

Volume 7, Issue 4, 2024

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
FOOD SYSTEMS

FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (On line)

<http://www.fsjour.com>

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

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации

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

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
www.fsjour.com

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

РЕДАКЦИЯ

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

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

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

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0

Цена свободная.
Периодичность — 4 номера в год.
Подписано в печать 27.12.2024.
Дата выхода в свет 28.12.2024.
Тираж 300 экз. Заказ № 572.

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 технологий и управления», Улан-Удэ, Россия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



© ФНЦПС, 2024
© Авторы, 2024

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. Gorbатов Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences
(Gorbатов Research Center for Food Systems)**

FOOD SYSTEMS
www.fsjour.com

**Founder, Publisher and Printing Office:
Federal State Budgetary Scientific Institution
“V.M. Gorbатов 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. Gorbатов 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 27.12.2024.
Released from press 28.12.2024.
Circulation — 300 copies. Order № 572.



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. Gorbатов 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. Gorbатов 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. Gorbатов 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. Gorbатов 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. Gorbатов 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. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Vidnoe, Moscow region, Russia

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

СОДЕРЖАНИЕ

Червяк С. Н., Бойко В. А., Олейникова В. А., Романов А. В. ФЕНОЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ВИНОГРАДА СОРТА БАСТАРДО МАГАРАЧСКИЙ И ФАКТОРЫ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ ЕГО ФОРМИРОВАНИЕ.	508
Gabdulla F. Kurbanov, Artem O. Prichepa, Natalia Yu. Sharova XANTHAN GUM: SECONDARY RAW MATERIALS FOR BIOSYNTHESIS, ISOLATION AND APPLICATION	515
Рождественская Л. Н., Романенко С. П., Ломовский И. О., Лачугин А. П. ОБЗОР ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ОБЛАСТИ АНАЛИЗА ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ.	523
Соболев Р. В., Соколов И. Е., Петров Н. А., Саркисян В. А., Кочеткова А. А. МЕТОДЫ ЭКСТРАКЦИИ, РАЗДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ЦИКЛИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ ИЗ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО (<i>LINUM USITATISSIMUM</i> L.): ОБЗОР.	535
Никитина М. А., Чернуха И. М., Артамонова М. П., Кусай А. Т. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СОСТАВА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЬЮТЕРНОЙ СИМУЛЯЦИИ	543
Серба Е. М., Соколова Е. Н., Римарева Л. В., Ионов В. В., Игнатова Н. И., Оверченко М. Б. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТЕХНОЛОГИИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЗЕРНО-ФРУКТОВОГО СУСЛА ИЗ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ И ЖМЫХА ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ	551
Лепилкина О. В., Григорьева А. И. ПРОТЕОМНЫЕ МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БЕЛКОВ МОЛОКА	560
Горбачев В. В., Никитин И. А., Тихонов С. Л., Балашова М. С., Тефикова С. Н., Зиборов Д. М., Велина Д. А., Клейн Е. Э. ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХЕЛАТНЫХ ФОРМ ZN ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ВИДОВ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ	568
Дыдыкин А. С., Зубарев Ю. Н., Логунова Е. И., Самойлова А. М., Калугина З. И. ВЛИЯНИЕ СРОКА ХРАНЕНИЯ НА КОЛИЧЕСТВО ЙОДА В ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТАХ	575
Kuril Sanjeet, Sunita Mishra BEHIND BARS: EVALUATING THE NUTRITIONAL LANDSCAPE — A REVIEW OF DIETARY PATTERNS PROVIDED IN CORRECTIONAL FACILITIES	585
Свириденко Г. М., Захарова М. Б., Топникова Е. В. ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ, СВЯЗАННЫХ СО СПОРОВОЙ МИКРОФЛОРОЙ, НА КАЧЕСТВО И ХРАНИМОСПОСОБНОСТЬ СЛИВОЧНОГО МАСЛА РАЗНЫХ СПОСОБОВ ПРОИЗВОДСТВА	590
Неверова О. П., Зинина О. В., Ли Ч., Лян Ч., Ребезов М. Б., Вишнякова Е. А., Барыкина Е. С. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНКАПСУЛЯЦИИ БИФИДОБАКТЕРИЙ ПРИ ОБОГАЩЕНИИ ПРОБИОТИКАМИ СОКОСОДЕРЖАЩИХ НАПИТКОВ	598
Nesren Elsayed, Hany Elkashef, Shaimaa R. Ali LASER IRRADIATION AND POMEGRANATE PEEL FOR PRESERVATION OF THE STRAWBERRY QUALITY.	605
Abdalla S. M. Ammar, Khaled K. Hegab FLAT BREADS QUALITIES AND ATTRIBUTES — OVENS DESIGN, ENERGY CONSUMPTION, AND ENVIRONMENTAL CONSERVATION: A REVIEW	612
Ayman S. Dyab, Khaled M. Atieya, Mustafa A. L. Abdel Salam IMPROVEMENT AND QUALITY EVALUATION OF RUTAB DATE PASTE FORTIFIED WITH WHEAT GERM.	620
Ayuda N. Agustina, Arif N. M. Ansori, Ratna Puspita, Mila Citrawati, Sri Wahyuningsih, Syahrul Tuba, Mochammad A. Herdiansyah, Melly Kristanti THE POTENTIAL OF RICE BRAN (<i>ORYZA SATIVA</i>) NUTRITIONAL COMPONENTS AS A FUNCTIONAL FOOD FOR HEALTHY CONSUMPTION: A REVIEW.	627

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-508-514>

Поступила 16.05.2024

Поступила после рецензирования 14.10.2024

Принята в печать 18.10.2024

© Червяк С. Н., Бойко В. А., Олейникова В. А., Романов А. В., 2024

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

Научная статья

Open access

ФЕНОЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ВИНОГРАДА СОРТА БАСТАРДО МАГАРАЧСКИЙ И ФАКТОРЫ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ ЕГО ФОРМИРОВАНИЕ

Червяк С. Н.*, Бойко В. А., Олейникова В. А., Романов А. В.

Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства
и виноделия «Магарач» РАН, Ялта, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

индекс холодных
ночей, винограда
-винодельческой
район, углеводно-
кислотный комплекс,
антоциановый
потенциал

В контексте изменения климата особое значение имеет изучение трансформации углеводно-кислотного и фенольного комплексов винограда по мере достижения технической и фенольной зрелости, несоответствие между которыми усиливается на фоне изменения климата. Исследования в данном направлении являются актуальными и позволят в дальнейшем прогнозировать реакцию виноградного растения на абиотические факторы среды, на формирование качественных показателей сырья и готовой продукции. Проведенные исследования позволили выявить влияние различных факторов на формирование фенольного комплекса винограда красных сортов. Показано, что общий антоциановый потенциал исследуемых образцов винограда варьирует от 735 до 1976 мг/дм³ и характеризуется как средний → отличный. Установлена зависимость процента экстрагируемых антоцианов от массовой концентрации сахаров в винограде, выраженная параболической функцией. При массовой концентрации сахаров винограда 19–23 г/100 см³ была достигнута максимальная экстрагируемость антоцианов, составившая 53–65%. Подтверждено положительное влияние индекса холодных ночей на общий антоциановый потенциал винограда ($r = -0,58$). В то же время наблюдается прямая зависимость ($r = 0,75$) между степенью экстрагирования антоцианов из винограда и индексом холодных ночей. Установлено снижение содержания фенольных веществ в сусле после прессования целых ягод по мере возрастания величины глюкоацидиметрического показателя ($r = -0,70$), а также уменьшение массовой концентрации фенольных веществ после 4 часов настаивания ($r = -0,59$). От 82,7 до 96,3% всех фенольных веществ винограда были представлены флаван-3-олами и антоцианами. Из антоцианов в винограде преобладали мальвидин-3-О-глюкозид и мальвидин-3-О-кумароилглюкозид. Массовая концентрация мальвидин-3-О-глюкозида составляла от 580 до 1224 мг/кг или 47,4–81,3% от всех антоцианов винограда. На долю мальвидин-3-О-кумароилглюкозида приходилось 9,3–23,8% от компонентов антоцианового комплекса.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнялась в рамках НИР по теме «Разработка методологии интеллектуального автоматизированного мониторинга для решения задач в области виноделия и виноградарства» ГЗ № FNZM-2022-0010.

Received 16.05.2024

Accepted in revised 14.10.2024

Accepted for publication 18.10.2024

© Cherviak S. N., Boyko V. A., Oleinova V. A., Romanov A. V., 2024

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

Original scientific article

Open access

PHENOLIC COMPLEX OF BASTARDO MAGARACHSKY GRAPE CULTIVAR AND FACTORS DETERMINING ITS FORMATION

Sofia N. Cherviak*, Vladimir A. Boyko, Veronika A. Oleinikova, Aleksandr V. Romanov

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking "Magarach" of RAS, Yalta, Russia

KEY WORDS:
cold night index,
viticulture and
winemaking region,
carbohydrate-acid
complex, anthocyanin
potential

ABSTRACT

In the context of climate change, it is of utmost importance to study the transformation of carbohydrate-acid and phenolic complexes of grapes as they reach technical and phenolic ripeness, the discrepancy between which is increasing against the background of climate change. Studies in this direction are relevant, and in future they will open the way to predict the response of a grape plant to abiotic environmental factors, the formation of quality indicators of raw materials and finished products. The studies conducted allowed revealing the effect of various factors on the formation of phenolic complex of red grapes. It was shown that the total anthocyanin potential in the studied grape samples varied from 735 to 1976 mg/dm³ and was characterized as average → excellent. The dependence of the percentage of extracted anthocyanins on the mass concentration of sugars in grapes, expressed by a cuspidal function, was established. The maximum degree of anthocyanin extractability was observed at grape sugar content of 19–23 g/100 cm³, and amounted to 53–65%. The positive effect of the cold night index on the total anthocyanin potential of grapes was confirmed ($r = -0,58$). At the same time, a direct dependence ($r = 0,75$) was observed between the degree of anthocyanin extraction from grapes and the cold night index. The authors established a decrease in the content of phenolic substances in must after pressing whole berries as the value of the glucoacidimetric indicator increased ($r = -0,70$), as well as a decrease in the mass concentration of phenolic substances after 4 hours of infusion ($r = -0,59$). From 82.7 to 96.3% of all phenolic substances in grapes were represented by flavan-3-ols and anthocyanins. The predominant anthocyanins in grapes were malvidin-3-O-glucoside and malvidin-3-O-coumaroylglucoside. The mass concentration of malvidin-3-O-glucoside ranged from 580 to 1224 mg/kg or 47.4–81.3% of all grape anthocyanins. The proportion of malvidin-3-O-coumaroylglucoside amounted to 9.3–23.8% of anthocyanin complex components.

FUNDING: The article was prepared as part of research on the topic "Development of a methodology for intelligent automated monitoring for solving problems in the field of winemaking and viticulture" state assignment No. FNZM-2022-0010.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Червяк, С. Ф., Бойко В. А., Олейникова, В. А., Романов, А. В. (2024). Фенольный комплекс винограда сорта Бастардо магарачский и факторы, обуславливающие его формирование. *Пищевые системы*, 7(4), 508–514. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-508-514>

FOR CITATION: Cherviak, S. N., Boyko, V. A., Oleinova, V. A., Romanov, A. V. (2024). Phenolic complex of Bastardo Magarachsky grape cultivar and factors determining its formation. *Food Systems*, 7(4), 508–514. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-508-514>

1. Введение

При производстве красных вин основной технологической задачей является обеспечение благоприятных условий для максимального экстрагирования из ягоды винограда компонентов фенольного комплекса, которые формируют ароматический, цветовой и вкусовой профиль вина, а также последующее их сохранение на отдельных стадиях формирования и созревания вина [1,2]. Эффективность перехода ароматических и красящих веществ из мезги зависит от множества факторов, среди которых: степень зрелости винограда, способы физического воздействия на ягоды, уровень механического или ферментативного разрушения клеток, количественное содержание этих соединений, температура и др. [3,4]. Экстрагируемые фенольные вещества в винограде содержатся преимущественно в семенах (60–70%), кожце (28–35%), а также в меньшей степени в мякоти (около 10% и менее) [5,6].

Выявление связи между качеством вина и его фенольным составом — одна из ключевых задач современных энологических исследований. Например, антоциановые отпечатки сортовых вин предлагаются в качестве аналитического инструмента для сертификации подлинности [7]. Характер некоторых классов флавоноидов находится под строгим генетическим контролем, и их распределение значительно варьирует в зависимости от сорта винограда [8,9].

На биосинтез фенольных веществ в ягоде большое влияние оказывают агротехнические приемы возделывания, такие как схема посадки, длина обрезки, нормирование урожая, дефолиация, орошение [9,10]. Отмечено положительное влияние некорневых подкормок растений винограда азотсодержащими удобрениями на качество урожая и на сроки достижения фенольной зрелости [11,12].

Качество винограда и будущего вина, определяется терруаром, который включает в себя почвенно-климатические факторы, особенности местности, а также винодельческие традиции [13,14]. Органолептический профиль вина во многом обусловлен климатическими условиями года, сортом винограда и степенью его зрелости на момент сбора урожая [15,16].

Artem V. и др. [17] исследовали значимость и влияние терруара произрастания на фенольный состав красных сортов винограда. С помощью метода Glories был проведен анализ главных компонентов фенольного состава, по которым, благодаря статистической обработке, образцы показали четкую дифференциацию по терруарам произрастания.

Изменение климата усиливает несоответствие между достижением технической и фенольной зрелости винограда. В связи с этим первостепенное значение приобретает изучение трансформации углеводно-кислотного и фенольного комплексов в процессе созревания ягод [18]. Понимание того, как климатические изменения влияют на рост, развитие и состав винограда, имеет решающее значение для управления виноградниками и для обеспечения производства вина стабильного качества.

Группа ученых во главе с Massimo Iorizzo [19] изучали зависимость фенотипических характеристик винограда сортов Альянко и Каберне Совиньон от климатических условий различных терруаров. Их исследование показало ключевую роль факторов терруара в формировании мономерных антоцианов, а также генетической пластичности сортов винограда для адаптации к различным изменениям окружающей среды.

Del-Castillo-Alonso M. A. и др. [20] были изучены образцы винограда сорта Пино Нуар от южной Испании до центральной Германии с целью оценки влияния различных факторов окружающей среды на состав фенольного комплекса в кожце ягод винограда. Исследование показало положительную корреляцию между количеством солнечной радиации и флавонолами, особенно за 5–10 дней до начала созревания и уборки урожая. Такие факторы, как температура воздуха, количество осадков и индекс засушливости, показали меньшую корреляцию с содержанием метаболитов в сравнении с солнечной радиацией [20].

В Турции изучали влияние терруара и климатических условий года на качественный состав вин из винограда сорта Мускат Борнова. Было определено, что вина, изготовленные из винограда с терруара Мендерес, содержали большее количество фенольных соединений, чем вина из региона Кемалие. В регионе Кемалие в фазу развития ягод выпадение осадков привело к снижению концентрации фенольных соединений и транс-каутаровой кислоты, а также к повышению содержания процианидина В4 [21].

Исследования в данном направлении являются актуальными и позволяют в дальнейшем прогнозировать реакцию виноградного растения на абиотические факторы среды, а также на формирование качественных показателей сырья и готовой продукции.

Цель настоящей работы — изучение формирования и трансформации углеводно-кислотного и фенольного комплексов винограда сорта Бастардо магарачский на разных стадиях созревания.

2. Объекты и методы

Объектом исследования являлся виноград сорта Бастардо магарачский, возделываемый в Восточном степном, Горно-долинном, Горно-долинно-приморском виноградо-винодельческих районах Крыма, а также в г. Севастополь. Исследования проводили в сезон виноделия 2023 г. Промышленный сбор винограда осуществляли в период с 12.09 по 10.10.2023 г. Начало сбора в различных виноградо-винодельческих районах различалось в 1–3 дня. Общая выборка составила 65 образцов винограда.

Для оценки климатического влияния на формирование антоцианового комплекса винограда был выбран индекс холодных ночей [22].

В период промышленного сбора с анализируемых участков отбирали среднюю пробу винограда в количестве не менее 10 кг. В подготовленной пробе сула определяли массовую концентрацию сахаров ареометрическим методом с помощью ареометра DIN12791/L50 pression (Schneider, Германия), водородный показатель (pH) и массовую концентрацию титруемых кислот — иономером универсальным И-160 (ТД «Автоматика», Беларусь) [23]. Также выявляли содержание фенольных веществ и мономерных антоцианов колориметрическим методом на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena, Германия) [23,24]. Все измерения выполняли в трех повторностях. Степень зрелости винограда оценивали с помощью глюкоацидиметрического показателя (ГАП), показателя технической зрелости (ПТЗ), а также показателя фенольной зрелости [25,26] по формулам:

$$ПТЗ = pH^2 \cdot \text{массовая концентрация сахаров, г/100 мл} \quad (1)$$

$$ГАП = \frac{\text{массовая концентрация сахаров, г/100 см}^3}{\text{массовая концентрация титруемых кислот, г/л}} \quad (2)$$

Оценку фенольной зрелости винограда проводили по методике Glories, основанной на определении содержания антоцианов ($A_{pH1,0}$), потенциальных извлекаемых антоцианов ($A_{pH3,2}$), процента экстрагируемых антоцианов (А), доли танинов семян (Мр) и общего содержания фенолов (A_{280}) [25,27]. Измерение значений оптической плотности исследуемых образцов выполняли на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena, Германия) в кювете с толщиной оптического слоя 1 мм.

Способность винограда отдавать компоненты фенольного комплекса и их трансформацию в процессе переработки оценивали по следующим показателям:

- массовая концентрация фенольных веществ сула, полученного прессованием целых ягод ($ФВ_{исх}$, принимают за исходное содержание компонента в сусле), мг/дм³;
- технологический запас фенольных веществ, критерий потенциального содержания компонента в ягоде (ТЗ ФВ, массовая концентрация фенольных веществ в сусле после предварительного нагревания мезги до 70 ± 2 °С и при настаивании при этой температуре в течение 30 мин), мг/дм³;
- окисляющая способность сула ($ФВ_{ок}$): соотношение содержания фенольных веществ после окисления в течение 1 часа ($ФВ_{1ч}$) к исходному содержанию ($ФВ_{исх}$), %;
- мацерирующая способность сула — способность винограда к отдаче фенольных веществ при настаивании мезги в течение 4 часов при 20–25 °С ($ФВ_{мац}$), соотношение массовой концентрации фенольных веществ в сусле после настаивания мезги ($ФВ_{4ч}$) к исходному содержанию ($ФВ_{исх}$), %;
- способность к экстракции — возможность винограда к отдаче фенольных веществ из твердых частей ягоды в сусле ($ФВ_{мац}/ТЗ$ ФВ), соотношение массовой концентрации фенольных веществ в сусле после настаивания мезги в течение 4 часов при 20–25 °С к технологическому запасу фенольных веществ, %.

