивали после 2-х пассажей (перевивок) по снижению активной кислотности после 6 ч культивирования в 10%-ном стерильном восстановленном обезжиренном молоке при температуре $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ и дозе инокулята 1%. Активную кислотность определяли в соответствии с ГОСТ Р 32892–2014².

Количество жизнеспособных клеток лактококков определяли в соответствии с ГОСТ 33951–2016³ в каждом образце перед замораживанием, после замораживания и по окончании полного цикла лиофилизации.

Достоверность полученных данных подтверждается проведением экспериментов не менее чем в 3-х кратной повторности с применением современных методов анализа, а также статистической обработкой полученных данных и построением графиков с использованием пакета программ «Microsoft Excel 2013». Для сравнения выборок разного размера и оценки статистически значимых различий между образцами применяли однофакторный дисперсионный анализ. Результаты математической обработки выполнены с доверительной вероятностью $p \leq 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

Начальный этап работы заключался в изучении выживаемости лактококков после предварительного замораживания (первая стадия лиофилизации).

Полученные данные после экспозиции 3 штаммов *L. lactis* при испытанных температурах предварительного замораживания, представленные на Рисунке 1, выявили различное влияние температуры замораживания на выживаемость каждого штамма.

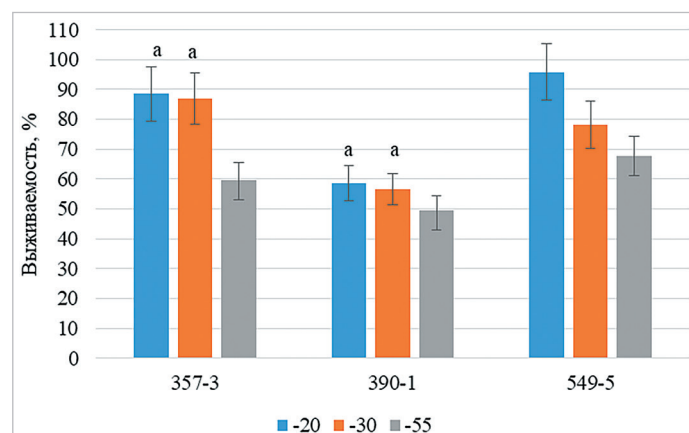


Рисунок 1. Выживаемость *L. lactis* после замораживания (различие значений, обозначенных буквенными индексами на каждой диаграмме, статистически не достоверно при $p \leq 0,05$)

Figure 1. Rate of survival of *L. lactis* after freezing (the difference between the values marked by the letter indices in each diagram is statistically negligible if $p \leq 0.05$)

Максимальная выживаемость у штаммов *L. lactis* наблюдалась при температуре замораживания минус $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ (от 58,6% до 85,8%) и минус $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ (от 56,7% до 87,1%). Все изученные штаммы *L. lactis* продемонстрировали самую низкую выживаемость при температуре минус $(55 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ (от 49,6% до 67,6%). Наиболее высокая гибель клеток при температуре замораживания минус $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ отмечалась у штамма *L. lactis* 390–1 (41,4%), в то время как у штамма 549–5 погибло только 4,2% клеток, а у штамма 357–3 вымерло 11,5% клеток. При температуре замораживания минус $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ выживаемость *L. lactis* 390–1 была ниже в 1,38 раза по сравнению с *L. lactis* 549–5 и в 1,53 раза по сравнению со штаммом 357–3.

Как показано на Рисунке 2, штамм *L. diacetylactis* 1–1–3 продемонстрировал самую высокую устойчивость при температуре минус $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ и минус $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ — 76,4% и 80,7% соответственно, не отмечено разницы в реакции штамма *L. diacetylactis* 20–3 на замораживание при этих температурных режимах.

Штамм *L. diacetylactis* 82–6 также, как и штаммы лактококков *L. lactis*, лучше выживал при температуре минус $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$.

Наиболее прихотливыми оказались штаммы *L. cremoris* (Рисунок 3) при всех использованных режимах замораживания, самая высокая выживаемость которых не превышала 61,9%.

Реакция штаммов 374–15 и 417–3 на температуру замораживания минус $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ и минус $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ была примерно одинаковой и сохранность клеток составила 22,8% и 20,5% для штамма 374–15 при этих температурах, а для штамма 417–3—46,6% и 48,8% соответственно. При этом у штамма *L. cremoris* 374–15 самая низкая гибель клеток происходила при температуре минус $(55 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ и составляла 47,1%,

¹ МР 2.3.2.2327–08 Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов) от 07.02.2008

² ГОСТ Р 32892–2014 «Молоко и молочная продукция. Методы определения активной кислотности». М.: Стандартинформ, 2015. — 12 с.

³ ГОСТ 33951–2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов». — М.: Стандартинформ, 2016. — 10 с.

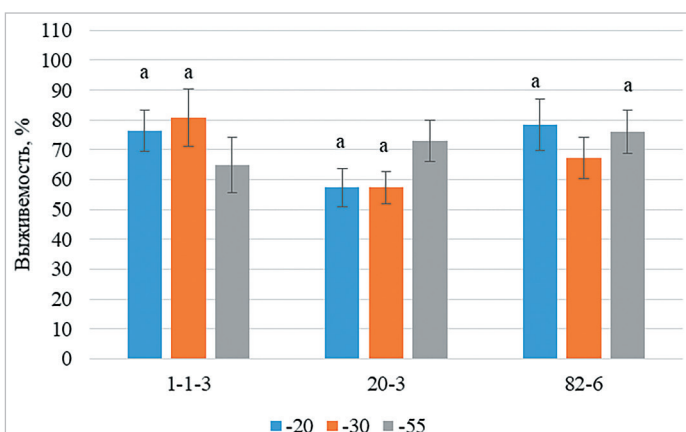


Рисунок 2. Выживаемость *L. diacetylactis* после замораживания (различие значений, обозначенных буквенным индексом на каждой диаграмме, статистически не достоверно $p \leq 0,05$)

Figure 2. Rate of survival of *L. diacetylactis* after freezing (the difference between the values marked by the letter indices in each diagram is statistically negligible if $p \leq 0.05$)

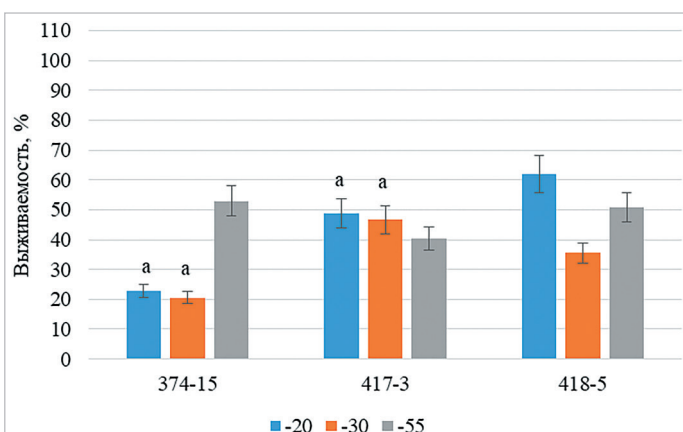


Рисунок 3. Выживаемость *L. cremoris* после замораживания (различие значений, обозначенных буквенными индексами на каждой диаграмме, статистически не достоверно при $p \leq 0,05$)

Figure 3. Rate of survival of *L. cremoris* after freezing (the difference between the values marked by the letter indices in each diagram is statistically negligible if $p \leq 0.05$)

в то время как штамм 418–5 продемонстрировал наибольшую выживаемость при температуре замораживания минус $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ (61,9%), а самую низкую (35,5%) при температуре минус $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Влияние различных режимов предварительного замораживания на показатели выживаемости культур лактококков после завершения полного цикла лиофилизации показано на Рисунках 4, 5 и 6. Здесь выживаемость всех исследованных культур была ниже показателей выживаемости после предварительного замораживания. Это позволяет сделать вывод о том, что наибольшая гибель бактериальных клеток происходит на второй стадии лиофилизации.

Рисунок 4 отражает более значительное снижение количества жизнеспособных клеток штаммов *L. lactis* после завершения сушки по сравнению с показателями выживаемости после предварительного замораживания.

В частности, у штамма *L. lactis* 357–3 количество выживших бактериальных клеток при температуре предварительного замораживания минус $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ снизилось на 38,5%, в то время как гибель при замораживании составила всего 11,5%. У штаммов 390–1 и 549–5 гибель клеток возросла в процессе сушки с замораживанием при температуре минус $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ на 20,1% и 21,1% соответственно. Следует отметить, что у штаммов лактококков *L. lactis* самая высокая выживаемость установлена при температуре замораживания минус $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ как после замораживания, так и после завершения полного цикла лиофилизации на уровне от 38,5 до 64,7%. Из этого можно сделать вывод о предпочтительности данного режима предварительного замораживания для лиофилизации коллекционных культур *L. lactis*.

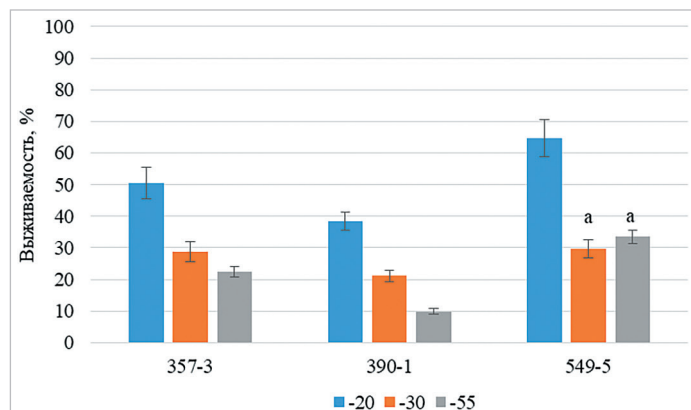


Рисунок 4. Выживаемость штаммов *L. lactis* после лиофилизации при разных температурах предварительного замораживания (различие значений, обозначенных буквенными индексами на каждой диаграмме, статистически не достоверно при $p \leq 0,05$)

Figure 4. Rate of survival of *L. lactis* after lyophilization at different temperatures of pre-freezing (the difference between the values marked by the letter indices in each diagram is statistically negligible if $p \leq 0.05$)

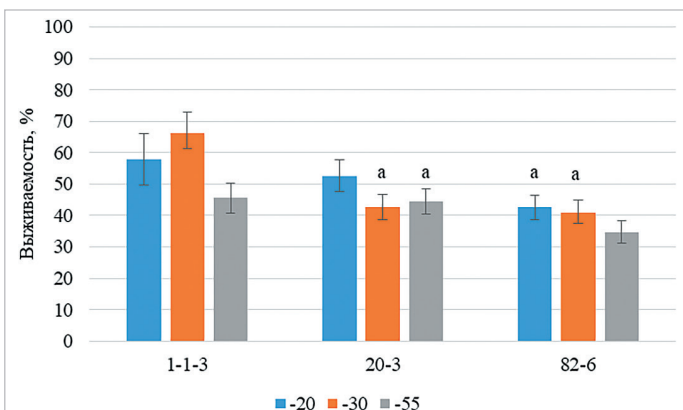


Рисунок 5. Выживаемость штаммов *L. diacetylactis* после лиофилизации при разных температурах предварительного замораживания (различие значений, обозначенных буквенными индексами на каждой диаграмме, статистически не достоверно при $p \leq 0,05$)

Figure 5. Rate of survival of *L. diacetylactis* after lyophilization at different temperatures of pre-freezing (the difference between the values marked by the letter indices in each diagram is statistically negligible if $p \leq 0.05$)

Наиболее высокая выживаемость после завершения полного цикла лиофильной сушки среди всех исследованных видов лактококков установлена у вида *L. diacetylactis* (штаммы 1–1–3 и 20–3 (Рисунок 5) при температуре предварительного замораживания минус (20±1) °C и минус (30±1) °C.