Гомогенизацию ягод проводили после удаления семян в планетарной микромельнице PULVERISETTE7 premium line (Fritsch, Германия) в размольных стаканах с агатовой поверхностью и агатовыми шарами. Отбирали 1 г. гомогенизированной пробы в стеклянную вилу с добавлением 3 мл 1% спиртового раствора HCL [27,28]. Анализ фенольного комплекса проводили на ВЭЖХ системе Shimadzu LC20 Prominence с колонкой Macherey-Nagel EC250/2 NUCLEOSIL 100-5 C18 AB на диодно-матричном детекторе SPD-M20A (SHIMADZU, Япония). Объем пробы 2 мкл, детектирование при 280 нм, 310 нм, 330 нм, 525 нм с частотой сканирования 3 Гц. Элюирование проводили в градиентном режиме возрастания доли раствора В (смесь AcCN: MeOH: HClO₄ в соотношении 40:40:20, pH 2,5) в смеси с раствором А (водный раствор HClO₄ pH 1,8) в течение 80 мин.

Все аналитические измерения проводили в трех повторностях, расхождение между параллельными определениями не превышало ошибки методов.

Определение физико-химических показателей винограда проводили в свежеполученном сусле после прессования вручную целых ягод. Для этого отбирали среднюю пробу ягод (100 г), предварительно отделенных от гребней, измельчали и после прессования отделяли жидкую фракцию через арганзу. При определении качественного состава и количественного содержания компонентов углеводно-кислотного комплекса и содержания фенольных веществ использовали пробу сула после предварительного центрифугирования на центрифуге Eppendorf 5702 (Eppendorf, Германия) (скорость вращения ротора центрифуги 7000 об/мин., продолжительность — 10 минут).

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью общепринятых методов математической статистики с применением программного пакета IBM SPSS Statistics (v 17.0), Microsoft Excel. Все исследования выполнены в трех повторностях. Вычисление парных корреляций между показателями осуществляли для уровня значимости 0,05.

3. Результаты и обсуждение

Первый этап исследования предусматривал оценку углеводно-кислотного и фенольного комплексов винограда сорта Бастардо магарачский, произрастающего в разных виноградо-винодельческих районах Крыма (Таблицы 1–3).

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что исследуемые образцы винограда существенно отличались по количественному составу углеводно-кислотного комплекса, что обусловлено, в первую очередь, географическим расположением виноградных насаждений и различным уровнем теплообеспеченности виноградо-винодельческого района [29]. Виноград из Севастопольской зоны отличался минимальным содержанием сахаров (менее 17 г/100 см³). Он не достиг стадии технической зрелости к началу промышленного сбора и не соответствовал требованиям нормативной документации для технических сортов винограда, направляемых на промышленную переработку. Максимальное накопление сахаров отмечено в винограде из Горно-долинно-приморского района, и этот показатель достигал 27,1 г/100 см³. При этом минимальным содержанием титруемых кислот отличался виноград из Горно-долинного района, значения не превышали 4,8 г/дм³.

Величина показателя технической зрелости и глюкоацидиметрического показателя варьируют в диапазоне значений 2,0–4,8 и 152–393 соответственно. Отдельные партии исследуемого винограда превышали рекомендуемые значения сырья, используемого для производства красных сухих вин: ПТЗ = 155–270, ГАП = 2,5–3,9 [30].

Согласно литературным данным, общий антоциановый потенциал оценивается как отличный при значении $A_{pH1,0}$ более 1200 мг/дм³, очень хороший — 1000–1200 мг/дм³, хороший — 800–1000 мг/дм³, средний — 600–800 мг/дм³, недостаточный — менее 600 мг/дм³ [17]. Оценка фенольной зрелости винограда показала значительное варьирование антоцианового потенциала в ягоде в зависимости от региона возделывания (Таблица 2). Так, по мере увеличения $A_{pH1,0}$ ис-

следуемые виноградо-винодельческие районы можно расположить в следующей последовательности: Горно-долинный → Горно-долинно-приморский → Восточный степной → Севастополь. Количественное выражение антоцианового потенциала варьирует от среднего до отличного. Несмотря на максимальный запас антоцианов в винограде из Севастополя, ягоды отличались минимальным процентом экстрагируемых антоцианов, что обусловлено недостаточной зрелостью винограда. Кроме того, даже после достижения технической зрелости виноград из этого района характеризовался низкой степенью экстракции компонентов антоцианового комплекса в процессе настаивания мезги, что может свидетельствовать о необходимости проведения дополнительных агромероприятий на стадии вегетации с целью повышения фенольной зрелости винограда, а также применения технологических приемов для интенсификации экстракционных процессов при производстве винопродукции. Для других виноградо-винодельческих районов процент экстрагируемых антоцианов находился в диапазоне 46,5–65,0%.

Важным показателем фенольной зрелости винограда также является доля танинов семян, так как высокое содержание танинов, экстрагируемых из семян ягоды, увеличивает риск негативного влияния на вкус виноматериала. Значение показателя составляло от 10,7 до 28,0% в зависимости от района произрастания и от степени зрелости винограда. Зависимости между долей танинов семян и сахаристостью винограда не установлено.

По мере созревания виноградной ягоды проницаемость клеточных стенок кожицы ягод постепенно увеличивается, таким образом повышается экстрагируемость антоцианов и других компонентов кожицы винограда.

Установлена зависимость процента экстрагируемых антоцианов от массовой концентрации сахаров в винограде, выраженная параболической функцией (Рисунок 1). При массовой концентрации сахаров в винограде 15,6–27,1 г/100 см³ значения показателя A варьировали в диапазоне 41,2–65,0%. Максимальная степень экстрагируемости антоцианов отмечена при сахаристости винограда 19–23 г/100 см³ и составила 53–65%. Полученные результаты подтверждают мнение о том, что между формированием углеводно-кислотного и фенольного комплексов не существует прямой зависимости.

В то же время, на основании приведенных данных, можно сделать вывод о том, что для винограда сорта Бастардо магарачский достижение фенольной и технической зрелости может варьировать в диапазоне массовой концентрации сахаров 19–23 г/100 см³. Полученные результаты согласуются с ранее представленными данными Маркосова В. А. и сотр. для винограда сорта Пино Нуар [31]. Процент экстрагируемых антоцианов при этом не превышает 65%.

Индукция биосинтеза антоцианового пигмента в растении также вызвана факторами окружающей среды и адаптацией к тем или иным стрессовым условиям [6]. Оценка влияния климатических факторов на формирование антоцианового комплекса винограда осуществляли с помощью индекса холодных ночей — показателя, представляющего собой среднее многолетнее значение минимальных температур воздуха в сентябре (в северном полушарии) или

Таблица 1. Показатели углеводно-кислотного комплекса винограда Бастардо магарачский

Table 1. Indicators of the carbohydrate-acid complex of grape 'Bastardo Magarachsky'

Виноградо-винодельческий район Крыма	n	Массовая концентрация		*рН	*ГАП	ПТЗ
		сахаров, г/100 см ³	титруемых кислот, г/дм ³			
Восточный степной (п. Первомайское)	19	19,4–21,5	7,3–7,5	3,3	2,7–2,9	205–231
Горно-долинно-приморский (п. Морское)	21	17,8–27,1	5,1–6,6	3,5–3,9	3,2–4,3	228–393
Горно-долинный (п. Приветное)	13	19,6–22,8	4,2–4,8	3,5–3,6	4,5–4,8	249–280
Севастополь	12	15,6–21,0	5,8–8,7	3,1–3,5	2,0–3,6	152–262

Примечание: данные в столбцах существенно различаются ($p < 0,05$), кроме столбцов со значком «*», где ($p > 0,05$), n — количество исследуемых образцов.

Таблица 2. Показатели фенольной зрелости винограда Бастардо магарачский

Table 2. Indicators of phenolic ripeness of grape 'Bastardo Magarachsky'

Виноградо-винодельческий район Крыма	$A_{pH1,0}$, мг/дм ³	$A_{pH3,2}$, мг/дм ³	A, %	*Мр, %	A_{280} , %	Оценка общего антоцианового потенциала
Восточный степной (п. Первомайское)	1379–1976	864–1106	56–64,1	16,4–28,0	47,9–69,1	очень хороший → отличный
Горно-долинно-приморский (п. Морское)	887–1724	480–856	46,5–65,0	11,6–22,0	35,6–54,2	хороший → отличный
Горно-долинный (п. Приветное)	735–751	401–658	53,4–65,0	10,7–18,1	32,7–48,6	средний
Севастополь	1083–2037	527–840	41,2–48,6	14,4–20,3	43,3–50,1	очень хороший → отличный

Примечание: данные в столбцах существенно различаются ($p < 0,05$), кроме столбцов со значком «*», где ($p > 0,05$).

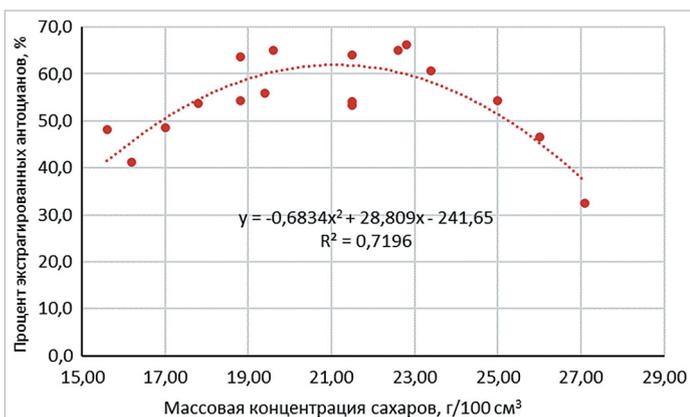


Рисунок 1. Влияние сахаристости винограда на экстрагируемость антоцианов из ягоды винограда Бастардо магарачский

Figure 1. Effect of the sugar content of grape on anthocyanin extractability from the Bastardo Magarachsky grape berry

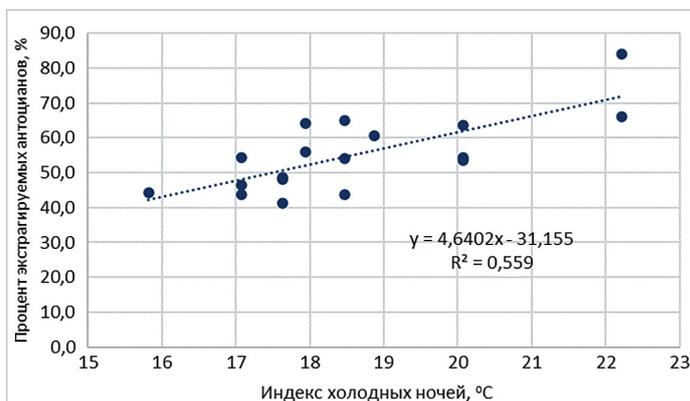


Рисунок 2. Влияние индекса холодных ночей на экстрагируемость антоцианов из ягоды винограда Бастардо магарачский

Figure 2. Effect of the cold night index on anthocyanin extractability from the Bastardo Magarachsky grape berry

в марте (в южном полушарии) [22]. Согласно литературным данным, при постоянной дневной температуре (+25 °С) интенсивность окраски винограда будет зависеть от более низких температур ночи [32,33]. Анализ полученных данных позволил подтвердить положительное влияние индекса холодных ночей на общий антоциановый потенциал винограда. Закономерность описывается обратной линейной зависимостью ($r = -0,58$). В то же время взаимосвязь между степенью экстрагирования антоцианов из винограда от индекса холодных ночей (Рисунок 2) выражается прямой зависимостью с высоким коэффициентом корреляции ($r = 0,75$).

Оценку фенольного комплекса винограда осуществляли с помощью показателей, учитывающих способность винограда к отдаче фенольных компонентов в сусло при прессовании целыми ягодами и при настаивании мезги. Окислительно-восстановительные свойства сусла анализировали по изменению концентрации фенольных веществ при длительном контакте с кислородом воздуха (Таблица 3). Анализ данных показал, что содержание фенольных веществ в сусле после прессования целых ягод варьирует в диапазоне 619–1080 мг/дм³. Значение показателя ФВ_{исх} коррелирует с потенциальным количеством экстрагируемых из ягоды винограда антоцианов ($r = 0,75$). Согласно полученным данным, виноград из Горно-долинного виноградо-винодельческого района характеризовался минимальным технологическим запасом фенольных веществ, что обусловило незначительный их переход в сусло после индуцированного окисления и настаивания мезги в течение 1 и 4 часов соответственно. Кроме того, для винограда данного региона отмечено минимальное содержание мономерных антоцианов в сусле после прессования целых ягод.

Оценка мацерирующей способности винограда показала, что для образцов из Восточного степного виноградо-винодельческого района значение показателя не превышает 95%, что свидетельствует о преобладании окислительных процессов над экстракционными. Для винограда из других районов величина ФВ_{мац} в 86% случаях составила более 100% и максимально достигала 159% по сравнению с исходным содержанием фенольных веществ в сусле после прессования целых ягод. Способность винограда к экстракции фенольных веществ в процессе настаивания мезги от технологического запаса (ФВ_{мац}/ТЗ ФВ) составила от 47 до 86%.

Согласно литературным данным, в начале созревания ягоды винограда содержат максимальное количество фенольных соединений, которое уменьшается по мере созревания плодов [13,18,34]. Широкий диапазон варьирования величины глюкоацидиметриче-

ского показателя (от 2,0 (рекомендуемое значение для производства игристых вин) до 4,8 (характерный для винограда позднего сбора)) позволил оценить влияние степени зрелости винограда на содержание фенольных веществ в сусле (Рисунок 3) [29]. Анализ полученных данных показал снижение содержания фенольных веществ в сусле после прессования целых ягод по мере возрастания величины глюкоацидиметрического показателя ($r = -0,70$). Аналогичная тенденция отмечается и для массовой концентрации фенольных веществ после 4 ч настаивания ($r = -0,59$). Полученные результаты свидетельствуют о возможности глубокого катаболизма фенольных соединений растением с образованием продуктов первичного обмена вплоть до углекислоты. Продукты такого катаболического расщепления вовлекаются в первичный метаболизм и могут использоваться как исходные компоненты для различных биосинтезов [35].

Общепризнано, что фенольные соединения играют важную роль в формировании качества вина, поэтому значительное количество исследований направлено на изучение факторов, обуславливающих влияние на формирование фенольного комплекса винограда в процессе созревания, а также режимов и параметров в процессе переработки сырья с целью максимального их экстрагирования. Согласно литературным данным, фенольные вещества винограда можно

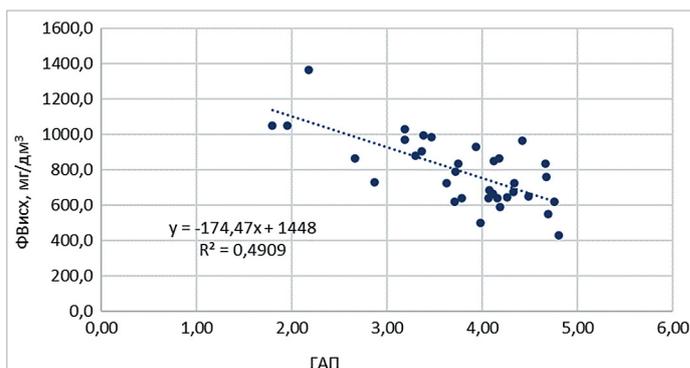


Рисунок 3. Влияние показателя ГАП на содержание фенольных веществ в сусле винограда Бастардо магарачский

Figure 3. Effect of the glucoacidimetric indicator on the content of phenolic substances in must of Bastardo Magarachsky grape

Таблица 3. Показатели фенольного комплекса винограда Бастардо магарачский
Table 3. Indicators of the phenolic complex of Bastardo Magarachsky grape

Виноградо-винодельческий район Крыма	Массовая концентрация, мг/дм ³				
	ФВ _{исх}	ФВ _{1ч}	ФВ _{4ч}	ФВ ТЗ	мономерных антоцианов
Восточный степной (п. Первомайское)	1052–1080	949–1132	*972–984	1452–1555	45,5–60,0
Горно-долинно-приморский (п. Морское)	619–1032	462–814	526–1069	629–1814	25,7–129,3
Горно-долинный (п. Приветное)	500–664	*518–562	470–1216	998–1745	9,7–31,5
Севастополь	780–932	797–1273	1020–1173	1361–1754	13,2–35,2

Примечание: данные в столбцах существенно различаются ($p < 0,05$), кроме ячеек со значком «*», где ($p > 0,05$).

разделить на семейства флавоноидов (антоцианы, флаван-3-олы, флавонолы, флаваноны, флавоноолы, флавоны и халконы) и нефлавоноидов (гидроксibenзойная и гидроксикоричная кислоты и стильбены). Нефлавоноиды локализованы в семечке, кожиче и мякоти ягоды и ответственны за синтез ключевых соединений, участвующих в росте и развитии ягод, а также являются нейтраллизаторами свободных радикалов. Флавоноиды, характеризующиеся высокой антиоксидантной способностью и ответственные за формирование органолептического профиля вин, экстрагируются из кожичи и семечки ягоды. Антоцианы ответственны за красный, синий и фиолетовый пигмент в тканях растений, а также оказывают существенное влияние на сенсорные свойства. Локализованы антоцианы преимущественно в кожиче виноградной ягоды [6,33].

Методом ВЭЖХ был определен профиль фенольного комплекса винограда, возделываемого в разных виноградо-винодельческих районах (Таблица 4), а также в динамике созревания (Рисунок 4).

Анализ представленных данных свидетельствует о том, что основными фенольными веществами винограда являются флаван-3-олы и антоцианы, которые составляют от 82,7 до 96,3% всех фенольных веществ винограда. Основными представителями флаван-3-олов в ягоде являются эпикатехин и д-катехин, массовая концентрация которых варьировала в диапазоне значений 777–1910 и 45–195 мг/кг соответственно. На долю флаван-3-олов приходится в среднем 36–42% всех компонентов фенольного комплекса.

Из антоцианов в винограде преобладают мальвидин-3-О-гликозид и мальвидин-3-О-кумароилгликозид. Массовая концентрация мальвидин-3-О-гликозида составляла от 580 до 1224 мг/кг или 47,4–81,3% всех антоцианов винограда. На долю мальвидин-3-О-кумароилгликозида приходится 9,3–23,8% компонентов антоцианового комплекса.