Самым устойчивым к лиофилизации при всех вариантах замораживания обладал штамм *L. diacetylactis* 1–1–3, выживаемость которого в условиях замораживания при температуре минус (20±1) °C, минус (30±1) °C и минус (55±1) °C составила 57,9%, 66,1% и 45,5% соответственно. Самая низкая устойчивость характерна для штамма 82–6, его выживаемость была существенно ниже и составила от 34,7 до 42,6%. Следовательно, для культур *L. diacetylactis* приемлемыми режимами предварительного замораживания являются минус (20±1) °C и минус (30±1) °C. Об индивидуальной реакции на замораживание и сублимационную сушку у различных видов и штаммов бактерий свидетельствуют и результаты других исследований [5,7,10,16].

Лактококки вида *L. cremoris* оказались самыми чувствительными не только к замораживанию, но и к лиофильной сушке при всех режимах предварительного замораживания (Рисунок 6).

После завершения полного цикла лиофилизации при предварительном замораживании при температуре минус (20±1) °C выживаемость у всех штаммов *L. cremoris* была самой высокой, но значительно ниже, чем у культур *L. lactis* и *L. diacetylactis* и не превысила 15,7%. Наибольшей чувствительностью к лиофилизации обладал штамм *L. cremoris* 418–5 при всех режимах замораживания, выживаемость которого составила всего от 3,1 до 5,2%. Самой благоприятной температурой замораживания для лактококков вида *L. cremoris* можно считать минус (20±1) °C также, как для культур *L. lactis*.

Одной из причин столь низкой сохранности клеток *L. cremoris* может быть более низкая исходная концентрация жизнеспособных клеток в культурах *L. cremoris*. По литературным данным выживаемость бактерий определяется целым рядом факторов, в том числе исходной концентрацией клеток. О. А. Савкина с соавторами показали, что увеличение концентрации клеток перед криоконсервацией путём центрифугирования исходных культур привело к повышению выживаемости молочнокислых бактерий с 72,1–85,3% до 81,9–97,4%. При этом предполагают, что защита бактериальных клеток от повреждений обусловлена тем, что при высокой плотности высушиваемой культуры лизированные в процессе культивирования и замораживания клетки и клеточные вещества могут выполнять защитную роль [17]. Кроме этого, *L. cremoris* является менее метаболически активным видом лактококков и более чувствительным к условиям окружающей среды [18]. Как видно из результатов, представленных в Таблице 1, среднее количество жизнеспособных клеток у *L. cremoris* в 2,02 раза меньше, чем в культурах *L. lactis* и в 2,59 раза меньше, чем в культурах *L. diacetylactis*.

После реактивации лиофильно высушенных лактококков была проведена проверка на аутентичность, которая показала хорошую метаболическую активность всех штаммов и отсутствие каких-либо отклонений по морфологическим свойствам по сравнению с исходными культурами.

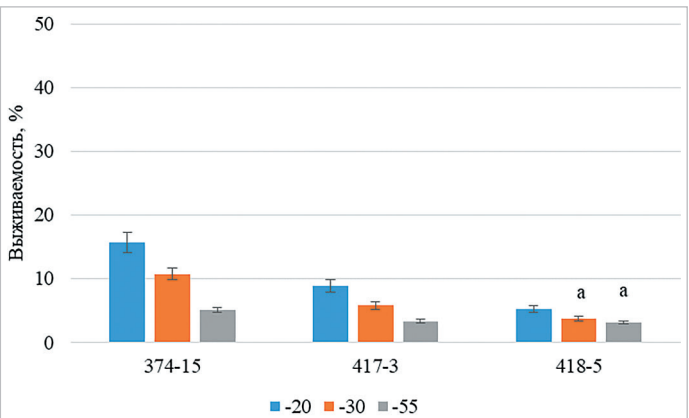


Рисунок 6. Выживаемость *L. cremoris* после лиофилизации при разных температурах предварительного замораживания (различие значений, обозначенных буквенными индексами на каждой диаграмме, статистически не достоверно при $p \leq 0,05$)

Figure 6. Rate of survival of *L. cremoris* after lyophilization at different temperatures of pre-freezing (the difference between the values marked by the letter indices in each diagram is statistically negligible if $p \leq 0,05$)

Таблица 1. Исходная концентрация жизнеспособных клеток лактококков

Table 1. Initial concentration of the viable lactococci cells

Вид лактококка	№ штамма	Исходное количество жизнеспособных клеток, млрд. КОЕ/см ³
<i>L. lactis</i>	357–3	2,18±0,22
	390–1	3,12±0,43
	549–5	1,70±0,37
	Среднее	2,12±0,44
<i>L. cremoris</i>	374–15	1,07±0,08
	417–3	1,32±0,26
	418–5	0,78±0,12
	Среднее	1,05±0,15
<i>L. diacetylactis</i>	1–1–3	2,42±0,49
	20–3	2,70±0,14
	82–6	3,05±0,21
	Среднее	2,72±0,28

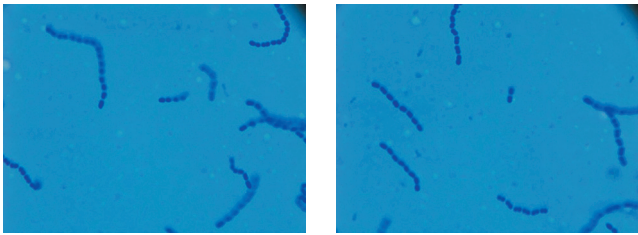
Не смотря на низкую выживаемость *L. cremoris*, оставшегося количества жизнеспособных клеток оказалось достаточным для оживления культур. Однако продолжительность оживления у *L. cremoris* была значительно выше, чем у лактококков *L. lactis* и *L. diacetylactis*. Реактивация лиофилизированных культур в обезжиренном молоке у штаммов *L. cremoris* происходила в среднем в течение 23,5 часов, а у *L. lactis* и *L. diacetylactis* за 18,5 часов.

Метаболическая активность исследованных штаммов лактококков после 2 перевивок оживлённых культур не имела достоверных отличий от их исходной активности. Микроскопическая картина исходных и реактивированных культур также была идентичной. На Рисунок 7 для примера представлены микрофотографии *L. cremoris* 417–3 до сушки с температурой замораживания минус (20±1) °C и после реактивации, на которых видно, что микроскопическая картина типична для этого вида лактококков — клетки расположены в виде коротких и средних цепочек в обоих вариантах, отсутствуют единичные кокки, а также скученность и неоднородные по размеру клетки.

Таким образом, проведённые исследования свидетельствуют о том, что показатели выживаемости коллекционных культур лактококков видов *L. lactis*, *L. cremoris* и *L. diacetylactis* можно улучшить путём изменения температуры предварительного замораживания для каждого вида несмотря на то, что реакция у разных штаммов варьирует. Снижение температуры замораживания до минус 55 °C не дало положительного эффекта у всех видов лактококков. Использование температур замораживания минус 20 °C и минус 30 °C является более экономичным с точки зрения энергетических затрат и не требует дорогостоящего низкотемпературного морозильного оборудования.

Леофилизированные культуры лактококков заложены на длительное хранение при температуре (4±2) °C. Выживаемость и метаболическую активность штаммов планируется исследовать ежегодно.

Полученные нами данные о выживаемости лактококков при различных режимах предварительного замораживания основаны на культивировании в обычно используемой твёрдой питательной среде. Считается, что бактерии вымерли, если они не образуют колонии на твёрдых питательных средах или не приводят к помутнению жидких сред. Однако в последние годы этот постулат признан



Исходная культура

Реактивированная культура

Рисунок 7. Микропрепараты *L. cremoris* 417–3 до и после лиофилизации при температуре замораживания минус (20±1) °C, объектив 40×

Figure 7. Micropreparations of *L. cremoris* 417–3 before and after lyophilization at freezing temperature minus (20±1) °C, lens 40×

упрощённым в связи с тем, что доказано сохранение жизнеспособности и потенциальная способность к восстановлению при потере «культивируемости». Появились новое понятие «жизнеспособное, но некультивируемое» состояние и новое направление исследований в общей и медицинской микробиологии. Особое внимание этой физиологической форме бактерий уделяется в медицине [19,20], что обусловлено опасностью возникновения инфекционных заболеваний при наличии некультивируемых патогенных бактерий, у которых выявлено сохранение патогенности в этой форме существования. Имеются сведения о переходе молочнокислых и бифидобактерий в некультивируемую форму в лиофилизированных пробиотических препаратах [21], а также и лактококков [22].

Исходя из этого можно предположить, что некультивируемые клетки лактококков имели место и в наших объектах исследований, поскольку переход в некультивируемую форму происходит в результате воздействия различных неблагоприятных стрессовых факторов, включая лиофилизацию. Изучение этого состояния выживания может дать объяснение в том числе и более сильной реакции *L. cremoris* на режимы замораживания и сублимационной сушки и подтвердить, что низкая культивируемость не однозначно свидетельствует о гибели существенной части исходных клеток лактококков. Одним из методов таких исследований является проточная цитометрия с использованием флуоресцентных красителей. Учитывая, что целью сохранения коллекционных штаммов является возможность повторного выращивания клеток, перспективным направлением исследований с точки зрения сохранности культур является разработка методов реактивации как культивируемых, так и некультивируемых клеток.

В связи с тем, что количество жизнеспособных культивируемых клеток коллекционных культур неизбежно снижается в процессе длительного хранения при всех известных режимах, чрезвычайно важно для сохранения производственно-ценных штаммов лактококков провести исследования для увеличения их выживаемости при лиофилизации путём повышения исходной клеточной концентрации, подбора криопротекторных средств и совершенствования методов реактивации.

4. Выводы

Проведённые исследования позволяют сделать следующие выводы:

- установлены достоверные межвидовые и межштаммовые различия в выживаемости лактококков *L. lactis*, *L. cremoris* и *L. diacetylactis* в процессе лиофилизации с предварительным замораживанием при температуре минус 20 °С, минус 30 °С и минус 55 °С;
- наибольшая устойчивость к лиофилизации наблюдается у культур *L. diacetylactis* при всех режимах предварительного замораживания, самая низкая характерна для *L. cremoris*, у которых количество жизнеспособных клеток снизилось практически на 2 порядка и выживаемость составила от 3,1% до 15,7%;
- выявлена различная реакция микроорганизмов видов *L. lactis* и *L. diacetylactis* на замораживание при испытанных режимах: наиболее высокая выживаемость у штаммов *L. lactis* наблюдается при температуре замораживания минус 20 °С — от 38,5% до 64,7%, у культур *L. diacetylactis* при температурах замораживания минус 20 °С — от 42,6% до 57,9% и минус 30 °С — от 40,9% до 66,1%;
- в связи с низкой выживаемостью культур *L. cremoris* на их реактивацию в обезжиренном молоке потребовалось в среднем на 5 часов времени больше, чем для *L. lactis* и *L. diacetylactis*;
- не выявлено различий в метаболической активности исследованных культур всех видов после 2 пассажей (перевивок) оживлённых культур.

Таким образом, представленные результаты подтверждают возможность увеличения показателей выживаемости коллекционных культур лактококков видов *L. lactis*, *L. cremoris* и *L. diacetylactis* путём изменения температуры предварительного замораживания для каждого вида несмотря на то, что реакция у разных штаммов варьирует. Установленные наиболее благоприятные температуры предварительного замораживания обеспечивают достаточно высокую выживаемость лактококков *L. lactis* и *L. diacetylactis*. Выявлена целесообразность проведения дополнительных исследований для повышения устойчивости штаммов *L. cremoris* к лиофилизации и совершенствования методики реактивации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Gherna, R. L. (2010). Culture preservation. Chapter in a book: Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology. John Wiley and Sons: Hoboken, NJ, USA. 2010. <https://doi.org/10.1002/9780470054581.eib249>
2. Похиленко, В. Д., Баранов, А. М., Детушев, К. В. (2009). Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки, 4(12), 99–121. [Pokhilenko, V.D., Baranov, A.M., Detushev, K.V. (2009). Methods for long-term storage of collection (housing) cultures of microorganisms and trends of development. University Proceedings. Volga Region. Medical Sciences, 4(12), 99–121. (In Russian)]
3. Утепешева, А. А., Сопрунова, О. Б. (2019). Влияние условий хранения на выживаемость коллекционных бактериальных штаммов. Естественные и технические науки, 10 (136), 95–98. [Utepeshcheva, A.A., Soprunova, O.B. (2019). Influence of storage conditions on survivability of collectible bacterial strains. Natural and Technical Sciences, 10 (136), 95–98. (In Russian)]
4. Кучеренко, И.В., Масежная, Е.С., Дуганова, А.Ю. (2023). Сохранение жизнеспособности и свойств коллекционных культур молочнокислых бактерий при длительном хранении. Сыроделье и маслоделие, 4, 92–97. [Kucherenko, I.V., Maszhezhnaya, E.S., Duganova, A. Yu. (2023). Properties of stock cultures of lactic acid bacteria during long-term storage. Cheese- and Buttermaking, 4, 92–97. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2073-4018-2023-4-13>
5. Кириленко, М. А., Кузнецов, О. Ю., Дмитриева, Ж. М. (2019). Влияние криоконсервации на выживаемость комплекса аутоштаммов лактобактерий при хранении и процессах биотехнологического масштабирования. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова, 15(2), 5–11. [Kirilenko, M. A., Kuznetsov, O. Yu., Dmitrieva, J. M. (2019). The effect of cryopreservation on the survival of a complex of lactic acid bacterial autostains during storage and biotechnological scaling processes. Bulletin of Biotechnology and Physico-Chemical Biology Named After Yu. A. Ovchinnikov, 15(2), 5–11. (In Russian)]
6. Santivarangkna, C., Kulozik, U., Foerst, P. (2008). Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. Journal of Applied Microbiology, 105, 1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03744.x>
7. Малик, Н.И., Гулейчик, И. А., Малик, Е. В., Чупахина, Н.А., Русанов, И.А., Сомохвалова, Н.С. и др. (2021). Оценка жизнеспособности культур молочнокислых микроорганизмов при их замораживании и низкотемпературном хранении. Аграрная наука, 6, 6–11. [Malik, N.I., Guleychik, I.A., Malik, E.V., Chupahina, N.A., Rusanov, I.A., Samohvalova, N.S. et al. (2021). Assessment of the viability of cultures of lactic acid microorganisms during their freezing and low-temperature storage. Agrarian Science, 6, 6–11. (In Russian)] <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-350-6-6-11>
8. Rockinger, U., Funk, M., Winter, G. (2021). Current approaches of preservation of cells during (freeze-) drying. Journal of Pharmaceutical Sciences, 110(8), 2873–2893. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.04.018>
9. Пучков, О. Е. (2017). Биогенное управление образованием льда. Природа, 2 (1218), 27–37. [Puchkov, O.E. (2017). Biogenic management of ice formation. Nature, 2(1218), 27–37. (In Russian)]
10. Wang, G.-Q., Pu, J., Yu, X.-Q., Xia, Y.-J., Ai, L.-Z. (2020). Influence of freeze-drying temperature before freeze-drying on the viability of various Lactobacillus plantarum strains. Journal Dairy Sciences, 103(4), 3066–3075. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17685>
11. Tsutsaeva, A. A., Anan'ina, A. E., Balyberdina, L. M., Stepanyuk, L. V., Pavlenko, N. V. (2008). Long-term storage of industrial microbial strains. Microbiology, 77(5), 621–624. <https://doi.org/10.1134/S0026261708050172>
12. Степанова, А. П., Ловцова, Л. Б., Григорьева, Ж. А. (2022). К вопросу о возможности длительного хранения молочнокислых штаммов без утраты их основных свойств. Вестник Всероссийского научно-исследовательского института жиров, 1–2, 52–55. [Stepanova, A.P., Lovtsova, L.B., Grigorieva, Zh.A. (2022). On issue of possibility of long-term storage of lactic acid strains without loss of their basic properties. Bulletin of All-Russian Scientific Research Institute of Fats, 1–2, 52–55. (In Russian)] <https://doi.org/10.25812/VNIIG.2022.70.27.003>
13. Абзалов, А. А., Асеева, М. А., Атабаев, М. М., Белов, П. С., Беляева, С. В., Бердзенишвили, И. Г. и др. (2018). Результаты исследований естественных и точных наук: междисциплинарный подход и сверхаддитивный эффект. Самара: ООО НИЦ «Поволжская научная корпорация», 2018. [Abzalov, A. A., Aseeva, M. A., Atabaev, M. M., Belov, P. S., Belyaeva, S. V., Berdzenishvili, I. G. et al. (2018). Results of researches in natural and exact sciences: Interdisciplinary approach and super additive effect. Samara: Volga Scientific Corporation SRC LLC, 2018. (In Russian)]
14. Грачева, И. В., Осин, А. В. (2016). Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред. Проблемы особо опасных инфекций, 3, 5–12. [Gracheva, I.V., Osin, A.V. (2016). Mechanisms of damaging bacteria during lyophilization and protective activity of shielding media. Problems of Particularly Dangerous Infections, 3, 5–12. (In Russian)]
15. Wang, J., Chen, L. (2021). Impact of a novel nano-protectant on the viability of probiotic bacterium Lactobacillus casei K17. Foods, 10(3), Article 529. <https://doi.org/10.3390/foods10030529>
16. Archacka, M., Bialas, W., Dembczyński, R., Olejnik, A., Sip, A., Szymanowska, D. et al. (2019). Method of preservation and type of protective agent strongly influence probiotic properties of Lactococcus lactis: A complete process of probiotic preparation manufacture and use. Food Chemistry, 274, 733–742. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.033>
17. Савкина, О. А., Терновской, Г. В., Локачук, М. Н., Павловская, Е. Н., Сафронова, В. И. (2014). Криоконсервация — перспективный метод хранения промышленно ценных штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей. Сельскохозяйственная биология, 49(4), 112–119. [Savkina, O. A., Ternovskoi, G. V., Lokachuk, M. N., Pavlovskaya, E. N., Safronova, V. I. (2014). Cryopreservation to be a progressive method for keeping up valuable strains of lactic acid bac-

teria and yeasts. *Agricultural Biology*, 49(4), 112–119. (In Russian)] <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2014.4.112rus>

18. Гудков А. В. (2004). Сыроделие: технологически, биологические и физико-химические аспекты. М.: ДеЛи принт, 2004 [Gudkov, A.V. (2004). Cheese making: Process-related, biological and physico-chemical aspects. Moscow: DeLi Print, 2004. (In Russian)]

19. Li, L., Mendis, N., Trigui, H., Oliver, J.D., Faucher, S.P. (2014) The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 5, Article 258. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258>

20. Пахомов, Ю.Д., Блинкова, Л.П. (2019). Биоопасность жизнеспособных некультивируемых микроорганизмов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*, 96(3), 83–91. [Pakhomov, Y.D., Blinkova, L.P. (2019). Biohazard caused by viable but nonculturable microorganisms. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 96(3), 83–91. (In Russian)] <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-3-83-91>

21. Blinkova, L., Martirosyan, D.M., Pakhomov, Y., Dmitrieva, O., Vaugman, R., Altshuler, M. (2014). Nonculturable forms of bacteria in lyophilized probiotic preparations. *Functional Foods in Health and Disease*, 4(2), 66–76. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v4i2.29>

22. Ganesan, M., Stuart, M. R., Weimer, B. C. (2007). Carbohydrate starvation causes a metabolically active but nonculturable state in *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(8), 2498–2512. <https://doi.org/10.1128/AEM.01832-06>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Кучеренко Ирина Валентиновна — старший научный сотрудник, участок коллекции микроорганизмов и бактериофагов, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, ул. Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-485-329-82-21 E-mail: i.kucherenko@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8251-992X * автор для контактов	Irina V. Kucherenko , Senior Researcher, Collection Area of Microorganisms and Bacteriophages, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-329-82-21 E-mail: i.kucherenko@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8251-992X * corresponding author
Кураева Елена Вячеславовна — старший научный сотрудник, лаборатория селекции микроорганизмов, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, ул. Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-485-329-82-84 E-mail: e.kuraeva@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0710-3083	Elena V. Kuraeva , Senior Researcher, Microorganism Selection Laboratory, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-329-82-84 E-mail: e.kuraeva@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0710-3083
Масежная Елена Сергеевна — младший научный сотрудник, участок коллекции микроорганизмов и бактериофагов, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, ул. Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7485-329-82-21 E-mail: mikrob.biofabrika@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-1381-9344	Elena S. Masegnaya , Junior Researcher, Collection Area of Microorganisms and Bacteriophages, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-329-82-21 E-mail: mikrob.biofabrika@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-1381-9344
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is 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/10.21323/2618-9771-2024-7-2-312-320>

Received 02.02.2024

Accepted in revised 22.06.2024

Accepted for publication 25.06.2024

© Alifiansyah M. R. T., Herdiansyah M. A., Pratiwi R. C., Pramesti R. P., Hafsyah N. W., Rania A. P., Putra J. E. R. P., Cahyono P. A., Litazkiyyah, Muhammad S. K., Murtadlo A. A. A., Kharisma V. D., Ansori A. N. M., Jakhmola V., Ashok P. K., Kalra J. M., Purnobasuki H., Pratiwi I. A., 2024

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

Original scientific article

Open access

QSAR OF ACYL ALIZARIN RED BIOCOMPOUND DERIVATIVES OF *RUBIA TINCTORUM* ROOTS AND ITS ADMET PROPERTIES AS ANTI-BREAST CANCER CANDIDATES AGAINST MMP-9 PROTEIN RECEPTOR: *IN SILICO* STUDY

Mochamad R. T. Alifiansyah¹, Mochammad A. Herdiansyah², Rahma C. Pratiwi¹, Ragil P. Pramesti¹, Nisriena W. Hafsyah¹, Athaya. P. Rania¹, Justitia E. R. P. Putra², Putri A. Cahyono², Litazkiyyah², Sirojuddin K. Muhammad³, Ahmad A. A. Murtadlo^{2,4}, Viol D. Kharisma^{2,4}, Arif N. M. Ansori^{4,5,6*}, Vikash Jakhmola⁶, Praveen K. Ashok⁷, Jyoti M. Kalra⁸, Hery Purnobasuki^{2*}, Intan Ayu Pratiwi²

¹Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

²Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

³Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

⁴Division of Research and Development, Jalan Tengah, Surabaya, Indonesia

⁵Postgraduate School, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

⁶Uttaranchal Institute of Pharmaceutical Sciences, Uttaranchal University, Dehradun, India

⁷Gyani Inder Singh Institute of Professional Studies, Dehradun, India

⁸School of Pharmaceutical Sciences, Shri Guru Ram Rai University, Dehradun, India

KEY WORDS:

ADMET prediction, alizarin derivatives, breast cancer, medicine, QSAR

ABSTRACT

Alizarin is a polycyclic compound isolated from roots of *Rubia tinctorum* that has potential as a breast anticancer candidate. Increasing anticancer activity can be done through structural modification to produce derivatives in the form of group substitution in the meta position using acyl. The purpose of this work is to forecast the anticancer activity of alizarin and its derivatives on the MMP-9 receptor using. Important biological activity factors will be identified by Quantitative Structure Activity molecular docking Relationship (QSAR) and projected absorption, distribution, metabolism, elimination, and toxicity (ADMET). Using Molegro Virtual Docker (MVD), molecular docking was carried out on the MMP 9 receptor (4WZV.pdb). LogP, Etot, and MR are the physicochemical parameters that are examined in order to produce QSAR. Statistical Package for the Social Science (SPSS) was used for the QSAR analysis. The pkCSM was utilized to determine ADMET prediction. The acyl alizarin derivatives have a lower rerank score than alizarin, according to the docking results so that they are predicted to have more potent anticancer activity. The QSAR analysis's findings indicated that logP and Etot had the greatest effects on the alizarin compound's and its derivatives' activity. The results of the ADMET prediction indicate that acyl alizarin is less harmful and superior to alizarin. Research findings show that it is possible to synthesize acyl alizarin derivatives, especially alizarin octanoate, which will then be tested in vitro or in vivo to determine its anti-breast cancer activity and toxicity.