Процианидины В-типа являются биологически активными веществами, обладающими антиоксидантными, антигиперлипидными, противовоспалительными, противодиабетическими, противовирусными и противоопухолевыми свойствами [36,37]. Процианидины типа В, в частности димеры, такие как В1, В2, В3 и В4, основном находятся в кожиче винограда (0,01–0,86 г/кг с. в.) и в меньшей степени в семенах (0,04–0,18 г/кг с. в.) [38]. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что основная доля процианидинов в исследуемых образцах винограда приходится на процианидин В4, содержание которого варьировало в диапазоне значений от 42,7 до 470,7 мг/дм³ (или 50–58%). При этом максимальным содержанием данного компонента характеризовались образцы винограда, возделываемого в Горно-долинном виноградо-винодельческом районе и г. Севастополь. Аналогичная тенденция отмечена и в отношении содержания других компонентов процианидинового комплекса.

Таблица 4. Профиль фенольного комплекса винограда, мг/кг

Table 4. Profile of the phenolic complex of grape, mg/kg

Фенольные вещества	Винодельческий район Крыма	Восточный степной (п. Первомайское)	Горно-долинно-приморский (п. Морское)	Горно-долинный (п. Приветное)	Севастополь
Антоцианы	дельфинидин-3-О-гликозид	52,6–133	46,3–119,7	275,9–346,0	47,8–84,5
	цианидин-3-О-гликозид	19,4–24,1	6,7–21,7	68,3–98,0	7,0–12,3
	петунидин-3-О-гликозид	66,1–157,8	58,6–142,0	77,5–108,1	81,6–101,8
	пеонидин-3-О-гликозид	114,8–160,6	119,6–144,5	551–615	114,8–135,2
	мальвидин-3-О-гликозид*	580–921	608–1224	1041–1141	1047–1103
	дельфинидин-3-О-ацетилгликозид*	0	0–2,9	2,2–3,6	2,6–3,1
	цианидин-3-О-ацетилгликозид*	0,8–1,0	0,9–5,3	1,0–1,2	4,6–5,2
	петунидин-3-О-ацетилгликозид	4,9–8,0	3,9–11,3	0,3–0,4	11,3–12,1
	пеонидин-3-О-ацетилгликозид*	1,3–3,9	0,9–4,1	0	1,0–1,7
	мальвидин-3-О-ацетилгликозид	14,1–44,8	40,3–169,1	10,0–17,6	155,8–162,3
Гидроксibenзойная и гидроксикоричная кислоты	галловая кислота	32,9–50,6	30,1–45,5	61,4–105,2	61,4–70,2
	Кафтаровая кислота*	4,1–7,5	6,4–12,5	5,6–7,5	5,6–6,2
Процианидины	В1	8,7–43,2	13,0–38,9	101,4–149,4	104,0–117,2
	В2	10,3–101,0	9,2–20,6	100,1–131,1	100,1–112,4
	В3	21,5–51,4	17,7–20,6	52,3–67,7	54,3–57,1
	В4	42,7–193,5	71,5–174,1	341,0–470,7	349,0–397,1
Флаван-3-олы	эпикатехин	777–1099	785–1600	1719–1910	1619–1789
	д-катехин	73,7–169,7	44,9–118,1	139,4–195,2	126,4–146,3

Примечание: данные в строках существенно различаются ($p < 0,05$), кроме строк со значком «*», где ($p > 0,05$).

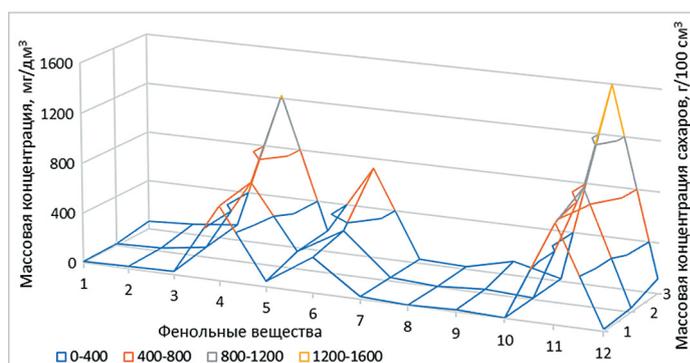


Рисунок 4. Изменение профиля фенольных веществ винограда в процессе созревания

Figure 4. Change in the profile of the phenolic substances of grape during ripening

Примечание: 1 — дельфинидин-3-О-ацетилгликозид, 2 — петунидин-3-О-гликозид, 3 — пеонидин-3-О-гликозид, 4 — мальвидин-3-О-гликозид, 5 — мальвидин-3-О-ацетилгликозид, 6 — мальвидин-3-О-кумароилгликозид, 7 — галловая кислота, 8 — процианидин В3, 9 — процианидин 4, 10 — процианидин В2, 11 — эпикатехин, 12 — д-катехин; массовая концентрация сахаров: 1–17,8 г/100 см³, 2–19,5 г/100 см³, 3–21,5 г/100 см³.

Содержание дельфинидин-3-О-ацетилгликозида, цианидин-3-О-ацетилгликозида, петунидин-3-О-ацетилгликозида, пеонидин-3-О-ацетилгликозида и кафтаровой кислоты находилось в следовых количествах и не превышало 13 мг/кг.

Исследование изменения профиля фенольного комплекса винограда в процессе созревания показало увеличение массовой концентрации основных классов фенольных веществ, присутствующих в ягоде. Основными компонентами фенольного комплекса, претерпевающими количественные изменения, являются: мальвидин-3-О-гликозид, мальвидин-3-О-кумароилгликозид и эпикатехин, содержание которых увеличилось в 2,1, 2,6 и 2 раза соответственно. Массовая концентрация дельфинидин-3-О-гликозида увеличилась в 6 раз, петунидин-3-О-гликозида — в 4,6 раза, петунидин-3-О-кумароилгликозида — в 8,2 раза, при этом содержание компонентов не превышало 100 мг/кг.

В то же время, согласно литературным данным, количество флаван-3-олов и проантоцианидинов в процессе созревания винограда может снижаться: их больше во время цветения и меньше по мере созревания винограда [39], что может быть обусловлено как сортовыми особенностями винограда, так и агроклиматическими условиями его произрастания.

4. Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить влияние различных факторов на формирование фенольного комплекса винограда красных сортов. Показано, что общий антоциановый потенциал исследуемых образцов винограда варьирует от 735 до 1976 мг/дм³ и характеризуется как средний → отличный. Установлена зависимость процента экстрагируемых антоцианов от массовой концентрации сахаров в винограде Бастардо магарачский, выраженная параболической функцией. Максимальная степень

экстрагируемости антоцианов отмечена при сахаристости винограда 19–23 г/100 см³ — этот показатель составил 53–65%. Подтверждено положительное влияние индекса холодных ночей на общий антоциановый потенциал винограда ($r = -0,58$). Взаимосвязь между степенью экстрагирования антоцианов и индексом холодных ночей выражается прямой зависимостью ($r = 0,75$). По мере увеличения глюкоацидиметрического показателя происходит снижение содержания фенольных веществ в сусле после прессования целых ягод ($r = -0,70$) и после 4 часов настаивания мезги ($r = -0,59$).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Li, L., Sun, B. (2019). Grape and wine polymeric polyphenols: Their importance in enology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(4), 563–579. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1381071>
- Merkýté, V., Longo, E., Windisch, G., Boselli, E. (2020). Phenolic compounds as markers of wine quality and authenticity. *Foods*, 9(12), Article 1785. <http://doi.org/10.3390/foods9121785>
- Van Leeuwen, C., Barbe, J.-C., Darriet, P., Destrac-Irvine, A., Gowdy, M., Lytra, G. et al. (2022). Aromatic maturity is a cornerstone of terroir expression in red wine. *OENO One*, 56(2), 335–351. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2022.56.2.5441>
- Апарнева, М. А. (2018). Научное обоснование и разработка технологии винных напитков типа кагор, получаемых из районированных в Алтайском крае сортов винограда. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук. Бийск, 2018. [Апарнева, М. А. (2018). Scientific substantiation and development of the technology of wine beverages of the Cahor type produced from recognized varieties of grape in Altai Krai. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Technical Sciences. Bysk, 2018. (In Russian)]
- Di Stefano, R., Flamini, R. (2008). High performance liquid chromatography analysis of grape and wine polyphenols. Chapter in a book: *Hyphenated Techniques in Grape and Wine Chemistry*. John Wiley and Sons, Ltd, 2008. <https://doi.org/10.1002/9780470754320.ch2>
- Hornedo-Ortega, R., Reyes González-Centeno, M., Chira, K., Jourdes, M., Teissedre, P.-L. (2021). Phenolic compounds of grapes and wines: Key compounds and implications in sensory perception. *IntechOpen*, 2021. <http://doi.org/10.5772/intechopen.93127>
- Picariello, G., Ferranti, P., Chianese, L., Addeo, F. (2012). Differentiation of *Vitis vinifera* L. and hybrid red grapes by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry analysis of berry skin anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 4559–4566. <https://doi.org/10.1021/jf300456k>
- Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S., Teissedre, P.L. (2009). Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (cabernet sauvignon and merlot) for two consecutive vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 545–553. <https://doi.org/10.1021/jf802301g>
- Revilla, E., García-Beneytez, E., Cabello, F., Martín-Ortega, G., Ryan, J.-M. (2001). Value of high-performance liquid chromatographic analysis of anthocyanins in the differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. *Journal of Chromatography*, 915(1–2), 53–60. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00635-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00635-5)
- Anić, M., Osrečak, M., Andabaka, Ž., Tomaz, I., Večenaj, Ž., Jelić, D. et al. (2021). The effect of leaf removal on canopy microclimate, vine performance and grape phenolic composition of Merlot (*Vitis vinifera* L.) grapes in the continental part of Croatia. *Scientia Horticulturae*, 285(1), Article 110161. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110161>
- Pérez-Álvarez, E. P., Intrigliolo, D. S., Almajano, M. P., Rubio-Bretón, P., Gardes-Cerdán, T. (2021). Effects of water deficit irrigation on phenolic composition and antioxidant activity of monastrell grapes under semiarid conditions. *Antioxidants*, 10(8), Article 1501. <https://doi.org/10.3390/antiox10081501>
- Sáenz de Urturi, I., Ribeiro-Gomes, F. M., Marín-San Román, S., Murillo-Peña, R., Torres-Díaz, L., González-Lázaro, M. et al. (2023). Vine foliar treatments at veraison and post-veraison with methyl jasmonate enhanced aromatic, phenolic and nitrogen composition of tempranillo blanco grapes. *Foods*, 12, Article 1142. <https://doi.org/10.3390/foods12061142>
- Червяк, С. Н., Бойко, В. А., Левченко, С. В. (2019). Влияние некорневой подкормки растений на фенольную зрелость винограда и качественные характеристики виноделия. *Садоводство и виноградарство*, 4, 30–36. [Chervyak, S. N., Boyko, V. A., Levchenko, S. V. (2019). The effect of foliar treatment on phenolic maturity of grapes and qualitative characteristics of wines materials. *Horticulture and Viticulture*, 4, 30–36. (In Russian)] <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2019-4-30-36>
- Pinasseau, L., Vallverdú-Queralt, A., Verbaere, A., Roques, M., Meudec, E., Le Cunff, L. et al. (2017). Cultivar Diversity of grape skin polyphenol composition and changes in response to drought investigated by LC–MS based metabolomics. *Frontiers in Plant Science*, 8, Article 01826. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01826>
- Fang, F., Li, J.-M., Zhang, P., Tang, K., Wang, W., Pan, Q.-H. et al. (2008). Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. *Foodservice Research International*, 41(1), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.09.004>
- Candar, S., Alço, T., Uysal, T., Uysal, G., Ahmet, T., Eryilmaz, I. et al. (2023). Oenological properties and terroir characteristics of an autochthonous grape cultivar: Ada Karası (*Vitis vinifera* L.). *European Food Research and Technology*, 249(10), 2595–2610. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04317-7>
- Artem, V., Antoce, A. O., Ranca, A., Nechita, A., Enache, L., Postolache, E. (2016). The influence of terroir on phenolic composition of red grapes. *Bulletin of Uni-*
- versity of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. *Horticulture*, 73(2), Article 109. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:12173>
- Fredes, C., Mora, M., Carrasco-Benavides, M. (2017). An analysis of seed colour during ripening of cabernet sauvignon grapes. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 38(1), 38–45.
- Iorizzo, M., Sicilia, A., Nicolosi, E., Forino, M., Picariello, L., Lo Piero, A.R. et al. (2023). Investigating the impact of pedoclimatic conditions on the oenological performance of two red cultivars grown throughout southern Italy. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1250208. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1250208>
- Del-Castillo-Alonso, M. A., Castagna, A., Csepregi, K., Hideg, É., Jakab, G., Jansen, M. A. et al. (2016). Environmental factors correlated with the metabolite profile of *Vitis vinifera* cv. Pinot Noir berry skins along a European latitudinal gradient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(46), 8722–8734. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03272>
- Yabaci Karaođlan, S., Cabarođlu, T. (2020). A comparison of the volatile and phenolic compositions of Muscat of Bornova wines from two different terroirs in the Aegean region of Turkey. *Food Science and Technology*, 40(4), 844–853. <https://doi.org/10.1590/fst.21819>
- Рыбалко, Е. А. (2020). Климатические индексы в виноградарстве. *Магарач. Виноградарство и виноделие*, 22(1), 26–28. [Rybalco, E. A. (2020). Climatic indices in viticulture. *Magarach. Viticulture and Winemaking*, 22(1), 26–28. (In Russian)] <https://doi.org/10.35547/IM.2020.22.1.005>
- Гержилова, В. Г., Аникина, Н. С., Гнилomedова, Н. В., Червяк, С. Н., Весютова, А. В., Ермихина, М. В. и др. (2023). Технохимический контроль в современном виноделии. Методические рекомендации. Симферополь: Полипринт, 2023. [Gerzhikova, V. G., Anikina, N. S., Gnilomedova, N. V., Chervyak, S. N., Vesjutova, A. V., Ermikhina, M. V. et al. (2023). Technochemical control in modern winemaking. Methodical recommendations. Simferopol: Poliprint, 2023.]
- Аникина, Н. С., Погорелов Д. Ю., Михеева, Л. А. (2017). Определение мономерных антоцианов в виноградных виноделиялах и винах. *Магарач. Виноградарство и виноделие*, 1, 40–43 [Anikina, N. S., Pogorelov, D. Yu., Mikheeva, L. A. (2017). Determination monomeric anthocyanins in grape wine materials and wines. *Magarach. Viticulture and Winemaking*, 1, 40–43. (In Russian)]
- Rajha, H. N., Darra, N. E., Kantar, S. E., Hobaika, Z., Louka, N., Maroun, R. G. (2017). A comparative study of the phenolic and technological maturities of red grapes grown in Lebanon antioxidants. *Antioxidants*, 6(1), Article 8. <https://doi.org/10.3390/antiox6010008>
- Aha R. (2006). Phenolic ripeness in south Africa. Assignment submitted in partial requirement for Cape Wine. Masters Diploma. Stellenbosch, 2006.
- Nel, A. P. (2018). Tannins and anthocyanins: From their origin to wine analysis — A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 39(1), 1–20. <https://doi.org/10.21548/39-1-1503>
- Boyko, V., Levchenko, S., Belash, D., Romanov, A., Cherviakov, S. (2022). Changes in phenolic complex of table grapes of 'Italia' cultivar during long-term storage. *BIO Web of Conferences*, 47, Article 07003. <https://doi.org/10.1051/bio-conf/20224707003>
- Rybalco, E. A., Cherviakov, S. N., Ermikhina, M. V. (2023). Evaluation of viticulture and winemaking regions of crimea in accordance with climatic factors, and their influence on the quality characteristics of grapes. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 15(5), 246–263. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2023-15-5-936>
- Ганич, В. А., Наумова, Л. Г., Матвеева, Н. В. (2022). Изучение автохтонного донского сорта винограда Красностоп золотовский в условиях Нижнего Придонья. *Плодоводство и виноградарство юга России*, 74(2), 50–61. [Ganich, V., Naumova, L., Matveeva, N. (2022). Study of the autochthonous don grape variety krasnostop zolotovskiy in the conditions of the lower don. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*, 74(2), 50–61. (In Russian)] <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2022-2-74-50-61>
- Марковос, В. А., Агеева, Н. М., Зайцев, Г. П., Турганев, В. В. (2023). Исследование фенольных веществ в винограде сорта Пино-нуар и приготавливаемых из него винах. *Магарач. Виноградарство и виноделие*, 1(123), 71–77. [Markosov, V. A., Ageeva, N. M., Zaitsev, G. P., Turgenev, V. V. (2023). Study of phenolic substances in 'Pinot noir' grapes and wines made with it. *Magarach. Viticulture and Winemaking*, 1(123), 71–77. (In Russian)] <https://doi.org/10.34919/IM.2023.25.1.010>
- Artem, V., Antoce, A. O., Geana, E. I., Ranca, A. (2023). Effect of foliar treatment with chitosan on phenolic composition of 'Fetească neagră' grapes and wines. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 51(1), Article 12920. <https://doi.org/10.15835/nbha51112920>
- Rouxinol, M. I., Martins, M. R., Barroso, J. M., Rato, A. E. (2023). Wine grapes ripening: A review on climate effect and analytical approach to increase wine quality. *Applied Biosciences*, 2(5), 347–372. <https://doi.org/10.3390/applbiosci2030023>

34. Herderich, M. J., Smith, P. A. (2005). Analysis of grape and wine tannins: Methods, applications and challenges. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 205–214. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00288.x>
35. Черноусова, И. В., Мосолкова, В. Е., Зайцев, Г. П., Гришин, Ю. В., Жилкова, Т. А., Огай, Ю. А. (2022). Полифенолы виноградной грозди, качественный и количественный состав, технологический запас. *Химия растительного сырья*, 3, 291–300. [Chernousova, I. V., Mosolkova, V. E., Zaitsev, G. P., Grishin, Yu. V., Zhilyakova, T. A., Ogay, Yu. A. (2022). Grape bunch polyphenols, qualitative and quantitative composition, technological stock. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 3, 291–300 (In Russian)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2022039811>
36. Ma, J.-N., Feng, X., Shan, C.-B., Ma, Y., Lu, Z.-Y., Zhang, D.-J. et al. (2022). Quantification and purification of procyanidin B1 from food byproducts. *Journal of Food Science*, 87(11), 4905–4916. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16358>
37. Li, B., Fu, R. R., Tan, H., Zhang, Y., Teng, W., Li, Z. Y. et al. (2021). Characteristics of the interaction mechanisms of procyanidin B1 and procyanidin B2 with protein tyrosine phosphatase-1B: Analysis by kinetics, spectroscopy methods and molecular docking. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 259, Article 119910. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119910>
38. Montealegre, R. R., Peces, R. R., Vozmediano, J. L. C., Gascueña, J. M., Romero, E. G. (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 687–693. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.05.003>
39. Downey, M. O., Harvey, J. S., Robinson, S. P. (2003). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(1), 15–27. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2003.tb00228.x>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Червяк София Николаевна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория цифровых технологий в виноделии и виноградарстве, Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» 298600, Ялта, ул. Кирова, 31 Тел: +7-978-263-43-70 E-mail: Sofi4@list.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9551-7448 * автор для контактов</p>	<p>Sofia N. Cherviakov, Candidate of Technical Sciences, Senior Staff Research, Department of Digital Technologies in Winemaking and Viticulture, All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” 31, Kirov str., 298600, Yalta, Russia Tel: +7-978-263-43-70 E-mail: Sofi4@list.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9551-7448 * corresponding author</p>
<p>Бойко Владимир Александрович — кандидат сельскохозяйственных наук, Заведующий лабораторией хранения винограда, Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» 298600, Ялта, ул. Кирова, 31 Тел: +7-978-101-93-67 E-mail: vovhim@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2401-7531</p>	<p>Vladimir A. Boyko, Candidate of agricultural sciences, Head of the Department of Grape Storage All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” 31, Kirov str., 298600, Yalta, Russia Tel: +7-978-101-93-67 E-mail: vovhim@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2401-7531</p>
<p>Олейникова Вероника Анатольевна — младший научный сотрудник, лаборатория цифровых технологий в виноделии и виноградарстве, Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» 298600, Ялта, ул. Кирова, 31 Тел: +7-978-988-14-74 E-mail: nika063094@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0252-8904</p>	<p>Veronica A. Oleinikova, Junior Staff Scientist, Department of Digital Technologies in Winemaking and Viticulture, All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” 31, Kirov str., 298600, Yalta, Russia Tel: +7-978-988-14-74 E-mail: nika063094@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0252-8904</p>
<p>Романов Александр Вадимович — младший научный сотрудник, лаборатория цифровых технологий в виноделии и виноградарстве, Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» 298600, Ялта, ул. Кирова, 31 Тел: +7-978-939-47-69 E-mail: cod7-4orever@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9999-2657</p>	<p>Aleksandr V. Romanov, Junior Staff Scientist of the Department of Digital Technologies in Winemaking and Viticulture, All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” 31, Kirov str., 298600, Yalta, Russia Tel: +7-978-939-47-69 E-mail: cod7-4orever@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9999-2657</p>
<p>Критерии авторства</p> <p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Contribution</p> <p>The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.</p>
<p>Конфликт интересов</p> <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>Conflict of interest</p> <p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-515-522>



Received 11.06.2024
 Accepted in revised 17.10.2024
 Accepted for publication 21.10.2024
 © Kurbanov G. F., Prichepa A. O., Sharova N. Yu., 2024

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

XANTHAN GUM: SECONDARY RAW MATERIALS FOR BIOSYNTHESIS, ISOLATION AND APPLICATION

Gabdulla F. Kurbanov, Artem O. Prichepa, Natalia Yu. Sharova

All-Russia Research Institute for Food Additives, Saint Petersburg, Russia

KEY WORDS:
Xanthomonas campestris, xanthan gum, biosynthesis, fermentation, secondary raw materials, waste products, biopolymer

ABSTRACT

The inevitable consequence of population growth is the development of agriculture and food production, which in turn has an impact on the volumes of secondary raw materials production. The processing of these materials can present significant challenges. One of the most effective solutions to this problem is the use of microbiological synthesis to create products with high added value. A notable example is xanthan gum, a biopolymer that has been utilized in a multitude of industries, including food, oil, pharmaceutical, and medicine. The value of xanthan gum is contingent upon its distinctive physicochemical properties, particularly its capacity to enhance the viscosity of solutions. The process of obtaining xanthan gum is conducted through the fermentation of liquid high-carbon media. The primary producer is the bacterium *Xanthomonas campestris*, a phytopathogen of cruciferous plants, which converts carbohydrates into a biopolymer of commercial value. This literature review examines several topics related to xanthan gum and its synthesis by *X. campestris*, with particular attention paid to the success of obtaining the target product using food production waste and secondary agricultural raw materials.

FUNDING: The research was carried out on the topic FGUS-2022-0003 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

Поступила 11.06.2024
 Поступила после рецензирования 17.10.2024
 Принята в печать 21.10.2024
 © Курбанов Г. Ф., Причепка А. О., Шарова Н. Ю., 2024

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

КСАНТАНОВАЯ КАМЕДЬ: ВТОРИЧНОЕ СЫРЬЕ ДЛЯ БИОСИНТЕЗА, ВЫДЕЛЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Курбанов Г. Ф., Причепка А. О., Шарова Н. Ю.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ
Xanthomonas campestris, ксантановая камедь, биосинтез, ферментация, отходы, биополимер

Неизбежным следствием роста населения является развитие сельского хозяйства и производства продуктов питания, что в свою очередь влияет на объемы производства вторичного сырья. Переработка этих материалов может представлять значительные трудности. Одним из наиболее эффективных решений этой проблемы является использование микробиологического синтеза для создания продуктов с высокой добавленной стоимостью. Ярким примером является ксантановая камедь — биополимер, который используется во многих отраслях промышленности, включая пищевую, нефтяную, фармацевтическую, и в медицине. Ценность ксантановой камеди обусловлена ее отличительными физико-химическими свойствами, в частности, ее способностью повышать вязкость растворов. Процесс получения ксантановой камеди осуществляется путем ферментации жидких сред с высоким содержанием углерода. Первичным продуцентом является бактерия *Xanthomonas campestris* — фитопатоген крестоцветных растений, который преобразует углеводы в биополимер, имеющий коммерческую ценность. В обзоре литературы рассматривается ряд тем, связанных с ксантановой камедью и ее синтезом *X. campestris*, при этом особое внимание уделяется успехам получения целевого продукта с использованием отходов пищевого производства и вторичного сельскохозяйственного сырья.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию FGUS-2022-0003 ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

1. Introduction

Modern agriculture is confronted with a number of significant challenges, one of which is the issue of secondary raw materials. These materials are generated as a consequence of the processing of crops and livestock. The food industry also produces materials with complex chemical compositions. The utilization of recycled materials in agriculture and the food industry is therefore not only an essential aspect of the “green circular economy”, but also ensures competitiveness in the market [1]. The bioeconomy encompasses a number of interrelated aspects. One such aspect is the development of new technologies for the production of useful chemical compounds [2]. Biotechnology is the development of industrial processes based on the microbiological synthesis of molecules that can be adapted by humans to their needs. Through the vital activity of microorganisms, cheap raw materials rich in carbohydrates, proteins and lipids are transformed into new commercially important products [3]. As Manfred Kircher

notes, microorganisms are an integral component of production systems that utilize renewable resources [4]. Indeed, the introduction of biotechnological processes into the production system is leading us towards the green economy of the 21st century. This practice has already been successfully applied to the recycling of animal and plant products [5,6]. Important biopolymers can be obtained from agro-industrial waste [7].

2. Objects and methods

A literature analysis was conducted using scientific literature search engines, namely PubMed and ScienceDirect. The literature search was carried out using the following keywords: xanthan gum, xanthan gum application, xanthan gum structure, *Xanthomonas campestris*, and xanthan gum biosynthesis.

The work analyzed 63 scientific sources in English. Criteria for inclusion and exclusion were as follows.

FOR CITATION: Kurbanov, G. F., Prichepa, A. O., Sharova, N. Yu. (2024). Xanthan gum: Secondary raw materials for biosynthesis, isolation and application. *Food Systems*, 7(4), 515–522. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-515-522>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Курбанов, Г. Ф., Причепка, А. О., Шарова, Н. Ю. (2024). Ксантановая камедь: вторичное сырье для биосинтеза, выделение и применение. *Пищевые системы*, 7(4), 515–522. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-515-522>

Inclusion criteria:

- Published scientific articles.
- Publication period 1980–2024.
- Publications from the Scopus\WOS databases.

Exclusion criteria:

- Publications before 1980.
- Publications not included in the Scopus\WOS databases.
- The topic of the article is related to methods for obtaining xanthan gum using secondary raw materials as the main source of carbon for further use in the food industry.

3. *Xanthomonas campestris*

The genus *Xanthomonas* was first described as a pathogen of tomatoes in South Africa in 1921 under the name *Bacterium vesicatorium*. Dawson grouped the bacteria described by various scientists under the name *Xanthomonas*, derived from the Greek words 'xanthos' meaning 'yellow' and 'monas' meaning 'essence', probably because of the yellowish color of the bacterial colonies as they grow. It is hypothesized that xanthan is produced as a response mechanism to stressful environmental conditions. The bacteria of the genus *Xanthomonas*, which synthesize xanthan, belong to the family *Pseudomonas*. They are gram-negative aerobic rods and include species such as *X. campestris*, *X. fragariae*, *X. albilineans*, *X. axonopodis*, *X. citri*, *X. populi*, *X. maltophilia*, *X. phaseoli*. The most commonly used plant for xanthan production is *X. campestris* NRRL B-1459. *Xanthomonas campestris* is an aerobic, gram-negative, mesophilic bacterium with an optimum growth temperature of 25–30 °C and is inactive at temperatures below 10 °C [8]. The bacterium has a filamentous structure called hypersensitive response and pathogenicity (HRP) pili attached to a type III protein secretion system, which provides the ability to transfer bacterial proteins into the plant, as well as motility in water [9].

The complete genome sequencing of *Xanthomonas campestris* reveals the presence of various metabolic pathways, including glycolysis/gluconeogenesis, the tricarboxylic acid (TCA) cycle, the pentose phosphate pathway, and others. The organism obtains its energy source through oxidative phosphorylation, carbon fixation, and the metabolism of methane, nitrogen, and sulfur.

X. campestris obtains carbon from the host and converts it to glucose through gluconeogenesis. Further studies have demonstrated that *Xanthomonas campestris* contains only the malic enzyme-PpsA pathway in gluconeogenesis, which is essential for virulence. Additionally, this plant pathogen contains a type III secretion system (T3SS), which is crucial for host infection. The T3SS is pivotal in pathogenesis as it facilitates the transport of effector proteins to suppress host defenses. The formation of a biofilm on plant surfaces by *X. campestris* exemplifies intercellular communication via the diffusible signal factor (DSF).

X. campestris can survive in soil for over a year and can be dispersed through any water movement, including rain, irrigation and surface water. The application of copper fungicides to healthy plants can reduce the spread of the bacteria in the field. However, once a plant is infected, *X. campestris* will eventually spread to the seed stem and suppress the growth of healthy progeny [10].

The identification of *X. campestris* strains based on host or disease symptoms is challenging due to the phenotypic variability observed in these bacteria. One of the characteristics of *Xanthomonas* bacteria is their ability to infect plants, with the capacity to infect more than 250 plant species, including major crops such as cabbage, tomatoes, beans, cotton and rice. Infection of cabbage with vascular bacteriosis can result in the death of up to 100% of the plants, while infection of wheat with bacteriosis can reduce yield by 44–90%. In cotton, yield losses range from 15% to 45%, which can also have a significant impact on the agricultural industry [11].

The genus *Xanthomonas* comprises bacteria that cause a variety of plant diseases, including spotting, tumors, rot and wilt. They also cause yellowing of bean leaves, spotting of cotton and leaf drop in carrots. Several studies have demonstrated that fermentation, acid treatment and heat therapy are effective in reducing bacterial contamination of seeds. The use of highly active producer strains obtained through applied genetics and breeding has played an important role in improving xanthan production.

4. Xanthan gum. Structure and properties

Xanthan is a biological polymer with a branched structure. The molecular weight ranges from $1 \cdot 10^6$ to $20 \cdot 10^6$ m/g [12]. The main chain consists of D-glucose residues linked by a $\beta(1 \rightarrow 4)$ bond. Such a disaccharide is also called cellobiose. The side chain consists of a trisaccharide linked by an $\alpha(1 \rightarrow 3)$ bond. The trisaccharide is made up of mannose and glucuronic acid. Attached to the backbone is D-mannose, which may contain

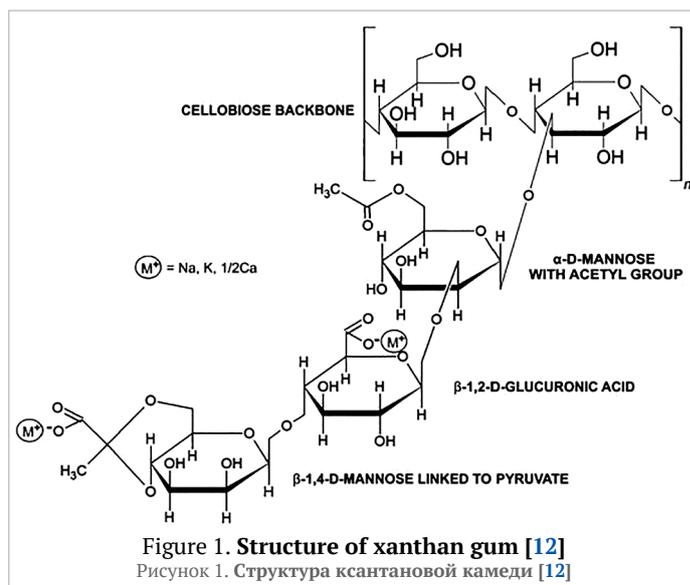


Figure 1. Structure of xanthan gum [12]
Рисунок 1. Структура ксантановой камеди [12]

an acetyl group at position 6. Mannose is followed by glucuronic acid, to which it is linked by a $\beta(1 \rightarrow 2)$ bond. The trisaccharide is completed by a mannose residue in a $\beta(1 \rightarrow 4)$ bond with glucuronic acid. Of particular importance for conformation is the pyruvate residue which terminates the side chain. The presence of acetyl residues promotes the association of side chain polymer molecules through hydrogen bonding. The presence of a pyruvate residue promotes the opposite effect through electrostatic repulsion [13]. Furthermore, the presence of acetyl and pyruvic acid residues is not required in every monomer. The content of pyruvic acid residues can be heterogeneous along the entire length of the polymer, with an increased content in local areas [14].

There are several conformations in which xanthan gum occurs: linear and helical. At room temperature the gum is a rigid and ordered chain. As the temperature increases, the chain begins to dissociate from the double helix into single molecules. When the temperature is raised to 60 °C, the single helix assumes the state of a single coil [15]. Xanthan can change its degree of ordering depending on the salt content of the solution [16].

The structure of xanthan gum is shown in Figure 1 [12].

5. Raw materials, components of the environment for xanthan biosynthesis and factors influencing the process

The biosynthesis of xanthan depends on many factors, including the strain of microorganism, as each strain consumes a different amount of substrate, affecting the structure of the gum, the bonds and the incorporation of polysaccharide functional groups. For instance, the studies [17,18] utilized date extracts exhibiting slight discrepancies in the fermentation process, in addition to differences in the preparation of the raw materials and the strains employed. The composition of the media assumes significance, yet it is also imperative to contemplate the degree of processing of the raw materials and the bioavailability. Media based on natural and recycled raw materials deplete their components at a more accelerated rate than their synthetic counterparts.

Furthermore, it is important to consider the method of isolating xanthan gum and the centrifugation speeds employed, as well as the duration of the centrifugation process. It is likely that the use of high speeds over extended periods may result in the precipitation of short polymer chains of xanthan gum, which could lead to higher product yields. However, this may also result in a potential reduction in the quality of the gum sludge.

Synthetic media containing purified components provide optimal conditions for the growth of *Xanthomonas campestris* biomass and the biosynthesis of gum. These media are frequently subject to rigorous standardization, which ensures uniformity and predictability of the properties of the gum. Due to the purity of the constituents of such media, it is possible to more easily control nutrients and cultivation conditions, which promotes the production of gum with the desired characteristics. The most essential nutrients for xanthan gum biosynthesis are an available carbon source, a nitrogen source, and minerals including phosphorus, calcium, magnesium, potassium, and iron, as well as some amino acids. However, synthetic media are quite expensive, so the use of media based on recycled materials is an interesting prospect. On such media, *Xanthomonas campestris* receives a variety of organic substances, mineral salts, and vitamins. These components can have an additional effect on the yield and impart properties to the gum that cannot be obtained on

a medium with a different composition. However, the use of such media requires optimization to claim stability of gum properties as well as yield. Table 1 presents examples of xanthan gum production using different substrates as the main carbon source.

6. Macro- and microelements, temperature and pH factors of the environment

6.1. Carbon sources

Carbon is a crucial macronutrient in the biosynthesis of gum, serving as the primary source of energy for microorganisms and facilitating their growth. The optimal carbon concentration in the medium during gum biosynthesis is 2–4%, with deviations from this range leading to growth inhibition. Currently, sucrose and glucose are the primary synthetic carbon sources employed for xanthan biosynthesis. It is also possible to use other pure substrates, such as xylose, galactose, maltose, arabinose, fructose, etc., but the yield will be significantly lower, including due to the inability to fully absorb some of the substrates. For example, *X. campestris* does not express β -galactosidase, which ferments lactose and therefore synthesizes low levels of xanthan in media containing lactose as a carbon source [19,28,32,36]. Concurrently, there is evidence that it is possible to utilize cheese whey, in which lactose is broken down into glucose and galactose. However, the lack of protein in this substrate renders it insufficiently rich or accessible [27,36].

Xanthomonas employs the Entner-Doudoroff pathway in conjunction with the tricarboxylic acid cycle pathway to metabolize glucose [8]. A wide variety of waste can act as a source of carbon. Among the most prominent examples are the use of winery wastewater and the hydrolysis of chicken feathers. Firstly, these approaches are noteworthy for their recycling potential, as they are waste generated in production. Secondly, it is important to highlight the concept of hydrolyzing kitchen waste and using it

as a raw material. Despite the greater instability of the composition, the proposed option is worthy of consideration, as it can be optimized for the production of ready-made food, which will lead to better uniformity and repeatability of the composition. However, these approaches require special care during processing due to possible contamination by other microbial cultures. Nevertheless, they represent a potential component of completely zero-waste production. There are articles in which the yield obtained is two and even three times higher than with synthetic media. Firstly, this may be attributed to the producing strain itself. However, it is possible that the researchers employed disparate drying times and temperatures, which resulted in disparate outcomes due to incomplete dehydration. Alternatively, the researchers may have utilized disparate substrate concentrations. For instance, the article by Khosravi-Darani et al. [19] demonstrated a yield of 11.2 g/l, whereas the articles by Salah et al. [22] and Ben Salah et al. [18] exhibited a yield of 24.5 g/l and 43.35 g/l, respectively, when utilizing a date-based substrate. In this context, the comparison of certain data is problematic. However, the possibility of xanthan gum yield being comparable to or higher than that observed in synthetic, pure media is a highly promising avenue for further investigation and development.