ACKNOWLEDGEMENTS: The author would like to thank Prof. Dr. apt. Siswandono, M.S. which has granted the MVD license. We also thank Jalan Tengah, Indonesia (jalantengah.site) for editing the manuscript.

Получено 02.02.2024

Принята в исправленном виде 22.06.2024

Принято к публикации 25.06.2024

© Алифиансия М. Р.Т., Хердиансья М. А., Пратииви Р. К., Прамести Р. П., Хафсия Н. В., Рания А. П., Путра Дж.Э.Р.П., Кахионо П. А., Литазкийя, Мухаммад С. К., Муртадло А. А.А., Харизма В. Д., Ансори А. Н.М., Джахмола В., Ашок П. К., Калра Дж.М., Пурнобасуки Х., Пратииви И. А., 2024

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

Научная статья

Open access

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СООТНОШЕНИЕ «СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ» (QSAR) БИОСОЕДИНЕНИЯ АЦИЛАЛИЗАРИНА КРАСНОГО, ПРОИЗВОДНОГО КОРНЕЙ МАРЕНЫ КРАСИЛЬНОЙ, И ЕГО СВОЙСТВ В АСПЕКТАХ АДМЕТ В КАЧЕСТВЕ ВЕЩЕСТВА-КАНДИДАТА, ПРЕПЯТСТВУЮЩЕГО РАЗВИТИЮ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, В СРАВНЕНИИ С БЕЛКОВЫМ РЕЦЕПТОРОМ ММП-9: ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO*

Мохаммад Р. Т. Алифансья¹, Мохаммад А. Хердиансья², Рахма К. Пратииви¹, Рагил П. Прамести¹, Нисриена В. Хафсия¹, Атайя. П. Рания¹, Джустития Э. Р.П. Путра², Путри А. Кахионо², Литазкийя², Сироджуддин К. Мухаммад³, Ахмад А. А. Муртадло^{2,4}, Виол Д. Харисма^{2,4}, Ариф Н. М. Ансори^{4,5,6*}, Викаш Джахмола⁶, Правин К. Ашок⁷, Джьоти М. Калра⁸, Хери Пурнобасуки^{2*}, Интан Аю Пратииви²

FOR CITATION: Alifiansyah, M.R.T., Herdiansyah, M.A., Pratiwi, R.C., Pramesti, R.P., Hafsyah, N.W., Rania, A.P. et al. (2024). QSAR of acyl alizarin red biocompound derivatives of *Rubia tinctorum* roots and its ADMET properties as anti-breast cancer candidates against MMP-9 protein receptor: *In Silico* study. *Food Systems*, 7(2), 312–320. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-312-320>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Алифиансия, М. Р. Т., Хердиансья, М. А., Пратииви, Р. К., Прамести, Р. П., Хафсия, Н. В., Рания, А. П. и др. (2024). Количественное соотношение «структура-активность» (QSAR) биосоединения ацилализарина красного, производного корней марены красильной, и его свойств в аспектах АДМЕТ в качестве вещества-кандидата, препятствующего развитию рака молочной железы, в сравнении с белковым рецептором ММП-9: исследование *in silico*. *Пищевые системы*, 7(2), 312–320. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-2-312-320>

¹Кафедра фармацевтических наук, фармацевтический факультет, Университет Эйрлангга, Сурабая, Индонезия²Кафедра биологии, факультет науки и технологий, Universitas Airlangga Университет Эйрлангга, Сурабая, Индонезия³Кафедра физики, факультет науки и технологий, Университет Эйрлангга, Сурабая, Индонезия⁴Отдел исследований и разработок, Джалан Тенга, Сурабая, Индонезия⁵Аспирантура, Университет Эйрлангга, Сурабая, Индонезия⁶Институт фармацевтических наук Уттаранчала, Университет Уттаранчала, Дехрадун, Индия⁷Институт профессиональных исследований Гьяни Индера Сингха, Дехрадун, Индия⁸Школа фармацевтических наук, Гари Гурурам Рам Раи Университет, Дехрадун, Индия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** АННОТАЦИЯ

прогноз параметров
ADMET, производные
ализарина,
рак молочной
железы, медицина,
количественное
соотношение
«структура-
активность» (QSAR)

Ализарин представляет собой полициклическое соединение, выделенное из корней растения марена красильная (*Rubia tinctorum*), которое потенциально может представлять интерес как средство в лечении рака молочной железы. Повысить противораковую активность можно путем модификации структуры вещества с получением производных в виде замещения группы в метаположении с применением ацила. Цель данной работы — прогнозирование противоракового действия ализарина и его производных на рецепторе ММП-9 при помощи молекулярного докинга. Важные факторы биологической активности будут определены с помощью количественного соотношения структура-активность (QSAR) и прогнозируемых параметров всасывания, распределения, метаболизма, выведения и токсичности (ADMET). С помощью инструмента MVD был осуществлен молекулярный докинг рецептора MMP 9 (4WZV.pdb). LogP, Etot и MR — это физико-химические параметры, которые исследуются для получения QSAR. Для анализа QSAR использовался пакет программ обработки статистических данных (SPSS). Программа pkCSM использовалась для определения прогнозируемых параметров ADMET. Согласно результатам докинга, ацильные производные ализарина имеют более низкую степень переранжирования, нежели ализарин. Результаты анализа параметров QSAR показали, что logP и Etot оказали наибольшее влияние на активность соединения ализарина и его производных. Результаты прогноза параметров ADMET показывают, что ацилализарин менее вреден, и превосходит ализарин по своим полезным свойствам. Показано, что можно синтезировать производные ацилализарина, в частности октаноат ализарина, для их использования в качестве средства лечения рака молочной железы.

БЛАГОДАРНОСТИ: Автор выражает благодарность профессору, доктору наук Сисвандоно, магистру наук, который предоставил лицензию на использование инструмента MVD. Мы также благодарим Джалана Тенгаха, Индонезия (jalantenah.site) за редактирование рукописи.

1. Introduction

Breast cancer is an abnormal condition of the body that allows cells in the breast to grow uninterruptedly and thus trigger the formation of cancer cells. The main mechanisms of cancer progression include inhibition of apoptosis, involving the unlimited capacity for cells to divide, increased angiogenesis, resistance to growth-suppressing signals and excessive induction of cells to continue their growing [1]. With estimated 2.3 million of new cases worldwide, breast cancer is the fifth most common malignancy to cause mortality [2]. According to data obtained from the International Agency for Research on Cancer (IARC), Global Burden of Cancer, the global burden of cancer accounted for 18.1 million new cases of cancer worldwide in 2018, and 9.6 million of cancer-caused deaths. It is predicted that the number of cancer cases will rise from 18.1 million to 22 million over the next 20 years. According to WHO forecasts, 26 million of individuals will be diagnosed with cancer by 2030, and 17 million of those cases would result in cancer-caused deaths.

Matrix metalloproteinases, also known as MMPs, are zinc-dependent endopeptidases that are a part of the metzincin superfamily, which has been linked to a number of clinical conditions, including cancer. The largest member of the MMP superfamily linked to onset of the medical condition and metastasis in breast cancer is MMP-9. MMP-9 can activate various proteins involved in inflammatory pathways and can act as a pro-inflammatory factor [3,4]. This activation causes chronic inflammation which can promote tumorigenesis [5]. Apart from that, MMP is also known for its ability to activate tumor growth factors and trigger the mechanisms that can inhibit cell apoptosis and trigger increased cell proliferation [6]. MMP-9 is known for its ability to activate vascular endothelial growth factor (VEGF) so that it can cause angiogenesis in tumor cells [7]. Numerous substances found in the natural goods have shown their possession of anticancer properties. It is well known that *Rubia tinctorum* root features antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant properties. One of the primary components of the *Rubia tinctorum* plant is alizarin, which has proven to be useful in the therapy of bone cancer as an osteotropic medication [8,9,10]. Based on previous research, it was shown that alizarin is able to inhibit the growth of pancreatic cancer cells and cause apoptosis by inhibiting nuclear translocation of NF-κB, whereas activation of NF-κB will trigger gemcitabine resistance in the therapy of pancreatic cancer [11,12]. Based on an *in vitro* study, the IC₅₀ value of alizarin for type 4T1 breast cancer cells are equal to 495 μM and these results indicate that alizarin is cytotoxic to type 4T1 breast cancer cells. In addition, the same study also showed that alizarin was able to reduce MMP-9 expression compared to the control group [13].

The modification of the organic structure of alizarin by molecular docking is one of the efforts that can be made to increase the anticancer activity of alizarin compounds in a body. Molecular docking simulation, else known as *in silico*, is carried out before the compound synthesis pro-

cess. The advantages of this *in silico* study are reducing costs, research time, errors, using the experimental animals, and preventing contamination by chemicals [14,15]. Molecular docking is the tethering of a ligand or test compound in a certain conformation to a receptor target [16]. The result of molecular docking is a reranking of score (RS) parameters, while these parameters describe the binding energy needed by the ligand to bind to the receptor so as to produce biological activity. The smaller the RS value, the stronger the bond formed between the ligand and the receptor, so that the biological activity also increases [17,18,19].

In this study, dry lab tests were carried out to predict the anticancer activity of alizarin compounds and their derivatives against breast cancer receptor MMP-9 using molecular docking simulations. The structure was modified in the form of a derivatization process targeted to produce compound derivatives by substituting the meta position of the structure with the help of an acyl group. The addition of acyl groups to alizarin is suggested to increase biological activity in the form of anticancer potency because acyl groups can increase lipophilicity along with increasing the number of C atoms [20]. The existence of structural modifications in the form of adding acyl groups to alizarin will cause differences in physicochemical properties so that the resulting biological activity will also be different [21]. Molecular docking simulation was performed using MVD on MMP-9 receptor (4WZV.pdb). From the docking results, the rerank score parameters were obtained to proceed to the QSAR study. QSAR studies have the aim of designing and identifying the new drug compounds that are likely to possess preset biological activity or to improve the pharmacokinetic and toxicity characteristics of the new drug compounds [22]. The physicochemical parameters used in the QSAR study are logP, Etot, and MW. The QSAR study aims to obtain a mathematical equation that correlates the physicochemical characteristics of the drug compounds with their biological activity [23,24].

Furthermore, an assessment of the toxicity and pharmacokinetic parameters (absorption, distribution, metabolism, elimination and toxicity, ADMET) of acyl alizarin derivatives was conducted. This evaluation was implemented because most of the new drug candidates were predicted to have good activity but failed in the preclinical and clinical trial phases due to poor ADMET parameters [25]. The results of the implemented dry lab tests were aimed to predict the anticancer activity of alizarin and its derivatives against MMP-9 breast cancer cells as well as its being a source of reference data in the future for the other pharmaceutical research.