6.2. Nitrogen sources

Nitrogen sources are also required by cells as a macronutrient for growth, as they are a building block for proteins in *Xanthomonas* cells. The most commonly used organic sources are peptone, yeast extract, corn extract, and soybean meal. Rapeseed cake, which is widely available in Russia, can also be considered an interesting alternative. The most commonly used nitrogen sources are yeast extract and peptone. Among inorganic nitrogen sources, ammonium salts and various nitrates are the most common, but ammonium salts are considered a more favorable op-

Table 1. An overview of *X. campestris* strains for gum production using different substrates

Таблица 1. Обзор штаммов *X. campestris* для производства камеди, используя различные субстраты

Strain	Main substrate	Inoculum, %	Temperature, °C	pH	Mixing speed, rpm	Incubation time, h	Yield g/l	Source
<i>Xanthomonas campestris</i> GK6	Glucose	5–10	28–30	7–7,5	200	96	14,744	[19]
	Sucrose	5–10	28–30	7–7,5	200	96	13,234	[19]
	Maltose	5–10	28–30	7–7,5	200	96	12,321	[19]
	Soluble starch	5–10	28–30	7–7,5	200	96	12,1	[19]
	Arabinose	5–10	28–30	7–7,5	200	96	10,958	[19]
	Galactose	5–10	28–30	7–7,5	200	96	7,129	[19]
	Fructose	5–10	28–30	7–7,5	200	96	5,232	[19]
<i>Xanthomonas campestris</i> PD656	Dry apple pomace	5	30	6,6–7,6	200	120	52,1	[20]
<i>Xanthomonas campestris</i> NRRL B-1459	Date extract	5	30	7	180	72	43,35	[17]
<i>X. campestris</i> NRRL B-1459	Date palm sap	5	28	7	180	48	24,5	[21]
<i>Xanthomonas campestris</i> PD656	Dry citrus juices	5	30	6,6–7,6	200	120	32,9	[20]
<i>Xanthomonas campestris</i> EBK-4	Medium with processed ram horns (3%)	10	28	7	200	60	25,6	[22]
<i>Xanthomonas campestris</i> ATCC13951	Winery wastewater	10	30	7	475	96	24,18	[23]
	Peach pulp	10	28	6,0	150	72	22,5	[24]
Xci/NIGEB-386	Pegah Dairy Whey Powder	10	28	7,2	200	120	22,7	[25]
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Campestris</i> strain, ATCC33913	Moist olive pomace	10	28	7	250	76	21,64	[26]
<i>X. campestris</i> PTCC1473 и <i>X. pelargonii</i> PTCC1474	Cheese whey	5	28	7	250	48	16,4	[27]
<i>Xanthomonas campestris</i> PTCC1473	Cheese whey	10	32	7	550	72	16,3	[28]
	Date extract	5	28	6	200	72	11,2	[18]
Isolate <i>Xanthomonas</i> sp. MO-03	Chicken feather hydrolyzate	5	30	7	200	54	14,56	[29]
<i>X. campestris</i> LRELP-1	Kitchen waste hydrolyzate	10	30	7	300	120	11,73	[30]
Isolate <i>Xanthomonas campestris</i>	Pineapple waste	5	30	7	120	72	10,34	[31]
<i>X. campestris</i> MTCC2286	Sugar cane molasses	5	30	7	180	48	10,3	[32]
<i>X. campestris</i> CCTCC M2015714	Glycerin, crude glycerin	10	30	7	300	90	7,9	[33]
<i>Xanthomonas campestris</i> (NCIM 2954)	0.5% Tapioca pulp treated with sulfuric acid	5	28	6,8	200	72	7,1	[34]
<i>X. campestris</i> NCIM 2961	Beer grains (brewery waste)	5	32	6	200	72	5,71	[35]
<i>X. campestris mangiferaeindicae</i> 2103	Crude glycerin biodiesel	20	28	7	700	120	5,59	[32]
<i>X. campestris</i> pv. <i>manihotis</i> IBSBF1182	Milk permeates or deproteinized cheese whey	10	28	7	180	96	1	[36]

tion for gum biosynthesis. At the same time, there is evidence that the use of ammonium phosphate as a nitrogen source can increase the pyruvate content in the gum structure [37].

It is essential to regulate the nitrogen level at the initial stages of xanthan gum biosynthesis, as this promotes rapid cell growth. Conversely, in later stages, carbon levels are of greater importance. Other promising organic nitrogen sources include meat peptones, casein peptones, and soy peptones. However, they are inferior to monosodium glutamate as the main source of nitrogen, which gives a very high biomass yield. Ammonium citrate is also a promising option, although its use can be a highly contentious one, as it has the potential to increase the number of citrate ions. The use of ammonium acetate has been reported to result in very low biomass yields [20].

6.3. Effect of precursors (enhancers)

Potassium salts, calcium salts and phosphates, zinc and magnesium sulfates are frequently added during the synthesis of gum. The presence of phosphorus and magnesium directly influences the growth of *Xanthomonas campestris*, while the presence of sulfur and phosphorus directly influences gum production. Furthermore, phosphates are required to reduce pH fluctuations in the culture [38]. In addition to the aforementioned sources of microelements, boric acid, zinc chloride and iron (III) chloride are also employed in the composition of the medium for gum biosynthesis. It has been reported that the use of organic acids during the biosynthesis process can stimulate the production of xanthan gum. Citrate is known to stimulate the production of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*, however this leads to a change in the pH of the environment. It has been demonstrated that a citrate concentration in the culture fluid of between 0.09% and 0.18% is optimal. Furthermore, citrate can be employed as a chelating agent to prevent the precipitation of salts during the sterilization of the medium. Pyruvate is also of significance, as it affects the structure of xanthan gum.

There is evidence that a high nitrogen content can increase the pyruvate content in the gum structure [37].

Acetic acid can enhance the dissolution of xanthan because it is a weak carboxylic acid, in which xanthan gum can dissolve.

6.4. Effect of temperature and pH

It can be observed that temperature plays an important role in the biosynthesis of xanthan gum. The influence of temperature is associated not only with the creation of optimal conditions for the production of biomass, but also with the very structural state of xanthan gum. The optimal temperature for the growth of *Xanthomonas campestris* is considered to range from 25 °C to 30 °C. Concurrently, the biosynthesis of xanthan gum can occur between 25 °C and 35 °C. However, increasing the temperature to the upper limits of the range causes acetates and pyruvates to be incorporated into the xanthan gum chain less effectively, resulting in a decrease in the average molecular weight and viscosity. It is postulated that the optimal temperature is approximately 28 °C [38]. However, there are instances where higher temperatures have been employed during the fermentation process [17,20,23,30,32,33,35]. This is attributable to the distinctive features of the strain or technological process, as fermentation in certain media necessitates disparate temperature parameters.

The acidity of the environment is also of significant importance for both the growth of the microorganism and the production of gum. However, the optimal values for these processes do not align perfectly. The optimal pH for the growth of *X. campestris* bacteria is between 6 and 7.5. Conversely, the pH for gum production can range from 6.0 to 8.0, with a neutral value of 7.0 being the most commonly preferred [39]. It is also crucial to regulate the pH during the fermentation process. Any deviations from the optimal pH are to be avoided, as a decrease in pH towards the acidic side leads to the loss of pyruvic acid groups [40], and an increase towards an alkaline environment leads to the loss of acetyl groups [41].

7. Biosynthesis of gum: a detailed account of the main stages and modes of the biotechnological process

7.1. Preparation of raw materials

The biosynthesis of xanthan gum involves a number of steps. The first of these is the preparation of the nutrient medium. Synthetic media are often used in this process, as they are easier to prepare than secondary agricultural products. However, they are significantly more expensive. In order to use secondary raw materials as a nutrient medium for biosynthesis, it is necessary to carry out mechanical processing and hydrolysis. Hydrolysis can be chemical, using 1% sulfuric acid or enzymes. For enzymatic hydrolysis, a variety of enzymes may be employed, including cellulase, amylase, glucoamylase, and pectinase [42].

7.2. Inoculum value

Firstly, an inoculum is prepared that involves a high concentration of cells and a low concentration of xanthan gum. This is done in order to reduce the lag phase during the main fermentation. At the time of transfer of fresh bacteria into the biosynthesis medium, they have not yet formed a xanthan shell, and as a result, the transport of substances inside is facilitated [43]. An inoculum that is transferred too early may not contain sufficient cells. Conversely, the inoculum culture introduced during the dying phase may lack the requisite number of cells for active division. The most common inoculum age is 36–48 hours. After approximately 48 hours, the culture begins to enter the stationary phase, during which active division and biomass growth will not be observed.

In this context, the mass fraction of the inoculum also plays a role in the biosynthesis of xanthan gum. In most cases, the applied inoculum comprises 5–10% of the total inoculum mass. This parameter also depends on the duration of inoculum cultivation. In addition, there are complex environments for gum biosynthesis that require specific conditions. For instance, during the biosynthesis of gum on a medium where the primary source of energy is glycerol, the optimal mass fraction of inoculum is 20% [32].

7.3. Fermentation process

The primary fermentation process is conducted within bioreactors, which are equipped with stirring and bubbling mechanisms. Nevertheless, the utilization of bioreactors with airlift mixing has been announced. The yield of xanthan gum is contingent upon a multitude of factors, including pH, oxygen content, temperature, medium composition, osmotic shock, aeration system, mixing system, and bioreactor design [44].

During the cultivation process, the concentration of pyruvate and acetyl increases within the xanthan gum structure, as does the molecular weight. Once the substrate has been completely utilized and the cells begin to die, fermentation ceases, thus indicating that continuous fermentation is preferable in order to achieve the maximum fermentation time and production.

Both batch and continuous cultivation can be employed to produce xanthan. Batch cultivation is associated with a high percentage of substrate conversion to gum, although it requires more than two days. Batch cultivation is effective in terms of substrate conversion, with an estimated range of 75–80%, while continuous cultivation is estimated to be 65–70% [45]. In laboratory settings, batch cultivation is the preferred method, whereas on an industrial scale, continuous cultivation is more commonly employed. The utilization of secondary raw materials within this mode is also feasible, although in most cases, pre-processing of the raw materials is required.

The typical duration of the process is approximately 72–96 hours, although laboratory conditions may result in a shorter timeframe. However, there are also cultivation processes that can extend up to 120 hours. The aforementioned factors influence the outcome of the cultivation process, which is dependent on the chosen mode of cultivation and the composition of the medium, as well as the availability of the main substrate. It is therefore not possible to predict optimal conditions, and experiments should be conducted to identify the most suitable conditions.

7.4. Mass transfer during the fermentation process

Xanthomonas campestris is an aerobic microorganism, therefore another crucial factor is the availability of oxygen to the environment. The speed of the mixer ensures access to oxygen, which is of great importance in the process, as the growth of *X. campestris* and the increase in gum content in the medium result in a significant increase in viscosity. This affects mass transfer, including the dissolution of oxygen and the uniform distribution of nutrient concentrations [46].

Inoculum growth and laboratory experiments require the use of shaker incubators to ensure the mixing of the liquid and the supply of air to the volume. The optimal stirring speed for flasks is 180 to 200 rpm, while the most common stirring speeds for fermenters are 500 to 700 rpm. Additionally, the aeration rate must be considered when working with fermenters. This parameter is most often found in values ranging from 0.5 to 1.4 l/l × min [10]. In this instance, the biosynthesis of gum is directly proportional to the presence of oxygen in the medium. However, an excessive aeration rate can result in hydrodynamic stress, which in turn leads to a reduction in the maximum mass of the resulting product [47]. One potential solution to the problem is to consider modifying the aeration mode and mixing speed during the fermentation process. This could help to circumvent the challenges of hydrodynamic stress at the outset of the cultivation process and oxygen deficiency during biomass accumulation. This, in turn, necessitates the need to optimize conditions and to implement a process of constant regulation of the air supply and mixing speed [32,48].

7.5. Isolation of xanthan from culture liquor

The culture liquid derived from *Xanthomonas* fermentation may contain up to 3% (w/w) xanthan gum and up to 0.1–0.3% (w/w) dried cells. Additionally, approximately 0.1–1.0% (by weight) of unused media components may be present. These figures necessitate the removal of approximately 95% of the culture fluid mass. The following steps are required to obtain a pure polymer:

- 1) Deactivation and removal of cells or their lysis.
- 2) Precipitation of the polymer.
- 3) Dehydration.
- 4) Drying.
- 5) Grinding.

The culture liquid obtained after fermentation can be pre-treated by heating until intense evaporation in a water bath or by heating to approximately 80 °C, or with chemical agents (hypochlorite, alkalis, enzymes, ketones, alcohols). The use of chemical agents can cause pH changes that reduce the pyruvate in xanthan gum, and enzymes can be quite expensive. The most common method of heating is temperature-based, as at elevated temperatures, xanthan gum dissolves, reducing the viscosity of the culture fluid. In such instances, it is recommended to add potassium or sodium chloride to reduce the viscosity of the solution, facilitating effective precipitation or filtration in the future. However, excessive temperatures can lead to degradation of the gum. Nevertheless, the following conditions are met: the optimal temperature range for this process is 80–130 °C, with a duration of 10–20 minutes; the pH should be maintained within the range of 6.3–6.9. While ultrasonic methods can be employed, they have the potential to alter the structure of the gum, resulting in the fragmentation of its chains. Consequently, these methods are not universally applicable.

Following pretreatment, centrifugation is typically employed to sediment the cells and some of their metabolites, insoluble solid compounds. An alternative approach is filtration through a filter with pore sizes of 0.45 µm, given that the *X. campestris* cell is 0.4–0.7 µm wide and 0.7–1.8 µm long. Centrifugation at 4 °C is the preferred method, with speeds ranging from 10,000g to 20,000 g, depending on the desired purity. Some researchers employ ultracentrifugation at speeds above 25,000 g, which allows for higher yields due to the precipitation of small gum chains. However, in production, this method is not able to provide a sufficiently high yield relative to the costs. The use of filtration is also acceptable, although it is employed to a lesser extent due to the high viscosity of the solution. Following centrifugation, the supernatant is collected, from which extraction is carried out by the addition of alcohols (methanol, ethanol, isopropanol) or acetone. Some studies employ the use of chilled alcohols or acetone. However, alcohols and acetone are not solvents for xanthan gum, which leads to phase separation and leaching of impurities. The most commonly used ratios are 1:3 of supernatant to alcohol or acetone, but a 1:4 ratio is recommended for complete precipitation. Following this, repeated centrifugation is employed at speeds ranging from 7000 to 14000 g for 5–20 minutes at room temperature. It is also permissible to use salts in the formation of complexes. These include polyvalent cations such as calcium, aluminum and ammonium salts. However, subsequent purification from salts is required if the product is to be used in the food industry. If filtration was used, it is necessary to refiltrate through a filter with pore sizes of 100 microns. Ultrafiltration is also available, but in production conditions it is cheaper to use other methods [8,49].

Subsequently, the xanthan gum must be dried. The conditions employed for this process vary considerably, with the most common being drying at 50–70 °C for 24–48 hours. Once dried, the gum can be ground using a stainless-steel sieve, ultrasonic treatment or other suitable methods.

8. Applications of xanthan gum

Xanthan gum has a multitude of industrial applications and is poised for significant growth in numerous fields. This is largely due to its unique physicochemical properties, including high viscosity even at low concentrations in solution, solubility in both cold and hot water, and stability over a wide pH range. Xanthan gum is utilized as a stabilizer, thickener, and emulsifier for emulsions and suspensions. Among the areas of application, the food industry, hygiene and cosmetology, the agricultural industry, and pharmacology are especially distinguished. However, as previously mentioned, xanthan gum has found other areas of application: the paper and textile industries, and the oil industry. Moreover, the structure of xanthan gum can be subject to numerous modifications, which expands the range of potential applications of this biopolymer [50].

The applications of xanthan gum are shown in Figure 2 and described in more detail in Table 2.

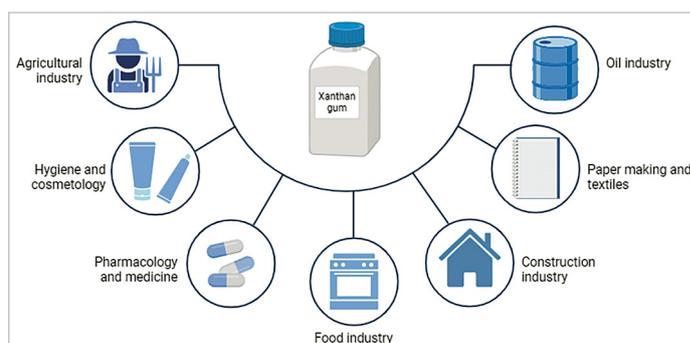


Figure 2. Areas of application of xanthan gum
Рисунок 2. Области применения ксантановой камеди

8.1. Food industry

Xanthan gum plays a pivotal role in baked goods, acting as a gelling agent that enhances the structural integrity of the dough, imparting elasticity and optimal texture and shape to the final product. Furthermore, it facilitates the increase in the viscosity of the dough, which in turn facilitates the unfolding of the dough during the baking process and also enhances its resistance to breaking [54].

In beverages, gum is employed primarily as a stabilizer, preventing the separation of fruit purée and other solids from the liquid portion of the drink. This maintains a uniform appearance of the drink and prevents separation over an extended period. Additionally, xanthan gum contributes to the creation of a thicker, creamier texture for the drink, enhancing mouthfeel and increasing satisfaction [8].

In sauces, salad dressings and soups, xanthan gum acts as a stabilizer and thickener. It helps to maintain the smoothness and structure of the sauce, preventing it from separating and coloring, and giving it a creamier texture. Thanks to xanthan gum, sauces and dressings are easier to mix and distribute on the surface of dishes, and they also better retain their shape and consistency during storage and serving [32].

In dairy products such as yoghurt, ice cream and milkshakes, xanthan gum is employed as a stabilizer and thickener. It assists in maintaining a uniform and stable product texture, prevents separation of whey and other liquid components, and improves viscosity and creamy texture [12].

In desserts such as puddings, mousses and jellies, gum acts as a stabilizer and thickener. It helps to maintain the shape and texture of the dessert, preventing separation and lightening of its components, and also gives it a creamier and smoother consistency [8].

In prepared foods such as canned foods, soups and semi-finished products, xanthan is employed to enhance the texture, structure and stability of the product. It facilitates the maintenance of its shape and consistency throughout the production, storage and heating process, and improves its appearance and mouthfeel [8,55]. Xanthan gum is also employed in the modification of traditional recipes with the objective of stabilizing them, improving their quality and appearance [56].

In the field of food packaging, xanthan gum is regarded as an ingredient that facilitates the formation of a robust and resilient film, thereby preventing the penetration of air, moisture, and other external factors that could potentially compromise the quality and freshness of the product [57].