2. Objects and methods**2.1. Materials**

The type of the hardware and software used is a Lenovo Laptop, Windows 11 operating system, 64-bit, Intel Core i3–1115G4, CPU @ 3 GHz 3 Ghz, 8.00 GB RAM. The application used is ChemDraw ver.19, Chem3D ver.19, Molegro Virtual Docker (MVD) ver. 6.0, SPSS ver. 25, SMILES Translator, and pkCSM online tool.

2.2. Protein preparation

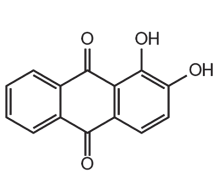
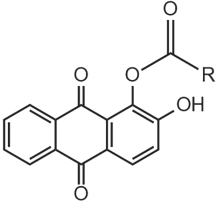
The protein in the form of the MMP-9 receptor (Figure 1) was downloaded from the Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). From among the several existing receptors, the MMP-9 receptor with PDB code 4WZV was selected. The MMP-9 receptor with PDB code 4WZV was chosen because the native ligand has a carbonyl group (C=O) as a pharmacophore group. The alizarin compound also has carbonyl group.

2.3. Ligand preparation

The 2D structures of the test compounds, in particular alizarin and acyl alizarin derivatives (A and AA1–9) (Table 1) were drawn using the ChemDraw Ver. 19 software. Structures from ChemDraw were copied to Chem 3D Ver. 19 to view the 3D structure and measure the minimum energy with MMFF94. Furthermore, these structures are stored in the format *mol2* {SYBYL2(*.Mol2)}.

Table 1. The chemical structure of alizarin and acyl alizarin derivatives

Таблица 1. Химическое строение производных ализарина и ацилализарина

		
Code	Compounds name	Functional group
A	Alizarin	—
AA1	Alizarin acetate	CH ₃ (methyl)
AA2	Alizarin propionate	C ₂ H ₅ (ethyl)
AA3	Alizarin butyrate	C ₃ H ₇ (propyl)
AA4	Alizarin pentanoate	C ₄ H ₉ (butyl)
AA5	Alizarin hexanoate	C ₅ H ₁₁ (pentyl)
AA6	Alizarin heptanoate	C ₆ H ₁₃ (hexyl)
AA7	Alizarin octanoate	C ₇ H ₁₅ (heptyl)
AA8	Alizarin nonanoate	C ₈ H ₁₇ (octyl)
AA9	Alizarin decanoate	C ₉ H ₁₉ (nonyl)

2.4. Docking method validation

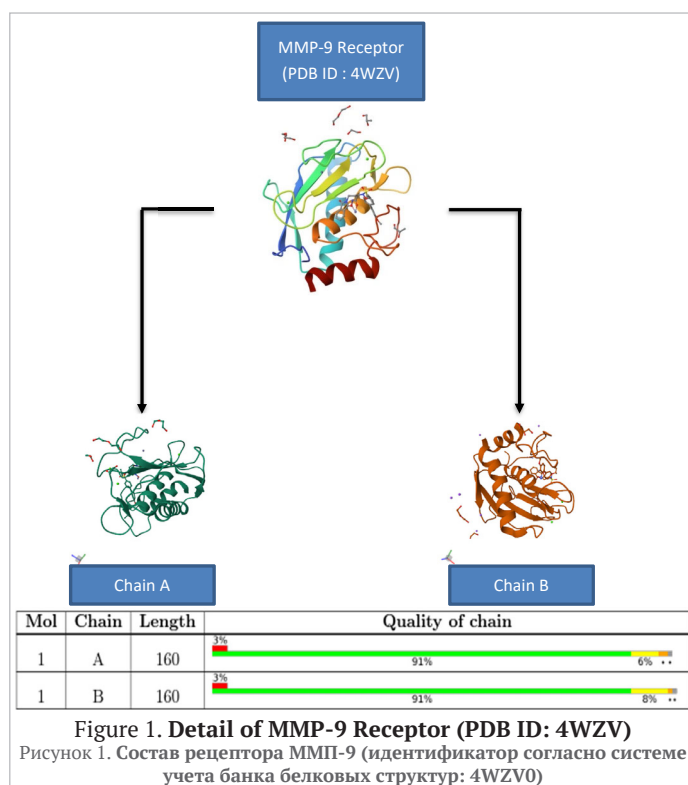
Validation was carried out by docking the native ligand on MMP-9 receptor (4WZV) based to the cavity. Docking method is valid if RMSD score is less than 2 Å [14,26]. RMSD is a parameter that takes into account the distance deviation that occurs between the orientation of the native ligand before its re-docking and after re-docking [27].

2.5. Docking method

The molecular docking compound test was carried out on the same cavity of protein as the native ligand in the MMP-9 receptor based on the results of method validation using MVD. The results obtained from the molecular docking are expressed in the form of a rerank score (RS) which parameter describes the energy required to form a compound bond with the receptor. The smaller the RS value produced, the more stable the bond formed between the compound and the receptor so that the biological activity also increases. In addition, the interaction between the test compound and the amino acid residues of the MMP-9 receptor was observed using the Discovery Studio 2021 Client visualization software.

2.6. QSAR study

The QSAR study uses physicochemical parameters obtained from ChemDraw Ver.18 — these are logP as a lipophilic parameter, and molecular weight as a steric parameter. The logP and MW values are obtained by selecting the menu function “view”, then selecting “show chemical properties window”. Meanwhile, the total energy value (Etot) as an electronic parameter was obtained from the software Chem 3D Ver.18 by copying the 2D structure from ChemDraw then pasting it into Chem 3D. Next, the function “calculation” was selected, then “MMFF94”, and “perform MMFF94 minimization” as last. The Etot value can be seen at the bottom of the output window. QSAR research uses the SPSS software by entering these three parameters as the independent variables and the RS value as the dependent variable. From these variables, linear regression and non-linear regression results were obtained.



2.7. ADMET prediction

ADMET prognostication of alizarin compounds and acyl alizarin derivatives properties can be done with the pkCSM online tool. Software pkCSM is known to have quite high accuracy, for example the AMES toxicity predictor in pkCSM has an accuracy rate of 83.8%, while in ToxFree it has an accuracy rate of 75.8% [28]. The first step taken was to draw the 2D structure of the compound to be analyzed using the ChemDraw Ver. 19.1, then the 2D structure was copied to the Chem3D Ver. 19.1 to obtain the 3D structure and saved in *.sdf file format. Furthermore, the compound file was translated using SMILES translator (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Then, the translated compound can be prognosticated for its pharmacokinetic and toxicity properties using the pkCSM online tool (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>). The results obtained from these prognostications can be interpreted through pkCSM theory.

2.8. Statistical analysis

Statistical analysis was carried out for QSAR study with the help of SPSS software. QSAR study use regression analysis to look for correlations between physicochemical property parameters that represent the structure of chemical compounds and the resulting biological activity. From the regression analysis, the HKSA equation and several statistical criteria are produced. The best HKSA equation is selected based on statistical criteria. The statistical criteria used in QSAR research are significance, *r*, *F*, and Standard Error (SE). The significance value of less than 0.05 (<0.05) indicates the presence of significant relation between the physicochemical property parameters and the resulting biological activity. The *r* value ranges between 0 and 1, where the higher the *r* value, the stronger the relationship between physicochemical property parameters and biological activity. The *F* value shows the significance of the relation, where the higher the *F* value, the higher the degree of significance. The SE value shows variations or errors in the study.

3. Results and discussion

Molecular docking of acyl alizarin derivative compounds was carried out using the receptor MMP-9 (PDB code: 4WZV). Before carrying out the molecular docking trials on the acyl alizarin derivative test compound, method validation process is required to be run on the selected receptor. Due to the validation process of the docking method, an RMSD value will be obtained which analyzes changes in the interaction between the ligand and the protein or the receptor structure before and after docking. The docking method is considered to be valid if the resulting RMSD value is less than 2 Å [14,26]. Validation of the docking method was carried out in 2 replications and the RMSD values obtained for each replication were equal to 0.7773 Å and 0.6239 Å, respectively. From these results it was concluded that the docking method and MMP-9 receptor, designated with PDB code: 4WZV, can be used for molecular docking of the acyl alizarin derivative test compound.

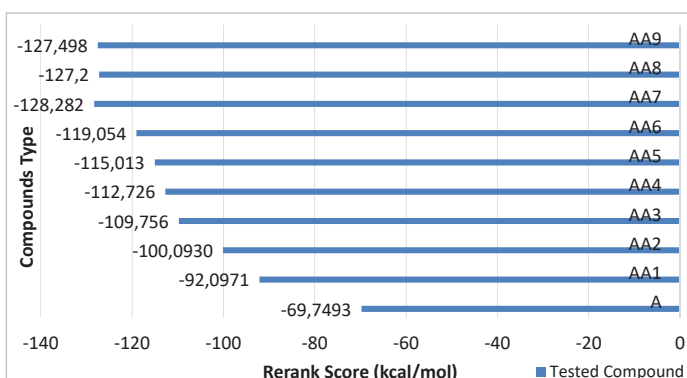


Figure 2. Prognosticated results of biological activity of alizarin derivative compounds via using MVD

Рисунок 2. Прогностические результаты биологической активности производных соединений ализарина, проанализированных с помощью MVD

From Figure 2, the results show that the alizarin derivative compound feature a lower RS value than its parent compound, namely alizarin. Alizarin derivative compounds are considered to have a higher cytotoxic effect on breast cancer cells than alizarin. The compound alizarin octanoate (AA7) is known to have the lowest RS value compared to other alizarin derivative compounds.

Table 2. Results of interaction of alizarin compounds and their derivatives with amino acid residues of the MMP-9 receptor

Таблица 2. Результаты взаимодействия соединений ализарина и их производных с аминокислотными остатками рецептора ММП-9

Code	Hydrogen Bond	Steric Bond	Amount of Hydrogen Bond	Amount of Steric Bond
A	Ala 242; Ala 242; Met 247	Leu 188; His 226; His 226; Tyr 245; Leu 243; Val 223; Val 223	3	7
AA1	Met 247	His 226; His 226; Val 223; Val 223; Tyr 248; Leu 222; Leu 243	1	7
AA2	Met 247	His 226; His 226; Val 223; Val 223; Tyr 248; Leu 222; Leu 243; Tyr 245; Arg 249; Met 247	1	10
AA3	—	His 226; His 226; Val 223; Tyr 248; Leu 222; Leu 243; Met 247; Tyr 245; Tyr 245	0	9
AA4	—	His 226; His 226; Tyr 245; Tyr 245; Met 247; Glu 241; Leu 222; Leu 243; Tyr 248; Val 223; Val 223	0	11
AA5	Tyr 245	Met 247; His 226; Val 223; Leu 188; Glu 241	1	5
AA6	Arg 249	Pro 240; Arg 249; Arg 249; Met 247; Met 247; Leu 188; Val 223; Val 223; His 226; Tyr 248; Pro 255	1	11
AA7	Tyr 245	Met 247; Tyr 248; Ala 189; Leu 188; Val 223; His 226; Glu 241	1	7
AA8	Tyr 245; Arg 249	Leu 188; Val 223; His 226; Tyr 248; Met 247; Glu 241	2	6
AA9	Arg 249; Arg 249	Val 223; Ala 189; Leu 188; Leu 188; Arg 249; Arg 249; Met 247; His 226; His 226	1	9

The alizarin compound and acyl alizarin derivatives were also observed for their interactions with the MMP-9 receptor, coded under PDB4WZV, through visualization software *Discovery Studio 2021 Client*. The interactions between the compounds and receptors that could be seen include hydrogen bonds and steric bonds. Hydrogen bonds are intermolecular bonds between hydrogen atoms bonded to highly electronegative atoms (F, O, and N) and highly electronegative atoms from the other molecules. Hydrogen bonds are very strong bonds with bond energies reaching 40 kJ/mol. In Table 2, the alizarin compound has a greater number of hydrogen bonds than all acyl alizarin derivative compounds. Steric bonds include Van der Walls bonds and hydrophobic bonds. Van der Walls bonds consist of several types, namely dipole-dipole bonds,

London bonds, and ion-dipole bonds [29]. Hydrophobic bonds are the bonds that occur between amino acids from non-polar protein side chains and lipophilic groups from the ligands [30]. Based on the Table 2 it can be seen that alizarin pentanoate (AA4) and alizarin heptanoate (AA6) have the highest number of steric bonds compared to alizarin and other acyl alizarin derivatives. Figure 3 shows a visualization of the interactions that occur in the alizarin derivative that has the lowest RS, namely alizarin octanoate (AA7) with the MMP-9 receptor amino acid residue (PDB: 4WZV).

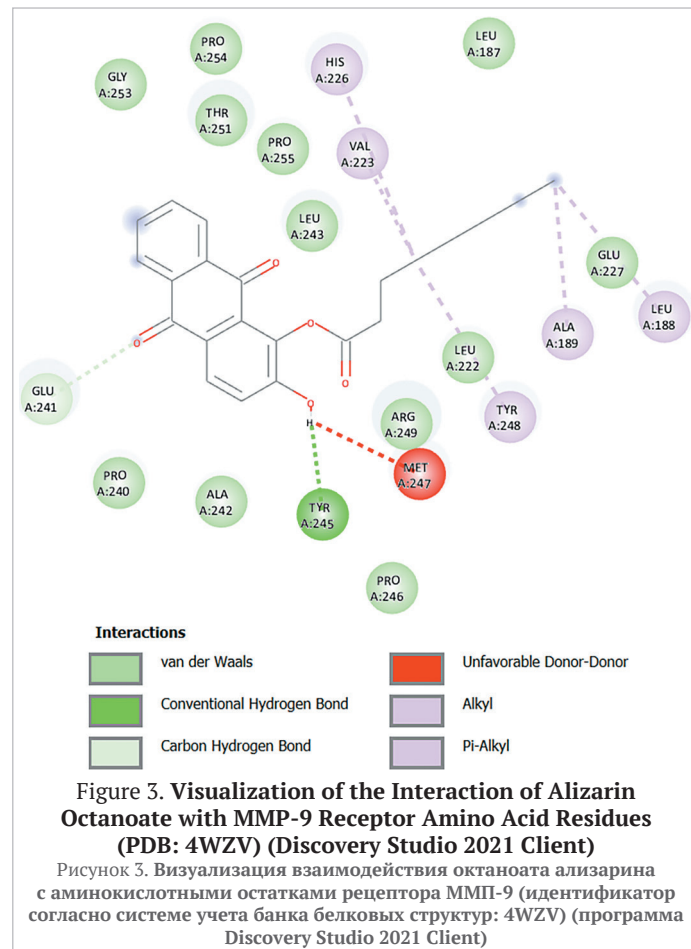


Figure 3. Visualization of the Interaction of Alizarin Octanoate with MMP-9 Receptor Amino Acid Residues (PDB: 4WZV) (Discovery Studio 2021 Client)

Рисунок 3. Визуализация взаимодействия октаноата ализарина с аминокислотными остатками рецептора ММП-9 (идентификатор согласно системе учета банка белковых структур: 4WZV) (программа Discovery Studio 2021 Client)

The physicochemical parameters (descriptors) of alizarin derivatives and acyl alizarin were determined using Chem Draw Ver. 18 and Chem 3D Ver. 18 which can be seen in the Table 3. The prognosticated descriptor values and anticancer activity of the molecular docking later were analyzed using linear and non-linear regression by SPSS. The equation is presented in the Table 4.

Table 3. Physicochemical parameters (descriptors) of alizarin and acyl alizarin derivatives

Таблица 3. Физико-химические параметры (дескрипторы) ализарина и производных ацилизарина

Code	LogP	E _{tot} (kcal/mol)	MW (g/mol)
A	1.64	48.6696	66.38
AA1	1.62	61.5911	75.77
AA2	2.27	61.313	80.51
AA3	2.69	60.9239	85.11
AA4	3.10	60.8187	89.71
AA5	3.52	60.8902	94.31
AA6	3.94	60.5841	98.91
AA7	4.36	60.8082	103.51
AA8	4.77	60.7794	108.10
AA9	5.19	60.8725	112.7

Table 4. Linear and non-linear regression equation of alizarin and acyl alizarin derivatives

Таблица 4. Линейное и нелинейное уравнение регрессии ализарина и производных ацилализарина

No.	Regression equation	n	r	s	F	Sig
One parameter						
1.	RS = -13.319 logP - 66.062	10	0.908	8.22	37.658	0.000
2.	RS = -1.192 MR - 1.035	10	0.954	5.92	80.088	0.000
3.	RS = -3.443 E _{tot} + 95.489	10	0.724	13.56	8.806	0.018
4.	RS = 3.856 logP ² - 38.928 logP - 29.076	10	0.947	6.74	30.508	0.000
Two parameters						
5.	RS = -2.771 MR + 18.756 logP + 81.335	10	0.975	4.634	68.430	0.000
6.	RS = -1.999 E _{tot} - 10.771 logP + 44.912	10	0.986	3.56	118.395	0.000
7.	RS = -1.359 E _{tot} - 0.996 MR + 62.146	10	0.983	3.87	99.774	0.000
8.	RS = 2.817 log ² P - 4.094 logP - 2.413 MR + 89.317	10	0.994	2.50	162.062	0.000
9.	RS = 2.056 log ² P - 24.790 logP - 1.713 E _{tot} + 48.719	10	0.994	2.40	176.982	0.000

The QSAR study demonstrated that the best equation with one parameter is equation No.2 and the best equation with two parameters is equation No. 9 which is presented in the Table 4. From these equations, the conclusion can be drawn that there is a significant parabolic relation between logP and Etot with the prognostication of breast anticancer activity so that lipophilic and electronic parameters are the most influential parameters on the prognostication of breast anticancer activity.

Table 5 showed the ADMET properties of the alizarin and its derivatives. ADMET properties divided into five group parameters that are absorption, distribution, metabolism, and toxicity. The process of drug absorption has significant importance within the realm of pharmacokinetics, a scientific discipline focused on comprehending the body's interactions with the administered substances throughout their entire presence within the body system [31]. Drug absorption refers to the mechanism through which a drug transitions from its point of its administering into the body to its circulation throughout the system. Multiple mechanisms contribute to the effective assimilation of drugs, encompassing passive diffusion, facilitated diffusion, active transporting, and endocytosis. The quantification of drug absorption is expressed as bioavailability, which

denotes the degree of successful absorption. In simpler terms, bioavailability is referred to the portion of the administered drug that remains unchanged and reaches the circulation system [32].

Water solubility, permeability through Caco-2 cell layers, and intestinal absorption in humans were presented among the reported absorption parameters. These properties are all crucial to the medication absorption process. Another crucial aspect of oral administering of the medications is their degree of solubility in the body, particularly in the intestinal fluid, since insufficient solubility might impede or prevent intestinal absorption of the drug via the portal vein system [33]. Based on the results presented in the Table, acyl alizarin derivative compounds have lower water solubility values than alizarin compounds. It is explained by the longer carbon chain that decreases the solubility of a compound in water because of its non-polar properties. Furthermore, the CaCO₂ permeability value possessed by these compounds feature shows a high value (>0.90 logPapp). When administering medications orally, the Caco-2 cell monolayer is frequently used as an *in vitro* model of the human intestinal mucosa to prognosticate the rate of absorption. The high result suggests that the CaCO₂ membrane is highly permeable for alizarin chemicals and acyl alizarin derivatives. The intestinal absorption parameter estimates the proportion of a medicine that is absorbed through the human intestine, which is often the major route of absorption for drugs taken orally. The investigated substances have an intestinal absorption value of >30%, thus indicating that the gut can effectively absorb them, according to the data obtained. When it comes to oral medications, they have to be capable to pass through the biological membranes in the gastrointestinal tract in order to enter the bloodstream. Transporter-mediated pathways, paracellular diffusion, and transcellular diffusion are some of the ways that penetration can occur through [34].

The drug distribution process involves the movement of the drug after absorption into various bodily compartments, including the spaces such as the interstitial and intracellular areas. This distribution process is vital, as it leads to the target organ exposure to the administered drug, thus ensuring its impact [34]. Distribution involves the transfer of the drug from the general bloodstream to bodily tissues. It's necessary for the drug to be spread over the target location where it exerts its intended effect in a potent concentration to bring about therapeutic benefits. The distribution process primarily revolves around the blood circulatory system, with minor lymphatic glands engagement, distributing drugs throughout tissues, except for the brain and testes due to their membrane barriers. Consequently, the dosage needed can be influenced by the varying blood flow rates to different tissues [35].

The distribution-related characteristics, that were observed, included the blood-brain barrier's permeability and distribution volume, both of which play significant roles in the overall mechanism of drug's distribution. Volume known as VDss, which is uniformly present in blood plasma, is necessary for processing of the entire dosage of a medicine. In cases of the larger VDss, the drug will be more widely distributed in the tissue than in the plasma. If a compound's VDss value is more than 0.45, it has a good distribution. Meanwhile the log VDss < -0.15 and log VDss > -0.45, VDss is evaluated as low and high, respectively. The more the medicine is dispersed in tissue as opposed to plasma, the higher the volume of distribution value. Alizarin compounds and acyl alizarin derivatives have low VDss values (logVDss < -0.15), according to the data collected. This suggests that it is challenging for these substances to disperse throughout

Table 5. ADMET properties prediction of alizarin and acyl alizarin derivatives predicted using the pkCSM online tool

Таблица 5. Прогнозирование ADMET свойств производных ализарина и ацилализарина, спрогнозированных с помощью онлайн-инструмента pkCSM

Code	Absorption		Distribution			Metabolism		Excretion		Toxicity		
	Water solubility (logS)	CaCO ₂ permeability (logPapp)	HIA (%)	VDss (Human) (log L/kg)	BBB Permeability (logBB)	CYP2D6 substrate	CYP3A4 substrate	Renal OCT Substrate	Total Clearance (log ml/min/kg)	Rat LD ₅₀ (mol/kg)	AMES Toxicity	Hepato toxicity
A	-2.705	1.027	94.268	-0.146	-0.081	No	No	No	0.095	2.238	Yes	No
AA1	-3.793	1.102	98.656	-0.297	-0.142	No	No	No	0.274	2.71	Yes	Yes
AA2	-4.326	1.062	98.365	-0.182	-0.153	No	No	No	0.314	2.746	Yes	No
AA3	-5.634	0.95	95.542	-0.045	-0.177	No	Yes	No	1.189	2.723	No	No
AA4	-5.114	1.015	96.579	-0.076	-0.161	No	Yes	No	0.368	2.754	Yes	No
AA5	-4.867	1.031	96.936	-0.107	-0.158	No	Yes	No	0.349	2.754	Yes	No
AA6	-5.504	0.972	95.886	-0.045	-0.172	No	Yes	No	1.165	2.741	No	No
AA7	-5.329	0.994	96.229	-0.055	-0.167	No	Yes	No	1.142	2.751	No	No
AA8	-4.601	1.042	97.531	-0.143	-0.158	No	No	No	0.331	2.752	Yes	No
AA9	-4.054	1.091	98.746	-0.237	-0.145	No	No	No	0.298	2.731	Yes	Yes

the tissues. Compounds that have a low volume of distribution cause the compound to be more likely accumulate in the intravascular compartment so that the dose required is not high to achieve the target therapeutic concentration [36]. The degree at which a medication binds blood proteins can affect the degree of its efficiency; the more bound the medication is, the less effectively it can diffuse or cross cellular membranes.