8.2. Hygiene and cosmetology

Xanthan is employed in toothpastes to confer the requisite viscosity and stability, enhance fluidity, and facilitate the formation of a stable, creamy lather. It is an optimal binder for all types of toothpastes, including gel and pump varieties. The shear-reducing property of xanthan gum enhances the flow of these products, rendering them simple to remove from tubes or pumps. Furthermore, xanthan gum gives toothpastes a shiny, glassy appearance and ensures their stability on the brush. In creams and lotions, xanthan gum is used to give them the correct viscosity and stability, improve their flow and provide suspension to insoluble solids. It also promotes the formation of a stable, creamy foam, making them more comfortable to use and feel pleasant on the skin. In shampoos, xanthan gum is employed to impart the requisite viscosity and stability, as well as to enhance the flow. It facilitates the suspension of insoluble solids and the formation of a stable foam, which renders shampoos more convenient to use and ensures an even distribution of the product throughout the hair [32].

8.3. Pharmacology and medicine

Xanthan gum is employed in the manufacture of medicinal tablets as a filler, providing the tablets with the requisite structure and volume. It is also utilized in the form of supportive hydrogels, which regulate the release of drugs within the body.

Table 2. Use of xanthan gum in different areas and its functions

Таблица 2. Использование ксантановой камеди в различных областях и её функции

Application area	Application	Function	Source
Food industry	Bakery products	As a gelling agent, it can be used to improve the elasticity of a gluten-free product and to bind water.	[32]
	Beverages	To impart uniformity and suspension of pulp in drinks; as a thickener for specialty drinks	
	Sauces, salad dressings, soups	Improved stability; ensuring the viscosity of the fluid flow; giving consistency	
	Dairy	To give stability to yoghurts; moisture retention, temperature stability	
	Dessert	To increase elasticity and viscosity in fillings and creams; giving consistency	
	Ready meals	To improve stability; moisture retention; stabilization of emulsions	
	Meat products	To improve stability; moisture retention	
Hygiene and cosmetology	Cling film	Application possible due to pseudoplastic properties, as well as temperature and pH stability	[8]
	Toothpastes	Provides serving consistency as well as stability	
	Creams and lotions	Stabilization of emulsions and giving creams their consistency	
	Shampoos	Suspending insoluble substances, imparting consistency	
Pharmacology	Cleaners	Improved stability, increased contact time on uneven surfaces	[51,52]
	Drugs	For tablets it delays the release of the drug, for suspensions and emulsions it improves their stability; prevention of phase separation	
	Drug delivery	A promising agent for drug delivery in case of binding with nanoparticles or with specific modification of structure	
Agricultural industry	Liquid animal feed	As a stabilizer	[32,53]
	Pesticides and other treatment solutions	Suspension of active components; control of splashing and adhesion to the surface	
Other areas	Polishing pastes	Suspension of abrasive components	[8]
	Textile	Control color migration, improve processing	
	Paper	For suspension and rheological properties	
	Ceramics	For suspending solid particles	
	Oil production	For salt and pH resistance	
	Water based paints	To improve rheological properties	

Xanthan gum is employed to stabilize suspensions of insoluble materials, such as barium sulfate for X-rays and complexed dextromethorphan in cough preparations. It is also utilized in colonic drug delivery systems, where it provides stable and efficient delivery of active ingredients [52,58].

Additionally, there is a growing tendency towards the utilization of modified forms of xanthan gum. The majority of modified forms of xanthan gum are employed in the form of hydrogels as a carrier of medicinal molecules [58,59].

Xanthan gum can be employed as a scaffold for a variety of nanoparticles. This design can be utilized for diverse purposes, contingent on the nanoparticles attached [60]. Chromium nanoparticles with a xanthan gum framework can be utilized to detect heavy metal ions [61].

8.4. Agricultural industry

In liquid animal feeds, such as milk replacers for calves and piglets, xanthan gum is employed to stabilize the suspension of insoluble substances, thereby ensuring uniform distribution of nutritional components and improving feed digestibility. In sauce-based pet foods, xanthan gum is frequently utilized in conjunction with other stabilizers and binders, including LBG and guar gum, in order to guarantee a uniform texture and product stability [8].

In the field of agriculture, xanthan gum is employed in pesticide, herbicide, and insecticide formulas to enhance the fluidity and stability of solutions. It facilitates the maintenance of uniformly suspended particles of active ingredients in solution, which results in more effective and uniform coverage of the treated surface and an increase in the contact time between the pesticide and the target plants or pests [32,53,57].

8.5. Other applications

Xanthan gum is the preferred thickener in polishing compounds used on metal and other surfaces due to its pH stability and flow properties. It provides uniform coverage and ease of removal, which are essential characteristics for such compounds [8].

In the textile industry, xanthan gum can be employed as a stabilizer or additive to ensure uniformity and texture stability in textile fibers or yarns, and to enhance the properties of dyes or impregnations [8].

In the paper and board industry, xanthan gum can be employed as a stabilizer to maintain the suspension of additives or coatings while ensuring uniform distribution and print quality. In the ceramics industry, xanthan gum can be utilized as a stabilizer or thickener in ceramic glazes or paints, providing ease of application and uniform coverage, as well as improved texture and shade [8].

In the dyeing industry, xanthan gum can be employed in water-based paints as a thickener or stabilizer, thereby ensuring uniform distribution of pigments or fillers, maintaining the quality of the paint and facilitating its application [8].

In the field of construction, xanthan gum can be employed as an additive in cement mixtures with the objective of enhancing resistance to high temperatures [62].

Emulsions based on xanthan gum in combination with other gums can be employed in the 3D printing of emulsions, which in turn can be utilized in a variety of industrial applications [63].

Xanthan is a widely used additive in oil recovery processes due to its ability to control water and stabilize slurries under extreme conditions of temperature and high salt concentration. Even in small quantities, xanthan provides high viscosity to solutions, which gives them pseudoplasticity and improves the process of extracting oil from small pores in pipes. In the petroleum industry, xanthan is used in drilling fluids, pipe cleaning and hydraulic fracturing due to its stability in high salt concentrations and protection from high temperatures. In the tertiary oil recovery process, xanthan is employed to create a thickened solution that effectively removes residual oil from porous rock. However, it is important to note that when using xanthan to enhance oil recovery, it is necessary to remove particles such as cells that can clog porous oil-bearing formation [32].

9. Conclusion

A conclusion was reached based on the results of information research, analysis of scientific publications and comparison of experimental data obtained by scientists from different scientific groups. They show that the use of secondary raw materials is a promising solution to the problem of processing agricultural waste, with the production of biopolymers, such as xanthan, being one such solution. The distinctive properties of xanthan gum have been known for a considerable period of time. However, the developed methods for its production are based on the fermentation of individual simple carbohydrates, such as glucose, sucrose, maltose, arabinose, galactose, and fructose. Alternatively, it can be produced as part of soluble starch. The above substrates are expensive sources of carbon, while agricultural processing products provide a relatively cheap and effective alternative. Biotechnological processes, including the fermentation stage of various secondary raw materials, exhibit relatively high rates. The range of secondary raw materials is diverse and encompasses almost all sectors of the food industry. Thus, extracts, juices, se-

rums, hydrolysates, molasses, fruit pulp, brewer's grains, and raw grains represent a non-exhaustive list of promising secondary raw materials for the production of xanthan by biotechnological means. The composition of the culture medium for the productive biosynthesis of xanthan, as well as the parameters (temperature, pH of the medium, air exchange to prevent hydrodynamic stress) that affect the biosynthesis and subsequent purification of the cultural liquid, are controlled in order to optimize the release of xanthan gum. The secondary raw materials mentioned in the review include important macroelements, such as carbon and nitrogen, which are essential for the balanced nutrition of the microbial producer.

It is important to highlight the impact of specific microelements on xanthan biosynthesis, particularly precursors. The presence of these in trace quantities can lead to the formation of the target metabolite.

The purification and isolation of xanthan is a multi-stage process that employs solvents. The quantitative yield is contingent upon a number of factors, including the rheological properties of the culture liquid.

The physicochemical properties of xanthan gum, including its high viscosity even at low concentrations in solution, solubility in water at different temperatures, and stability over a wide pH range, determine the scope of its application. Xanthan gum is widely used in the food industry, in hygiene and cosmetology products, pharmacology and medicine, the agricultural industry, and other areas.

Consequently, there are prerequisites for the development of xanthan gum technologies that utilize not only expensive individual carbohydrates as a carbon source, but also secondary raw materials. Furthermore, the quantitative content of the culture liquid indicates that this is a priority.

REFERENCES

- Scarano, P., Sciarillo, R., Tartaglia, M., Zuzolo, D., Guarino, C. (2022). Circular economy and secondary raw materials from fruits as sustainable source for recovery and reuse. A review. *Trends in Food Science and Technology*, 122, 157–170. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.003>
- Socaciu, C. (2014). Bioeconomy and green economy: European strategies, action plans and impact on life quality. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, 71(1), 1–10. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:10121>
- Ramasamy, R., Subramanian, P. (2022). Bioconversion of food waste to wealth – circular bioeconomy approach. Chapter in a book: *Biotechnology for Zero Waste: Emerging Waste Management Techniques*, WILEY-VCH GmbH, 2022. <https://doi.org/10.1002/9783527832064.ch28>
- Kircher, M. (2022). Bioeconomy of microorganisms. Chapter in a book: *The Bioeconomy System*, Springer, Berlin, Heidelberg, 2022. https://doi.org/10.1007/978-3-662-64415-7_6
- Kumar Sarangi, P., Subudhi, S., Bhatia, L., Saha, K., Mudgil, D., Prasad Shadangi, K. et al. (2023). Utilization of agricultural waste biomass and recycling toward circular bioeconomy. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(4), 8526–8539. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20669-1>
- Zaman, N., Safi, S. Z., Ali, S., Mustafa, G., Mahmood, R. T., Ahmad, D. et al. (2023). Circular Bioeconomy of Animal Wastes. Chapter in a book: *Climate Changes Mitigation and Sustainable Bioenergy Harvest Through Animal Waste*. Springer, Cham, 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-031-26224-1_11
- Panda, J., Mishra, A. K., Mohanta, Y. K., Patowary, K., Rauta, P. R., Mishra, B. (2024). Exploring biopolymer for food and pharmaceuticals application in the circular bioeconomy: An agro-food waste-to-wealth approach. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02452-0>
- Palaniraj, A., Jayaraman, V. (2011). Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering*, 106(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.035>
- Roine, E., Wei, W., Yuan, J., Nurmiäho-Lassila, E.-L., Kalkkinen, N., Romantschuk, M. et al. (1997). Hrp pilus: An hrp-dependent bacterial surface appendage produced by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(7), 3459–3464. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.7.3459>
- García-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A., Gómez, E. (2000). Xanthan gum: Production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18(7), 549–579. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00050-1](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00050-1)
- Harding, N. E., Raffo, S., Raimondi, A., Cleary, J. M., Ielpi, L. (1993). Identification, genetic and biochemical analysis of genes involved in synthesis of sugar nucleotide precursors of xanthan gum. *Journal of General Microbiology*, 139(3), 447–457. <https://doi.org/10.1099/00221287-139-3-447>
- Dzionek, A., Wojcieszynska, D., Guzik, U. (2022). Use of xanthan gum for whole cell immobilization and its impact in bioremediation – a review. *Bioresource Technology*, 351, Article 126918. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126918>
- Viebbe, C. (2006). Order-disorder conformational transition of xanthan gum. *ChemInform*, 37(9), 459–474. <https://doi.org/10.1002/chin.200609264>
- Abbaszadeh, A., Lad, M., Janin, M., Morris, G. A., MacNaughtan, W., Sworn, G. et al. (2015). A novel approach to the determination of the pyruvate and acetate distribution in xanthan. *Food Hydrocolloids*, 44, 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.014>
- Brunchi, C. E., Bercea, M., Morariu, S., Dascalu, M. (2016). Some properties of xanthan gum in aqueous solutions: Effect of temperature and pH. *Journal of Polymer Research*, 23(7), Article 123. <https://doi.org/10.1007/s10965-016-1015-4>
- Xu, L., Xu, G., Liu, T., Chen, Y., Gong, H. (2013). The comparison of rheological properties of aqueous welan gum and xanthan gum solutions. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.082>
- Ben Salah, R., Chaari, K., Besbes, S., Ktari, N., Blecker, C., Deroanne, C. et al. (2010). Optimisation of xanthan gum production by palm date (*Phoenix dactylifera* L.) juice by-products using response surface methodology. *Food Chemistry*, 121(2), 627–635. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.077>
- Khosravi-Darani, K., Reyhani, F. S., Nasernejad, B., Farhadi, G. B. N. (2011). Bench scale production of xanthan from date extract by *Xanthomonas campestris* in submerged fermentation using central composite design. *African Journal of Biotechnology*, 10(62), 13520–13527. <https://doi.org/10.5897/ajb11.018>
- Krishna Leela, J., Sharma, G. (2000). Studies on xanthan production from *Xanthomonas campestris*. *Bioprocess Engineering*, 23(6), 687–689. <https://doi.org/10.1007/s004499900054>
- Stredansky, M., Conti, E. (1999). Xanthan production by solid state fermentation. *Process Biochemistry*, 34(6–7), 581–587. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(98\)00131-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(98)00131-9)
- Salah, R. B., Chaari, K., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2011). Production of xanthan gum from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 by fermentation of date juice palm by-products (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Food Process Engineering*, 34(2), 457–474. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00369.x>
- Kurbanoglu, E. B., Kurbanoglu, N. I. (2007). Ram horn hydrolysate as enhancer of xanthan production in batch culture of *Xanthomonas campestris* EBK-4 isolate. *Process Biochemistry*, 42(7), 1146–1149. <https://doi.org/10.1016/j.PROCBIO.2007.04.010>
- Rončević, Z., Grahovac, J., Dodić, S., Vučurović, D., Dodić, J. (2019). Utilisation of winery wastewater for xanthan production in stirred tank bioreactor: Bioprocess modelling and optimisation. *Food and Bioprocess Processing*, 117, 113–125. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.06.019>
- Papi, R. M., Ekateriniadou, L. V., Beletsiotis, E., Typas, M. A., Kyriakidis, D. A. (1999). Xanthan gum and ethanol production by *Xanthomonas campestris* and *Zymomonas mobilis* from peach pulp. *Biotechnology Letters*, 21(1), 39–43. <https://doi.org/10.1023/A:1005450529032>
- Moravej, R., Alavi, S. M., Azin, M., Salmanian, A. H. (2020). Production and physicochemical characterization of xanthan gum by native lactose consuming isolates of *xanthomonas citri* subsp. *citri*. *Ukrainian Biochemical Journal*, 92(1), 92–102. <https://doi.org/10.15407/ubj92.01.092>
- Crueira, P. J. L., Almeida, H. H. S., Marcet, I., Rendueles, M., Pires, M. G., Rafael, H. M. et al. (2023). Biosynthesis of antioxidant xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using substrates added with moist olive pomace. *Food and Bioprocess Processing*, 141, 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.08.008>
- Niknezhad, S. V., Asadollahi, M. A., Zamani, A., Biria, D., Doostmohammadi, M. (2015). Optimization of xanthan gum production using cheese whey and response surface methodology. *Food Science and Biotechnology*, 24(2), 455–460. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0060-9>
- Gilani, S. L., Heydarzadeh, H. D., Mokhtarian, N., Alemian, A., Kolaei, M. (2011). Effect of preparation conditions on xanthan gum production and rheological behavior using cheese whey by *Xanthomonas campestris*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(10), 855–859.
- Ozdam, M., Kurbanoglu, E. B. (2018). Valorisation of chicken feathers for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* MO-03. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 259–263. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.07.005>
- Li, P., Li, T., Zeng, Y., Li, X., Jiang, X., Wang, Y. et al. (2016). Biosynthesis of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* LRELPL-1 using kitchen waste as the sole substrate. *Carbohydrate Polymers*, 151, 684–691. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.017>
- Amenaghawon, A. N., Igemhokhai, S., Eshiemogie, S. A., Ugbodu, F., Evarunegbe, N. I. (2024). Data-driven intelligent modeling, optimization, and global sensitivity analysis of a xanthan gum biosynthesis process. *Heliyon*, 10(3), Article e25452. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.E25452>
- 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>
- Wang, Z., Wu, J., Zhu, L., Zhan, X. (2016). Activation of glycerol metabolism in *Xanthomonas campestris* by adaptive evolution to produce a high-transparency and low-viscosity xanthan gum from glycerol. *Bioresource Technology*, 211, 390–397. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.096>
- Gunasekar, V., Reshma, K. R., Treesa, G., Gowdhaman, D., Ponnusami, V. (2014). Xanthan from sulphuric acid treated tapioca pulp: Influence of acid concentration on xanthan fermentation. *Carbohydrate Polymers*, 102(1), 669–673. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.006>
- Chetia, R., Bharadwaj, B., Dey, R., Chatterji, B. P. (2023). The production of xanthan from brewer's spent grain. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 51(4), 449–456. <https://doi.org/10.48022/mbl.2309.09007>
- Cancelli, M. J., Cerqueira, A. F. L. W., Teodoro, L. da C., Pereira, J. R., Ludwig, Z. M. da C., Anjos, V. de C. et al. (2024). Xanthan gum produced from milk permeate and deproteinized cheese whey: A comparative analysis with commercial xanthan gums. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 56, Article 103053. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103053>
- Infee Sherley, K., Priyadarshini, R. D. (2015). Review on production of Xanthan gum in batch and continuous reactors. *International Journal of ChemTech Research*, 8(2), 711–717.
- Lopes Lessa, V., Aurélio Da Silva Carvalho, M., Gustavo Lacerda, L. (2015). Xanthan gum: Properties, production conditions, quality and economic perspective. *Journal of Food and Nutrition Research*, 54(3), 185–194.
- Esgalhado, M. E., Roseiro, J. C., Collaço, M. T. A. (1995). Interactive effects of pH and temperature on cell growth and polymer production by *Xanthomonas*