Furthermore, blood-brain barrier (BBB) permeability is an important parameter to consider as it is used to help reduce the side effects and toxicity as well as increase the therapeutic effect of the drug in the brain. Molecule must cross the BBB by transcellular passive diffusion and/or due to active transport mechanisms [37]. The logarithmic ratio of brain to plasma drug concentrations is used to calculate the rate of permeability. The value obtained in this parameter indicates that the drug easily passes through the blood brain barrier if $\log BB > 0.3$ is obtained, while $\log BB$ value < -1 indicates that the drug is not well supplied to the brain. Based on the values obtained it is shown that alizarin compounds and acyl alizarin derivatives have a $\log BB$ value < -1 which indicates these compounds cannot be properly distributed to the brain. This means that these compounds do not affect the brain so they are relatively safer to administer because the concentration of compounds distributed to the brain is estimated to be little [25].

Drug metabolism is a chemical modification of drugs into their metabolites, which can be divided into active metabolites, inactive metabolites, and toxic metabolites [38,39]. Active metabolites are biochemically active compounds that have therapeutic effects. Furthermore, inactive metabolites are biochemically inactive compounds that do not have therapeutic effects or are toxic. Meanwhile, toxic metabolites are biochemically active compounds that are similar to active metabolites, but feature distinctive harmful effects [40]. Drug metabolism is very important for the pharmacokinetic process of drugs because drugs are chemical substances that are not produced by the body (xenobiotics) so they must be metabolized to reduce their toxicity and easily excreted [38,39]. The metabolic parameters analyzed were CYP2D6 substrate and CYP3A4 substrate, which have important roles in the process of drug metabolism. Based on the data obtained, it is known that there are no acyl alizarin derivatives compounds that can be metabolized by CYP2D6 substrates. However, compounds from AA3 to AA7 can be metabolized by CYP3A4 substrates.

Drug excretion is the process of removing the drugs from the body, both those that are not fully metabolized, as well as the results of metabolic biotransformation [40,41]. This excretion process mainly occurs via the kidneys, but other organ systems are also involved [42,43]. The excretion parameters observed were renal OCT2 substrate which holds an important role in the drug excretion process in the kidneys, and total clearance which is a combination of hepatic clearance and renal clearance. Renal OCT2 substrate also has the potential to provide adverse interactions with OCT2 inhibitors when administered at the same time, such as cimetidine, trimethoprim, ranitidine, levofloxacin, and propranolol. Meanwhile, total clearance has an important role in determining the dosing rate in order to obtain steady status levels [30].

Based on the data obtained it was found that all tested compounds are not the substrates of OCT2 so it can be predicted that there is no interaction with compounds that act as OCT2 inhibitors. Meanwhile, the total clearance value of acyl derivatives of alizarin is greater than the total clearance value of alizarin, so it can be prognosticated that all of these compounds are more easily excreted than alizarin compounds.

Hepatotoxicity, AMES toxicity, and rat LD_{50} can all be used to quantify toxicity parameters. The common way to estimate acute toxicity and compare the relative toxicity of several compounds is to use the lethal dosage values, or LD_{50} . The amount of chemical administered all at once that results in 50% of the test group animal death is known as the LD_{50} . The model estimates the LD_{50} in mol/kg and was developed using more than 1000 chemicals that were evaluated in rats. Rats were expected to have an alizarin LD_{50} of 2.238 mol/kg, whereas the generated compounds had a range of 2.71 to 2.731 mol/kg. This proves that the alizarin derivative compound is not more hazardous than the alizarin itself. The AMES test is a commonly used technique to evaluate a compound's potential for mutagenicity tested on the array of bacteria. A positive test results in the substances being mutagenic mean they could cause cancer. The table shows that the compounds A, AA1, AA2, AA4, AA5, AA8, and AA9 are the carcinogenic compounds, while the compounds AA3, AA6, and AA7 are not carcinogenic. Drug-induced hepatotoxicity is a significant safety issue in the drug research and a leading reason for the rejection of potential drugs. This model was composed on the base of an analysis of 531 drugs' liver-related side effects seen in human studies. If a substance induced at least one liver-related event that significantly interfered with the liver's normal functioning, it was classified as hepatotoxic. From the table it can be seen that AA1 and AA9 are hepatotoxic, while A, AA2, AA3, AA4, AA5, AA6, AA7, and AA8 are not hepatotoxic. From the toxicity parameter data obtained, it can be concluded that the acyl alizarin derivatives have high toxicity, but there are several derivatives that are not highly toxic, including AA3, AA6, and AA7.

The limitation of this research is that it is still prognosticative the tests are still being run *in silico*. There is hope that the results of this research can serve as supporting data in determining which alizarin derivative compounds are suitable for their synthesis and *in vitro* preclinical testings to determine their cytotoxic activity.

4. Conclusion

Acyl alizarin derivatives have more potent anti-breast cancer activity than alizarin compounds. Apart from that, acyl alizarin derivative compounds also have better pharmacokinetic aspects, and some acyl alizarin derivatives are also less toxic than alizarin. From the results of this study, the best QSAR equation was also obtained: $RS = 2.056\log 2P - 24.790\log P - 1.713\text{Etot} + 48.719$ which concluded that lipophilic and electronic characteristics are involved into the anti-breast cancer effect generated by alizarin derivatives. Additionally, acyl alizarin derivatives, especially alizarin octanoate, are recommended for their synthesis. Later the drug candidate should be tested *in vitro* or *in vivo* to determine its activity and toxicity for the living creatures.

REFERENCES

- Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. et al. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Yabluchanskiy, A., Ma, Y., Iyer, R.P., Hall, M.E., Lindsey, M.L. (2013). Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease. *Physiology*, 28(6), 391–403. <https://doi.org/10.1152/physiol.00029.2013>
- Greenlee, K.J., Corry, D.B., Engler, D.A., Matsunami, R.K., Tessier, P., Cooc, R.G. et al. (2006). Proteomic identification of *in vivo* substrates for matrix metalloproteinases 2 and 9 reveals a mechanism for resolution of inflammation. *The Journal of Immunology*, 177(10), 7312–7321. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.10.7312>
- Khandia, R., Munjal, A. (2020). Interplay between inflammation and cancer. Chapter in a book: *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 119, 199–245. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.09.004>
- Kessenbrock, K., Plaks, V., Werb, Z. (2010). Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 141(1), 52–67. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.015>
- Quintero-Fabián, S., Arreola, R., Becerril-Villanueva, E., Torres-Romero, J.C., Arana-Argáez, V., Lara-Riegos, J. et al. (2019). Role of matrix metalloproteinases in angiogenesis and cancer. *Frontiers in Oncology*, 9, Article 1370. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01370>
- Nelson, A. R., Fingleton, B., Rothenberg, M. L., Matrisian, L. M. (2000). Matrix metalloproteinases: Biologic activity and clinical implications. *Journal of Clinical Oncology*, 18(5), 1135–1149. <https://doi.org/10.1200/jco.2000.18.5.1135>
- Merdad, A., Karim, S., Schulten, H. J., Dallol, A., Buhmeida, A., Al-Thubaity, F. et al. (2014). Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer: MMP-9 as a potential biomarker for cancer invasion and metastasis. *Anticancer Research*, 34(3), 1355–1366.
- Meng, Q., Liang, C., Hua, J., Zhang, B., Liu, J., Zhang, Y. et al. (2020). A miR-146a-5p/TRAF6/NF- κ B p65 axis regulates pancreatic cancer chemoresistance: functional validation and clinical significance. *Theranostics*, 10(9), 3967–3979. <https://doi.org/10.7150/thno.40566>
- Li, K., Zhang, Z., Mei, Y., Yang, Q., Qiao, S., Ni, C. et al. (2021). Metallothionein-1G suppresses pancreatic cancer cell stemness by limiting activin A secretion NF- κ B inhibition. *Theranostics*, 11(7), 3196–2212. <https://doi.org/10.7150/thno.51976>
- Lindenmeyer, F., Legrand, Y., Menashi, S. (1997). Upregulation of MMP-9 expression in MDA-MB231 tumor cells by platelet granular membrane. *FEBS Letters*, 418(1–2), 19–22. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01336-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01336-7)
- Mishra, S. R., Nandhakumar, P., Yadav, K. P., Barik, S., Kumar, A., Saini, M. et al. (2017). *In vitro* analysis of alizarin as novel therapeutic agent for murine breast cancer. *The Pharma Innovation Journal*, 6(10), 345–350.
- Ekowati, J., Diyah, N. W., Nofianti, K. A., Hamid, I. S., Siswandono (2018). Molecular Docking of Ferulic Acid Derivatives on P2Y12 Receptor and their ADMET Prediction. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*, 50(2), 203–219. <https://doi.org/10.5614/j.math.fund.sci.2018.50.2.8>
- Kamath, V., Pai, A. (2017). Application of molecular descriptors in modern computational drug design—an overview. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(9), 3237–3241. <http://doi.org/10.5958/0974-360X.2017.00574.1>
- Habeela, J.N., Maruga, R.M.K.M. (2018). *In silico* molecular docking studies on the chemical constituents of clerodendrum phlomis for its cytotoxic potential against breast cancer markers. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(4), Article 1612–1618. <http://doi.org/10.5958/0974-360X.2018.00300.1>

17. Hardjono, S. (2012). Modification of the structure of 1 – (benzoyloxy) urea and quantitative relationship of its structure-cytotoxic activity. Author's abstract of the thesis. Universitas Airlangga, Indonesia, 2012. (In Indonesian)
18. Hardjono, S., Siswodiwardjo, S., Pramono, P., Darmanto, W. (2016). Quantitative structure-cytotoxic activity relationship 1-(benzoyloxy) urea and its derivative. *Current Drug Discovery Technologies*, 13(2), 101–108. <https://doi.org/10.2174%2F1570163813666160525112327>
19. Pinzi, L., Rastelli, G. (2019). Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), Article 4331. <https://doi.org/10.3390/ijms2018433>
20. Park, K. D., Lee, S. G., Kim, S. U., Kim, S. H., Sun, W. S., Cho, S. J. et al. (2004). Anticancer activity of 3-O-acetyl and alkyl-(–)-epicatechin derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14(20), 5189–5192. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.07.063>
21. Hoque, I., Chatterjee, A., Bhattacharya, S., Biswas, R. (2017). An approach of computer-aided drug design (CADD) tools for *in silico* pharmaceutical drug design and development. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 4(2), 60–71. <http://doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.02.009>
22. Abdel-Ilah, L., Veljović, E., Gurbeta, L., Badnjević, A. (2017). Applications of QSAR study in drug design. *International Journal of Engineering Research and Technology (IJERT)*, Vol. 6(6), 582–587.
23. Verma, J., Khedkar, V. M., Coutinho, E. C. (2010). 3D-QSAR in drug design—a review. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(1), 95–115. <https://doi.org/10.2174/156802610790232260>
24. Pathan, S., Ali, S. M., Shrivastava, M. (2016). Quantitative structure activity relationship and drug design: A review. *International Journal of Research in Biosciences*, 5(4), 1–5.
25. Pires, D. E. V., Blundell, T. L., Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9), 4066–4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>
26. Pagadala, N. S., Syed, K., Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
27. Ramírez, D., Caballero, J. (2018). Is it reliable to take the molecular docking top scoring position as the best solution without considering available structural data? *Molecules*, 23(5), Article 1038. <https://doi.org/10.3390/molecules23051038>
28. Patlewicz, G., Jeliakova, N., Safford, R. J., Worth, A. P., Aleksiev, B. (2008). An evaluation of the implementation of the Cramer classification scheme in the Toxtree software. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 19(5–6), 495–524. <https://doi.org/10.1080/10629360802083871>
29. McMurry, J., E., Fay, R., C. (2012). Chemistry. Boston: Prentice Hall, 2012.
30. Klebe, G. (2013). Protein–Ligand Interactions as the Basis for Drug Action. Chapter in a book: Drug Design. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013. https://doi.org/10.1007/978-3-642-17907-5_4
31. Grogan, S., Preuss, C.V. (2023). Pharmacokinetics. Chapter in a book: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing LLC., 2023.
32. Paul, A. (2019). Drug Absorption and Bioavailability. Chapter in a book: Introduction to Basics of Pharmacology and Toxicology. Springer, Singapore, 2019. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9779-1>
33. Chevillard, F., Lagorce, D., Reynès, C., Villoutreix, B. O., Vayer, P., Miteva, M. A. (2012). *In silico* prediction of aqueous solubility: A multimodel protocol based on chemical similarity. *Molecular Pharmaceutics*, 9(11), 3127–3135. <https://doi.org/10.1021/mp300234q>
34. Gleeson, M. P. (2008). Generation of a set of simple, interpretable ADMET rules of thumb. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(4), 817–834. <https://doi.org/10.1021/jm701122q>
35. Currie, G. M. (2018). Pharmacology, part 2: Introduction to pharmacokinetics. *Journal of Nuclear Medicine Technology*, 46(3), 221–230. <https://doi.org/10.2967/jnmt.117.199638>
36. Smith, D. A., Beaumont, K., Maurer, T. S., Di, L. (2015). Volume of distribution in drug design. Miniperspective. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(15), 5691–5698. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00201>
37. Jeffrey, P., Summerfield, S. (2010). Assessment of the blood–brain barrier in CNS drug discovery. *Neurobiology of Disease*, 37(1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.033>
38. Wilde, M., Pichini, S., Pacifici, R., Tagliabracchi, A., Busardò, F. P., Auwärter, V. et al. (2019). Metabolic Pathways and Potencies of New Fentanyl Analogs. *Frontiers in pharmacology*, 10, Article 238. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00238>
39. Rizzieri, D., Paul, B., Kang, Y. (2019). Metabolic alterations and the potential for targeting metabolic pathways in the treatment of multiple myeloma. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*, 5, 26. <https://doi.org/10.20517/2394-4722.2019.05>
40. Garza, A. Z., Park, S. B., Kocz, R. (2023). Drug Elimination. Chapter in a book: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing LLC., 2023.
41. Herdiansyah, M. A., Ansori, A. N. M., Kharisma V. D., Alifiansyah, M. R. T., Anggraini, D., Priyono, Q. A. P., Yusiarnasari, P. A., Fetty, A. J. T., Zainul, R., Rebezov, M., Kolesnik, E., Maksimiuk, N. (2024). *In silico* study of cladosporol and its acyl derivatives as anti-breast cancer against alpha-estrogen receptor. *Biosaintifika*, 15(1), 1–13.
42. Zainul, R., Kharisma, V. D., Ciuputri, P., Ansori, A. N. M., Herdiansyah, M. A., Sahadewa, S., Durry, F. D. (2024). Antiretroviral activity from elderberry (*Sambucus nigra* L.) flowers against HIV-2 infection via reverse transcriptase inhibition: A viroinformatics study. *Healthcare in Low-resource Settings*, 1(2024), 1–12. <https://doi.org/10.4081/hls.2024.12047>
43. Krihariyani, D., Haryanto, E., Sasongkowati, R. (2021). *in silico* analysis of antiviral activity and pharmacokinetic prediction of brazilian sappan wood (*Caesalpinia sappan* L.) against SARS-CoV-2 spike glycoproteins. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*, 3(1), 26–37. <https://doi.org/10.33086/ijmlst.v3i1.1854>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Mochamad R. T. Alifiansyah , Bachelor of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–573–042–07–56 E-mail: mochamad.radika.tory-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0009-3873-3756	Алифиансия Мохаммад Радика Тори — бакалавр фармакологии, кафедра фармацевтических наук, фармацевтический факультет, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–573–042–07–56 E-mail: mochamad.radika.tory-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0009-3873-3756
Mochammad A. Herdiansyah , Bachelor of Biology, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–880–700–02–22 E-mail: aqilahherdiansyah123@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0009-0006-9383-6203	Хердиансиях Мохаммад Акилах — бакалавр биологии, отделение биологии, факультет науки и технологии, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо E-mail: aqilahherdiansyah123@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0009-0006-9383-6203
Rahma C. Pratiwi , Bachelor of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–121–743–58–26 E-mail: rahma.cintya.pratiwi-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0001-1673-8646	Прайтиви Рахма Синтия — бакалавр фармакологии, кафедра фармацевтических наук, фармацевтический факультет, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +918–126–00–96–20 E-mail: rahma.cintya.pratiwi-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0001-1673-8646
Ragil P. Pramesti , Bachelor of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–533–419–33–18 E-mail: ragil.putri.pramesti-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0002-0018-6565	Прамести Рагил Путри — бакалавр фармакологии, кафедра фармацевтических наук, фармацевтический факультет, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–533–419–33–18 E-mail: ragil.putri.pramesti-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0002-0018-6565
Nisriena W. Hafsyah , Bachelor of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–223–034–06–86 E-mail: nisriena.wijdan.hafsyah-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0007-3955-5336	Хафсиах Нисриена Вийдан — бакалавр фармакологии, кафедра фармацевтических наук, фармацевтический факультет, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–223–034–06–86 E-mail: nisriena.wijdan.hafsyah-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0007-3955-5336

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Athaya P. Rania , Bachelor of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–223–329–02–94 E-mail: athaya.putri.rania-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0005-7772-9769	Рания Атайя Путри — бакалавр фармакологии, кафедра фармацевтических наук, фармацевтический факультет, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–223–329–02–94 E-mail: athaya.putri.rania-2020@ff.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0005-7772-9769
Justitia E. R. P. Putra , Bachelor of Biology, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–122–612–38–60 E-mail: justitia.eka.rizqi-2020@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0000-7537-4734	Путра Джустиция Эка Ризки Пердана — бакалавр биологии, отделение биологии, факультет науки и технологий, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–122–612–38–60 E-mail: justitia.eka.rizqi-2020@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0000-7537-4734
Putri A. Cahyono , Bachelor of Biology, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–180–373–91–28 E-mail: putri.aminanda.cahyono-2022@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0008-3575-1126	Кахионо Путри Аминанда — бакалавр биологии, отделение биологии, факультет науки и технологий, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–180–373–91–28 E-mail: putri.aminanda.cahyono-2022@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0008-3575-1126
Litazkiyyah , Bachelor of Biology, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–579–946–30–57 E-mail: litazkiyyah-2021@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0002-7872-1687	Литакия , бакалавр биологии, отделение биологии, факультет науки и технологий, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–579–946–30–57 E-mail: litazkiyyah-2021@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0002-7872-1687
Sirojuddin K. Muhammad , Bachelor of Biomedical Engineering, Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–151–578–86–71 E-mail: sirojudin-2020@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0005-3031-4099	Мухаммад Сироджуддин Холил — бакалавр биомедицинской инженерии, кафедра физики, факультет науки и технологий, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–151–578–86–71 E-mail: sirojudin-2020@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0009-0005-3031-4099
Ahmad A. A. Murtadlo , Bachelor of Biology, Master Student, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–581–653–43–15 E-mail: ahmad.affan.ali-2023@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0000-0002-7942-875X	Ахмад Аффан Али Муртадло — бакалавр биомедицинской инженерии, магистрант кафедры биологии факультета науки и технологий, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–581–653–43–15 E-mail: ahmad.affan.ali-2023@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0000-0002-7942-875X
Viol D. Kharisma , Master of Science, PhD Student, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–121–78–70–02 E-mail: viol.dhea.kharisma-2022@fst.unair.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9060-0429	Харишма Виол Дхеа — магистр наук, аспирант, кафедра биологии, факультет науки и техники, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, ул. Мулиорехо Тел.: +628–121–78–70–02 E-mail: viol.dhea.kharisma-2022@fst.unair.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9060-0429
Arif N. M. Ansori , Ph.D. in Veterinary Science, Researcher, Postgraduate School, Universitas Airlangga Jl. Airlangga 4–6, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +628–214–464–78–32 E-mail: ansori.anm@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1279-3904 * corresponding author	Анзори Ариф Нур Мухаммад — PhD, Доктор ветеринарных наук, научный сотрудник аспирантуры, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, Джл. Айрлангга 4–6 Тел.: +628–214–464–78–32 E-mail: ansori.anm@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1279-3904 * автор для контактов
Vikash Jakhmola , Professor, Professor, Uttaranchal Institute of Pharmaceutical Sciences, Uttaranchal University Chakrata Rd, Prem Nagar, Dehradun, Uttarakhand, 248007, India Tel.: +918–126–00–96–20 E-mail: jakhmola.1979@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8108-006X	Яхмола Викаш — профессор, Уттаранчальский институт фармацевтических наук, Уттаранчальский университет 248007, Индия, Уттаракханд, Дехрадун, ул. Чакрата Тел.: +918–126–00–96–20 E-mail: jakhmola.1979@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8108-006X
Praveen K. Ashok , PhD in Pharmaceutical Sciences, Lecturer, Gyani Inder Singh Institute of Professional Studies Sinola, Dehradun, Uttarakhand, 248003, India Tel.: +91–941–169–90–52 E-mail: pkashok157@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7150-3981	Ашок Правин Кумар — доктор фармацевтических наук, преподаватель, Институт профессиональных исследований Гьяни Индер Сингха 248003, Индия, Уттаракханд, Синола, Дехрадун, Тел.: +91–941–169–90–52 E-mail: pkashok157@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7150-3981
Jyoti Maithani Kalra , PhD in Pharmaceutical Sciences, Lecturer, School of Pharmaceutical Sciences, Shri Guru Ram Rai University Dehradun, Uttarakhand, 248001, India Tel.: +91–989–752–65–68 E-mail: jyotimk123@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4960-6551	Калра Джьоти Майтани — доктор фармацевтических наук, преподаватель Школы фармацевтических наук Университета Шри Гуру Рам Рай 248001, Индия, Дехрадун, Уттаракханд Тел.: +91–989–752–65–68 E-mail: jyotimk123@gmail.com ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4960-6551
Hery Purnobasuki , PhD in Biology, Professor, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +08–170–385–08–79 E-mail: hery-p@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0562-2058 * corresponding author	Пурнобасуки Хери — доктор биологических наук, профессор кафедры биологии факультета науки и технологий Университета Эйрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, Джл. Айрлангга 4–6 Тел.: +08–170–385–08–79 E-mail: hery-p@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0000-0002-0562-2058 * автор для контактов

AUTHOR INFORMATION		СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	
Affiliation		Принадлежность к организации	
Intan A. Pratiwi , Master in Biology, Lecturer, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga Jl. Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, East Java, 60115, Indonesia Tel.: +08–573–250–18–61 E-mail: intan.ayu.pratiwi@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0362-5113		Пратиwi Интан Аю — магистр биологии, преподаватель, профессор кафедры биологии факультета науки и технологий Университета Эйрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, Джл. Айрлангга 4–6 Тел.: +08–57–325–018–61 E-mail: intan.ayu.pratiwi@fst.unair.ac.id ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0362-5113	
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.	