- campestris. *Process Biochemistry*, 30(7), 667–671. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(94\)00044-1](https://doi.org/10.1016/0032-9592(94)00044-1)
40. Bradshaw, I. J., Nisbet, B. A., Kerr, M. H., Sutherland, I. W. (1983). Modified xanthan—its preparation and viscosity. *Carbohydrate Polymers*, 3(1), 23–38. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(83\)90010-3](https://doi.org/10.1016/0144-8617(83)90010-3)
41. Tako, M., Nakamura, S. (1984). Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous media. *Agricultural and Biological Chemistry*, 48(12), 2987–2993. <https://doi.org/10.1080/00021369.1984.10866637>
42. Sujithra, M., Rajkumar, P.V.N., Poorani, J.H.V. (2019). Occurrence of nesting whitefly *Paraleyrodes minei* Iaccarino (Hemiptera: Aleyrodidae) in India. *Indian Journal of Entomology*, 81(3), 507–510. <https://doi.org/10.5958/0974-8172.2019.00109.3>
43. García-Ochoa, F., Santos, V. E., Alcón, A. (1996). Simulation of xanthan gum production by a chemically structured kinetic model. *Mathematics and Computers in Simulation*, 42(2–3), 187–195. [https://doi.org/10.1016/0378-4754\(95\)00113-1](https://doi.org/10.1016/0378-4754(95)00113-1)
44. Seviour, R. J., McNeil, B., Fazenda, M. L., Harvey, L. M. (2010). Operating bioreactors for microbial exopolysaccharide production. *Critical Reviews in Biotechnology*, 31(2), 170–185. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.505909>
45. Becker, A., Katzen, F., Pühler, A., Ielpi, L. (1998). Xanthan gum biosynthesis and application: A biochemical/genetic perspective. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50(2), 145–152. <https://doi.org/10.1007/s002530051269>
46. Li, Z.-X., Deng, H.-Q., Jiang, J., He, Z.-Q., Li, D.-M., Ye, X.-G. et al. (2024). Effect of hydrothermal treatment on the rheological properties of xanthan gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 270, Article 132229. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132229>
47. García-Ochoa, F., Castro, E., Santos, V. E. (2000). Oxygen transfer and uptake rates during xanthan gum production. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(9), 680–690. [https://doi.org/10.1016/s0141-0229\(00\)00272-6](https://doi.org/10.1016/s0141-0229(00)00272-6)
48. Cofelice, M., Messia, 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>
49. García-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A. (1999). Production and isolation of xanthan gum. Chapter in a book: *Carbohydrate Biotechnology Protocols*. Humana Press, 1999. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-261-6_2
50. Kumar, P., Kumar, B., Gihar, S., Kumar, D. (2024). Review on emerging trends and challenges in the modification of xanthan gum for various applications. *Carbohydrate Research*, 538, Article 109070. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2024.109070>
51. Butschle, M., Lindner, S., Schackmann, M., Dam-Johansen, K. (2024). Towards improved antifouling: Exploring xanthan gum hydrogel coatings. *Progress in Organic Coatings*, 188, Article 108197. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2023.108197>
52. Nordin, N.Z., Rashidi, A.R., Dailin, D.J., Malek, R.A., Azelee, N.I.W., Abd Manas, N.H. et al. (2020). Xanthan biopolymer in pharmaceutical and cosmeceutical applications: Critical review. *Bioscience Research*, 17(1), 205–220.
53. Sorze, A., Valentini, F., Dorigato, A., Pegoretti, A. (2023). Development of a xanthan gum based superabsorbent and water retaining composites for agricultural and forestry applications. *Molecules*, 28(4), Article 1952. <https://doi.org/10.3390/molecules28041952>
54. Zhou, W., Hui, Y. H., De Leyn, I., Pagani, M. A., Rosell, C. M., Selman, J. D. et al. (2014). *Bakery products science and technology: Second Edition*. John Wiley and Sons, Ltd. 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118792001>
55. Howis, J., Nalepa, M., Gołofit, T., Spychalski, M., Laudañska-Maj, A., Gadomska-Gajadur, A. (2023). Pseudo-gel ternary systems of xanthan gum in water-ethanol solutions for industrial applications. *Ceramics International*, 49(11), 18825–18835. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.03.004>
56. Rather, J. A., Akhter, N., Rather, S. A., Masoodi, F. A., Dar, B. N. (2024). Effect of xanthan gum treatment on the shelf-life enhancement of retorted meatballs (Goshtaba): A traditional meat product of India. *Measurement: Food*, 13, Article 100127. <https://doi.org/10.1016/j.meaf.2023.100127>
57. Candido da Silva, L. C., Targino, B. N., Furtado, M. M., de Oliveira Pinto, M. A., Rodarte, M. P., Hungaro, H. M. (2017). Xanthan: Biotechnological production and applications. Chapter in a book: *Microbial Production of Food Ingredients and Additives*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811520-6.00013-1>
58. Gago-Guillán, M., García-Otero, X., Anguiano-Igea, S., Otero-Espinar, F. J. (2023). Compression pressure-induced synergy in xanthan and locust bean gum hydrogels. Effect in drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 89, Article 105025. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105025>
59. Rakshit, P., Giri, T. K., Mukherjee, K. (2024). Research progresses on carboxymethyl xanthan gum: Review of synthesis, physicochemical properties, rheological characterization and applications in drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 266, Article 131122. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131122>
60. Rahmatpour, A., Shoghina, B., Alizadeh, A. H. (2024). A self-assembling hydrogel nanocomposite based on xanthan gum modified with SiO₂ NPs and HPAM for improved adsorption of crystal violet cationic dye from aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 330, Article 121819. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.121819>
61. Kumar, A., Prabha, M., Tiwari, P., Malviya, T., Singh, V. (2024). Xanthan gum-capped Chromia Nanoparticles (XG-CrNPs): A promising nanoprobe for the detection of heavy metal ions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 266, Article 131192. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131192>
62. Li, X., Wang, Z., Liu, Y., Liu, R., Wang, Z., Zhang, C. et al. (2024). Properties of cement grout doped with xanthan gum and welan gum at high hydration temperatures. *Construction and Building Materials*, 420, Article 135664. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2024.135664>
63. Yu, X., Han, L., Xu, Q., Li, S., Prakash, S., Dong, X. (2024). Enhanced rheological and 3D-printing properties of high internal phase emulsions stabilized by egg white microgels synergized with konjac gum/xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 153, Article 109981. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109981>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Gabdulla F. Kurbanov , Research Assistant, Laboratory of Biotechnology and Bioengineering, All-Russia Research Institute for Food Additives 55, Liteiny pr., 190000, St. Petersburg, Russia Tel.: +7-937-164-45-66 E-mail: tatanka.sn@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3958-7326	Курбанов Габдулла Фаритович — лаборант-исследователь, лаборатория биотехнологий и биоинженерии, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок 190000, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-937-164-45-66 Email: tatanka.sn@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3958-7326
Artem O. Prichepa , Research Assistant, Laboratory of Biotechnology and Bioengineering, All-Russia Research Institute for Food Additives 55, Liteiny pr., 190000, St. Petersburg, Russia Tel.: +7-931-588-40-14 E-mail: prichepa.a@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1037-5629	Причепка Артем Олегович — лаборант-исследователь, лаборатория биотехнологий и биоинженерии, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок 190000, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-931-588-40-14 E-mail: prichepa.a@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1037-5629
Natalya Yu. Sharova , Doctor of Technical Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Research, All-Russia Research Institute for Food Additives 55, Liteiny pr., 190000, St. Petersburg, Russia Tel.: +7-900-624-11-09 E-mail: n.sharova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4208-9299 * corresponding author	Шарова Наталья Юрьевна — доктор технических наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок 190000, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-900-624-11-09 E-mail: n.sharova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4208-9299 * автор для контактов
Contribution	Критерии авторства
Gabdulla F. Kurbanov : conducting information research, creating drawings and tables. Artyom O. Prichepa : conducting information research. Natalya Yu. Sharova : systematization of information data results, editing the article.	Курбанов Г. Ф. : проведение информационных исследований, создание рисунков и таблиц. Причепка А. О. : проведение информационных исследований. Шарова Н. Ю. : систематизация результатов информационных данных, редактирование статьи.
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-523-534>

Поступила 27.06.2024

Поступила после рецензирования 20.10.2024

Принята в печать 24.10.2024

© Рождественская Л. Н., Романенко С. П., Ломовский И. О., Лачугин А. П., 2024

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

Обзорная статья

Open access

ОБЗОР ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ОБЛАСТИ АНАЛИЗА ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

Рождественская Л. Н.^{1,2*}, Романенко С. П.¹, Ломовский И. О.³, Лачугин А. П.^{1,2}¹Новосибирский научно-исследовательский институт гигиены Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Новосибирск, Россия²Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск, Россия³Институт химии твердого тела и механохимии сибирского отделения Российской Академии Наук, Новосибирск, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

пищевые продукты, состав пищи, методы анализа, средства испытания

Появление новых технологий производства продуктов питания и современные тенденции в использовании альтернативных источников сырья требуют совершенствования подходов к анализу химического состава этих продуктов. В ходе планирования работ по проведению аналитических исследований возникает целый ряд вызовов: идентификация самих объектов исследования; выбор методов и инструментов исследований; обеспечение репрезентативности и валидности получаемых результатов. При выборе и обосновании методик исследования необходимо опираться на большое число факторов, к которым относится как подтверждение действительного состава продуктов питания, включающее в себя определение непреднамеренно присутствующих веществ, так и достоверность получаемых данных с учетом выбранных инструментальных методов. Цель работы — обобщение и систематизация сущности и характеристик основных методов анализа пищевых продуктов, а также оценка имеющихся подходов к обоснованию и применению инструментальных методов анализа в отношении новых видов пищевой продукции. В работе проведен обзор литературы по инструментальным методам исследования, использованному для получения значений из наиболее представительных международных баз данных о составе пищевых продуктов (FAO/INFOODS, USDA NDL, Fineli, Frida), а также из баз данных химического состава пищевых продуктов России, Японии и Австралии. Для поиска описания и особенностей применения аналитического оборудования и аналитических методов использовались электронные библиотечные системы Web of Science, Scopus, E-library, ResearchGate, Google Scholar, Microsoft Academic, Science Direct. Освещена роль различных методов исследования: фотометрических и электрофоретических, титриметрических, экстракционных, хроматографических, спектроскопических, иммуноферментных, а также основанных на полимеразной цепной реакции и на использовании магнитно-ядерного резонанса, бокового потока и электрофореза. В отношении указанных методов выделены базовые принципы, особенности и существенные условия применения, сложившиеся практики, а также проведена сравнительная оценка по таким критериям, как скорость получения результата, стоимость, воспроизводимость и чувствительность. Полученные в данной работе результаты призваны облегчить задачу исследователей по формированию стратегии измерения различных химических свойств новых разрабатываемых пищевых продуктов.

Received 27.06.2024

Accepted in revised 20.10.2024

Accepted for publication 24.10.2024

© Rozhdestvenskaya L. N., Romanenko S. P., Lomovsky O. I., Lachugin A. P., 2024

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

Review article

Open access

OVERVIEW OF INSTRUMENTAL METHODS USED IN THE FIELD OF FOOD ANALYSIS

Lada N. Rozhdestvenskaya^{1,2*}, Sergey P. Romanenko¹, Oleg I. Lomovsky³, Alexey P. Lachugin^{1,2}¹Novosibirsk Scientific Research Institute of Hygiene of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Novosibirsk, Russia;²Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russia;³Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

KEY WORDS:

food products, food composition, methods of analysis, testing equipment

ABSTRACT

The emergence of new technologies for food production and current trends in the use of alternative sources of raw materials require improved approaches to the analysis of the chemical composition of food products. In the course of planning work to carry out analytical research, a number of challenges arise: identification of the research objects themselves; selection of research methods and tools; ensuring the representativeness and validity of the results obtained. When choosing and justifying research methods, it is necessary to rely on a large number of factors, which include both confirmation of the actual composition of food products, including the determination of unintentionally present substances, and the reliability of the data obtained, taking into account the selected instrumental methods. The purpose of this work is to generalize and systematize the essence and characteristics of the main methods of food analysis and evaluate existing approaches to the justification and application of instrumental methods of analysis in relation to new types of food products. This paper reviews the literature on instrumental research methods used to obtain values in the most representative international databases on the composition of food products (FAO/INFOODS Food Composition Databases, USDA NDL, Fineli, Frida), as well as databases of the chemical composition of food products in Russia, Japan and Australia. To search for descriptions and features of the use of analytical equipment and analytical methods, electronic library systems Web of Science, Scopus, E-library, ResearchGate, Google Scholar, Microsoft Academic, Science Direct were used. This review highlights the role of various research methods: photometric and electrophoretic, titrimetric, extraction, chromatographic, spectroscopic, immunoenzymatic, as well as those based on the polymerase chain reaction and the use of nuclear magnetic resonance, lateral flow and electrophoresis.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Рождественская, Л. Н., Романенко, С. П., Ломовский, И. О., Лачугин, А. П. (2024). Обзор инструментальных методов, используемых в области анализа пищевой продукции. *Пищевые системы*, 7(4), 523–534. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-523-534>

FOR CITATION: Rozhdestvenskaya, L. N., Romanenko, S. P., Lomovsky, O. I., Lachugin, A. P. (2024). Overview of instrumental methods used in the field of food analysis. *Food Systems*, 7(4), 523–534. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-523-534>

In relation to these methods, the basic principles, special features and essential conditions of use, established application practices are highlighted, and a comparative assessment is carried out in the context of criteria, such as speed of obtaining results, cost, reproducibility, and sensitivity. The results obtained in this work are intended to facilitate the task of researchers in developing strategies for measuring various chemical properties of new food products under development.

1. Введение

Актуальные задачи организации питания населения значительно трансформировались по сравнению с предыдущими десятилетиями, поскольку тренды в потреблении [1–4] и производстве продуктов питания [5–8] стремительно меняются. Расширились возможности для изучения нутрициологических и физиологических аспектов усвоения пищевых веществ [9,10]. Эти процессы сформировали новые вызовы, требующие пересмотра приоритетов в прикладных количественных исследованиях и аналитических инструментах, используемых для решения задач по разработке и обоснованию безопасности и эффективности рационов питания для различных целевых контингентов.

Появление новых технологий производства и, как следствие, новых пищевых продуктов привело к целому спектру проблем, связанных с выбором методов анализа химического состава пищевых продуктов, а также с оценкой их безопасности и качества. В качестве примера можно привести ситуацию, когда при анализе безопасности трех основных групп «новой пищи» в категории продуктов животного происхождения (культивируемого мяса, белка насекомых и мяса ГМ-животных) были выделены потенциальные опасности, такие как несоответствие традиционным аналогам биологической ценности белка, аллергические реакции иммунной системы человека, незаявленные и непреднамеренно присутствующие химические вещества, а также патогенные микроорганизмы [11]. При этом, например, изменение аминокислотного профиля мяса при генной модификации животных [12,13] (по сравнению с продуктами, полученными традиционно) обусловлено ускоренным ростом мышечной массы. Состав и биологическая ценность белка культивируемого мяса зависят от аминокислотного состава и от используемой для выращивания клеток питательной среды, которая может содержать от 13 аминокислот до полного их спектра [14–16]. Вопрос безопасности и ценности белков насекомых обусловлен как качеством используемых субстратов [17], так и особенностями изменения аминокислотного состава при термическом воздействии в процессе приготовления продуктов: денатурацией, агрегацией и сшиванием белков [18,19].

Еще одна острая проблема при обеспечении достоверности оценки безопасности пищевых продуктов связана с содержанием в пищевых продуктах незаявленных и непреднамеренно присутствующих химических веществ и биологических агентов, что изменяет ранее установленное их содержание и сбалансированность микро- и макронутриентов, а также провоцирует появление аллергических реакций [20–22]. На примере анализа 63 проб молока, реализуемого через торговые сети [23], было установлено, что фактическое содержание естественно присутствующих химических элементов в пробах молока может в 5–10 раз (бор, стронций, бром и йод) превышать их средние значения, указанные в справочных таблицах по технологии молочного производства. С одной стороны, это говорит о необходимости совершенствования и развития методических подходов к идентификации потенциально опасных непреднамеренно присутствующих химических веществ в пищевой продукции. С другой — акцентирует вопрос о достоверности и актуальности справочной информации, используемой при сравнении и анализе, даже в отношении максимально традиционных и, казалось бы, давно изученных продуктов.

При изучении качественных характеристик таких новых продуктов, как белоксодержащие растительные аналоги продукции животного происхождения, была выявлена не только специфика определения их биологической ценности, но и связь между аминокислотными последовательностями и молекулярной структурой. Основу этой связи составили исследования в области теории мягких веществ и теоретической физики полимеров [24,25]. Животные белки эмульгируют жиры и масла совершенно иначе, чем растительные белки [26]. Отличие молекулярных характеристик этих белков отражается и на органолептическом восприятии получаемых продуктов, и на особенностях их усвоения.

По мере развития новых технологий и наполнения пищевого рынка новыми продуктами возникают новые проблемы, связанные с качеством данных о составе пищевых продуктов и сырья. Основным источником такой информации являются авторитетные национальные базы данных (БД) о составе пищевых продуктов, которые

используются для научно-исследовательских и академических целей, при реализации государственных программ в сфере питания, для осуществления коммерческих проектов.

Исследования в области диетологии и гигиены питания сформировали необходимость не только использовать альтернативные БД, но также опираться на более детализированные БД, включая модифицированные или расширенные версии опубликованных наборов данных. Такие наборы данных обычно создаются и публикуются национальными государственными органами, научно-исследовательскими институтами, неправительственными учреждениями и пр. Зачастую такие данные являются неполными относительно включенных пищевых продуктов и питательных веществ. Возникают значительные сложности при осуществлении поиска информации о происхождении данных, а также в отношении методов, используемых при определении химического состава. Несмотря на то, что сбор точных и сопоставимых данных является необходимым условием для информированной оценки рисков, а управление и представление результатов в большинстве стран стандартизировано, все еще существуют значительные различия в том, как эти данные компилируются на национальном уровне. Это создает определенные сложности для дальнейшего использования и структурирования имеющихся баз данных [27–30].

Системы управления БД о составе пищевых продуктов (FCDMS) являются важным инструментом на всех этапах работы с данными от составления баз данных до их дальнейшей компиляции и целевого использования. При осуществлении этих процедур особенно важно предварительно оценить сопоставимость аналитических процедур, включая методики, методы и инструменты, использованные для получения этих данных.

В актуальных исследованиях для поиска данных, их сравнения и осуществления теоретических исследований важно обеспечить валидность используемых инструментов и методов исследований, сопоставимость информации, позволяющей идентифицировать сами объекты (сырье и пищевые продукты) и их географическое происхождение [31,32]. В этой связи возникает 3 вызова:

- 1 — классификация и идентификация объектов исследований;
- 2 — выбор методов и инструментов исследований;
- 3 — сопоставимость и валидность результатов исследований, полученных разными методами.

В отношении первого вопроса сложности связаны не только с развитием технологий и с появлением новых видов продукции (от молочнорастительных до полученных с помощью культивирования и 3D-печати), но и с необходимостью идентификации географического происхождения ряда сырья и пищевых продуктов ввиду наличия у них уникальных характеристик.

При выборе методов и инструментов исследований пищевых продуктов долгое время определяющую роль играли подходы, основанные на их классификации в зависимости от соотношения в продукте белков, жиров и углеводов и позволяющие их отнести к той или иной продуктовой группе [33,34] (Рисунок 1).

Стандартные методы исследований зачастую разрабатывались для групп продукции и применялись ко всем входящим в них наименованиям. С появлением новых видов продукции часть методов оказываются либо неприменимыми, либо недостаточно чувствительными из-за изменения соотношения белков, жиров и углеводов в сравнении с традиционными продуктами. Кроме того, в новых продуктах используются другие источники пищевых веществ.

Так, например, общий анализ качества и безопасности пищевых продуктов в зависимости от применяемых средств измерений опирается на измерительные методы (химические [36,37], физические [38], физико-химические [39], биологические), регистрационные, расчетные, социологические, экспертные и органолептические [40,41]. Выбранный аналитический метод также должен иметь адекватные эксплуатационные характеристики, обобщенные как критерии надежности (специфичность, точность, прецизионность и чувствительность) и критерии осуществимости (скорость, затраты, требования к техническим навыкам, надежность и лабораторная безопасность) [42].

В настоящее время наибольшую сложность при разработке новых видов продукции представляет обоснование и выбор адекватных

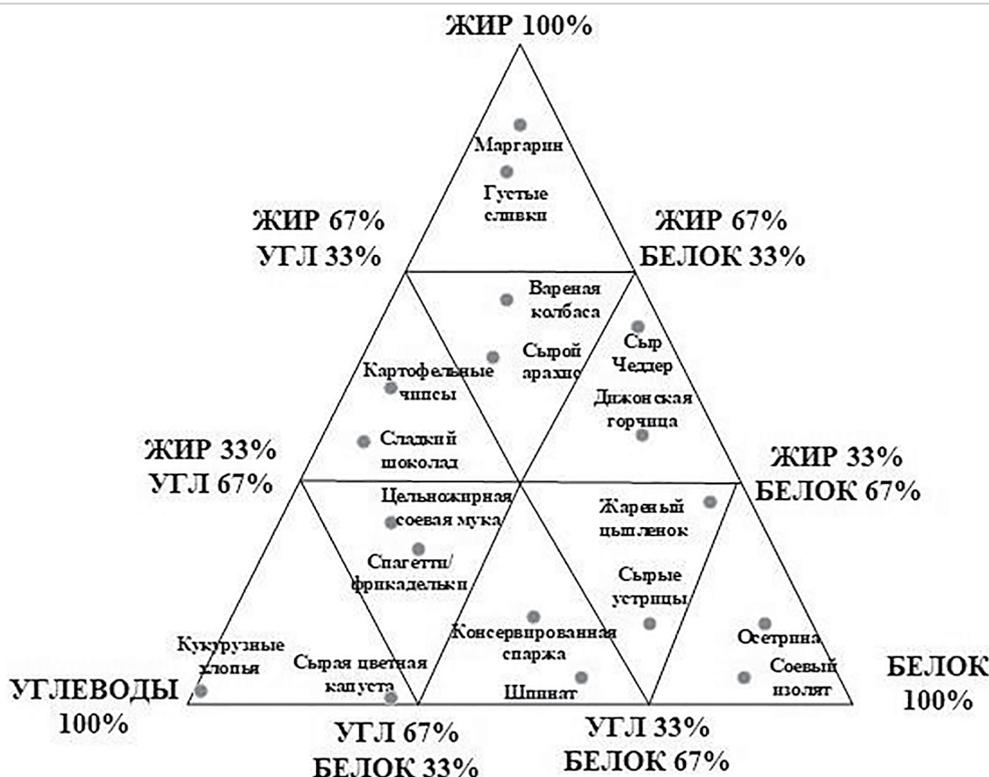


Рисунок 1. Схематическое расположение пищевых матриц по содержанию белков, жиров и углеводов, без учета влаги и золы [35]

Figure 1. Schematic arrangement of food matrices according to the content of proteins, fats and carbohydrates, without considering moisture and ash [35]

измерительных методов, особенно биологических. Это связано с тем, что биологические методы охватывают широкий спектр исследований: от физиологических, определяющих степень усвоения и переваривания питательных веществ, безвредность и биологическую ценность продукта, до микробиологических, используемых для определения степени обсемененности продукции различными микроорганизмами.

Изученность этих процессов применительно к новым видам продукции недостаточна, что не позволяет аргументированно обосновать выбор того или иного метода.

2. Объекты и методы

Для исследования современного аналитического инструментария, применяемого в фудомике [43], нутрициологии и гигиене питания, был проведен обзор основных инструментальных методов и аналитических процедур, используемых для анализа пищевых продуктов. Учитывалось их применение к конкретным компонентам (к жирам, аминокислотам, сахарам, витаминам, минералам и пр.), информация отбиралась из доступных литературных источников и баз данных. Для анализа были изучены следующие источники:

- глобальная БД о составе пищевых продуктов ФАО (FAO/INFOODS Food Composition Databases) [44–46];
- база лаборатории нутрициологических данных Департамента сельского хозяйства США (USDA NDL за 2017–2018 годы, 29 выпуск [47]);
- австралийская БД о составе пищевых продуктов [48];
- поддерживаемая Национальным институтом здравоохранения и социального обеспечения Финляндии национальная БД о составе продуктов питания — Fineli [49];
- база Frida [50] институт питания Дании;
- база химического состава российских пищевых продуктов [51];
- таблицы состава пищевых продуктов Японии [52].

Анализируя информацию, мы исходили из того, что для получения достоверных данных о составе пищевых продуктов отбирались точные аналитические методы, сопровождающиеся схемами обеспечения качества. При анализе методов, использованных для формирования пищевых БД, отмечено, что преимущественно встречаются методы, рекомендованные или принятые международными организациями (например, Ассоциацией официального аналитического сотрудничества (AOAC INTERNATIONAL) [37]. Также предпочтение отдается в основном методам, надежность которых была подтверждена совместными исследованиями с участием нескольких

лабораторий как на местном, так и на международном уровнях. В некоторых базах данных использованные методы указывались в стандартизированном виде. В других базах информация о методах и особенностях получения данных содержалась в описании методологии формирования самой базы. В то же время в части баз информация об использованных методах и аналитических процедурах отсутствует или указывается в виде ссылок на отдельные опубликованные научные работы. Таким образом, агрегированная для анализа информация позволила рассмотреть разные сложившиеся в этой сфере практики.

3. Актуальные практики применения инструментальных методов в анализе пищевых продуктов

3.1. Подходы к систематизации используемых методов и средств испытаний

Проанализированная информация была обобщена и систематизирована, что позволило выделить сущность и характеристики основных методов анализа пищевых продуктов. Определены сложившиеся подходы к их применимости и пробоподготовке для различных групп продуктов. Обозначены перспективы развития аналитических процедур не только для анализа состава, но и для аутентификации, оценки безопасности и качества продуктов. Это позволит точнее определять влияние самих продуктов на здоровье человека [53]. Инструментальное определение отдельных нутриентов в сложных дисперсных системах пищевых продуктов требует не только правильного выбора методов измерений и приборов, но и учета особенностей конкретной методики их реализации. В данной работе авторы исходят из понимания того, что в рамках одного метода может существовать практически бесконечное количество методик, поскольку метод определяет принципиальный научный базис, а методика исполняет роль формализованного описания реализации метода через конкретные приемы и способы осуществления исследований. Методика, в отличие от метода, представляет собой конкретные инструкции, касающиеся: проведения диагностики; отбора проб; алгоритмов выполнения операций, включая первоначальную пробоподготовку, разделение многокомпонентных систем; обработки данных и интерпретации результатов; форм представления данных и оценивания точности, достоверности результатов и пр. Ниже представлена сводная таблица основных методов анализа нутриентов в продуктах питания (Таблица 1). В случае с хроматографическими и электрофоретическими методами стоит отметить,

Таблица 1. Характеристики основных методов анализа продуктов питания
Table 1. Characteristics of the main methods of food analysis

Краткое описание метода (правил применения, определенных принципов и средств испытания) ¹ (Description of the principle)	Практики применения (Application practices)	Скорость ¹ (Testing time)	Стоимость ² (Cost)	Воспроизводимость ⁴ (Reproducibility)	Чувствительность ⁵ (Sensitivity)
Методы определения белка					
Метод Кьельдаля [54–57]					
Метод Кьельдаля заключается в процедуре каталитически поддерживаемой минерализации органического материала в кипящей смеси серной кислоты и сульфатной соли при температурах разложения до 400 °С. Во время процесса органически связанный азот превращается в сульфат аммония. Подщелачивание озоленного раствора высвобождает аммиак, который подвергается количественной перегонке с водяным паром и определяется титрованием, спектрофотометрией, электрохимическими или хроматографическими методами.	Этот метод измеряет только азот, связанный с органическими компонентами (белками, аминокислотами, нуклеиновыми кислотами), и аммоний в образце. Этот метод не подходит для соединений, содержащих азот в азо- и нитрогруппах или в кольцах (хинолин, пирридин, нитрат, нитрит и др.). В этих соединениях азот нельзя превратить в сульфат аммония по методу Кьельдаля. С другой стороны, при высоком содержании в продукте азотсодержащей небелковой органики, например меланина, будет происходить завышение результатов.	***	****	***	***
Метод Дюма [58–60]					
Принцип метода Дюма заключается в преобразовании азота, присутствующего в образце, в газообразный NOx путем полного сгорания в печи, поддерживаемой при температуре 950–1100 °С. Конечный продукт (NOx) затем восстанавливается до N ₂ . Далее происходит очистка смеси газов от воды и углекислого газа, количество газообразного азота измеряется с помощью детектора теплопроводности.	Главные преимущества метода Дюма — это простота использования, скорость, безопасность и высокий уровень автоматизации. Метод Дюма рекомендован для определения азота/белка в различных пищевых продуктах, таких как зерно, мука, молочные продукты, мясо, корма для животных, напитки и т. п. Недостаток — метод определяет общий азот, включая нитритный, нитратный и т. д., то есть дает завышенные значения.	*****	** (*)	***	****
Фотометрические методы [61,62]					
Биуретовые методы — реакция хелатирования двухвалентной меди белками и фотометрическое определение концентрации полученного комплекса, включая методы анализа с применением бицининовой кислоты (BCA) и метода Лоури [63]. Метод анализа Bradford Coomassie Blue — связывание белка с красителем и прямое обнаружение изменения поглощения [64]. Методы с использованием флуоресцентных красителей основаны на связывании белка с красителем и на последующей детекции усиления флуоресценции. К таким методам относятся анализ Qubit и анализ EZQ TM [65].	Методы предназначены для жидких проб, учитывая, что белки могут иметь коллоидное строение, необходима подготовка образцов. При этом реакции с комплексами меди не проходят полностью для олигонуклеотидов. Необходимо для каждого вида белка экспериментально выявить время количественного протекания реакции. Диапазон измерений конечных окрашенных растворов ограничен линейностью закона Бутера-Ламберта-Бера и чувствительностью спектрофотометра, то есть изменение концентрации белка в конических растворах в образцах в одной партии не должно быть выше одного порядка.	***	*	—	***
Титриметрические методы					
Титриметрия — это метод количественного анализа, основанный на точном измерении объема раствора реагента с известной концентрацией, который израсходован на реакцию с аналитом. Аналитом называется вещество, концентрацию которого необходимо определить. Это достигается использованием титранта — тшательного контролируемого объема раствора, концентрация которого уже известна. Титрант добавляет к аналиту с помощью бюретки. К различным типам титрования относят: кислотно-основное титрование, окислительно-восстановительное титрование, осаждающее титрование и комплексометрическое титрование. Кислотно-основное титрование основано на нейтрализации аналита и титранта. Конечную точку обычно определяют с помощью индикатора pH.	Титрование широко применяется в пищевой промышленности для контроля качества продукции. Этот аналитический метод позволяет гарантировать соответствие содержания отдельных компонентов (таких как соли, витамины, минеральные вещества и др.) установленным нормам. В частности, титрование по Карлу Фишеру используется для определения содержания воды в продуктах [66].	*****	*****	—	**

¹ ГОСТ 16504-81 «Система государственных испытаний продукции. Испытания и контроль качества продукции. Основные термины и определения». Москва: Стандартинформ, 2011. — 25 с.

Таблица 1. Продолжение / Table 1. Continued

Краткое описание метода (правил применения и определенных принципов и средств испытания) ¹ (Description of the principle)	Практики применения (Application practices)	Скорость ¹ (Testing time)	Стоимость ² (Cost)	Воспроизводимость ⁴ (Reproducibility)	Чувствительность ⁵ (Sensitivity)
<p>Изомермическая титрационная колориметрия (ТС) [67–70] используется для определения термодинамических свойств реакций, в том числе для тех, которые имеют отношение к качеству, питанию и безопасности пищевых продуктов. В основе метода лежит измерение теплового эффекта реакции при введении в исследуемую систему исследуемого реагента.</p>	<p>Изомермическая титрационная колориметрия — более совершенный метод титрования. Его используют в пищевой промышленности для изучения связывания малых и крупных молекул в продуктах питания. Его можно использовать для понимания фундаментальных свойств пищевых компонентов, которые лежат в основе качества продуктов питания. Ключевые применения ТС: исследование взаимодействия белков/липидов/нуклеиновых кислот с малыми молекулами (например, с поверхностно-активными веществами), кинетика ферментативных процессов, взаимодействие полимер-поверхностно-активное вещество, связывание с поверхностями твердых частиц.</p>	<p>*****</p>	<p>*</p>	<p>*****</p>	<p>—</p>
Экстракционные методы [71–76]					
<p>Метод Сокслета [77,78] основан на многократной исчерпывающей экстракции, например, жира органическим растворителем, из анализируемой пробы с последующим удалением растворителя и высушиванием выделенного жира до постоянной массы.</p>	<p>В основном используется для извлечения жира из широкого ассортимента продуктов питания: кондитерских изделий, мясных и рыбных полуфабрикатов, молочных продуктов и других образцов.</p>	<p>**</p>	<p>*****</p>	<p>*</p>	<p>—</p>
<p>Метод Фолча [79–81] — метод экстракции жирных кислот, самый надежный метод количественной экстракции липидов. В качестве растворителя для экстракции используют смесь хлороформа и метанола, после чего добавляют воду или раствор соли, чтобы вызвать разделение фаз. Нижняя фаза используется при анализе жирных кислот.</p>	<p>Метод Фолча используют для извлечения липидов из обычных продуктов, богатых жирами, таких как авокадо, яйца и майонез.</p>	<p>**</p>	<p>*****</p>	<p>*</p>	<p>*****</p>
<p>Метод Блая и Дайера [82–84] основан на применении для экстрагирования смеси хлороформа, метанола и воды в соотношении 2:2:1,8 для полного извлечения липидов из продукта с последующим удалением растворителей и определением содержания гравиметрическим методом</p>	<p>Метод Блая и Дайера чаще используется для экстракции липидов из тканей сосудистых растений и рыбы.</p>	<p>**</p>	<p>**</p>	<p>—</p>	<p>—</p>
<p>Экстракция с помощью микроволн (MAE) [85–87] — это экологичный метод экстракции, который предлагает множество преимуществ по сравнению с традиционными методами, таких как сокращение времени экстракции (обычно с секунд до нескольких минут), низкое потребление растворителя, возможность одновременной экстракции нескольких образцов (существенно улучшая пропускную способность образцов).</p>	<p>Экстракция с помощью микроволновой печи получила распространение в качестве метода экстракции для получения полезных соединений из биомассы растений. В случае проведения процессов экстракции из пищевого сырья микроволновое облучение используется в основном для быстрого нагрева образца.</p>	<p>*****</p>	<p>*</p>	<p>*****</p>	<p>—</p>
<p>Экстракция сверхкритической жидкостью (SFE) [88–91] основана на использовании углекислого газа в сверхкритическом состоянии (SC-CO₂) для извлечения липидной фракции. При последующем понижении давления и температуры CO₂ переходит обратно в газообразное состояние, легко отделяясь от экстрагированной липидной фракции.</p>	<p>Каждое соединение обладает уникальной экстрагируемостью в различных условиях сверхкритической жидкости. В оптимизированных условиях SFE компоненты в образце экстрагируются упорядоченным образом, что позволяет фракционировать экстракт и получить разделение фракций гораздо быстрее и качественнее по сравнению с традиционной экстракцией растворителем. Метод используется для экстракции витаминов в образцах пищевых продуктов, для извлечения ароматических и вкусовых соединений, для экстракции и фракционирования пищевых масел, а также с целью удаления загрязняющих веществ. Подходит только для твердых образцов. По своей сути сверхкритический углекислый газ по полярности аналогичен органическим неполярным растворителям при нормальных условиях, что и обуславливает схожесть результатов.</p>	<p>*****</p>	<p>*</p>	<p>—</p>	<p>—</p>
<p>Экстракция с помощью ультразвука (UAE) [92–94] является экологически чистой и экономически обоснованной альтернативой традиционным методам для пищевых продуктов и органических препаратов. К основным преимуществам метода относятся сокращение времени экстракции и обработки, а также снижение энергопотребления и расхода растворителей.</p>	<p>Метод используется для экстракции антиоксидантов, витаминов, фенольных соединений, красящих веществ, вкусо-ароматических соединений обычных растительных и животных жиров/масел и жирных кислот, а также летучих загрязнителей из фруктов, ягод, бобовых и др. пищевых продуктов. Подходит для твердых образцов. Интенсивная ультразвуковая обработка может вызывать кавитацию жидкости, что может привести к значительной деградации исследуемых веществ. Также при ультразвуковой обработке может образовываться взвесь микро- и субмикронных частиц, вносящих ошибку при измерении массы экстрактивных веществ.</p>	<p>*****</p>	<p>*</p>	<p>—</p>	<p>*****</p>

Таблица 1. Продолжение / Table 1. Continued

Краткое описание метода (правил применения) определенных принципов и средств испытания ¹ (Description of the principle)	Практики применения (Application practices)	Скорость ¹ (Testing time)	Стоимость ² (Cost)	Воспроизводимость ⁴ (Reproducibility)	Чувствительность ⁵ (Sensitivity)
<p>УФ-спектроскопия основана на измерении поглощения электромагнитного излучения в ультрафиолетовой и видимой областях, что может предоставить ценную химическую информацию о наличии или отсутствии определенных структурных свойств или функциональных групп.</p> <p>Видимая/инфракрасная спектроскопия и методы гиперспектральной визуализации в качестве быстрых и неразрушающих аналитических методов широко используются для отслеживания разновидностей пищевых продуктов и их географического происхождения. Для количественного анализа по инфракрасным спектрам, основанного на законе Бугера — Ламберта — Бера, чаще всего используют метод градуировочного графика.</p>	<p>УФ [95,96] и ИК-спектроскопия [97–100]</p> <p>Поскольку спектры содержат химическую информацию о пищевых продуктах, они могут отражать различия между спектрами пищевых продуктов разных сортов и географического происхождения. Поэтому спектроскопические подходы, такие как спектроскопия в видимом/ближнем инфракрасном диапазоне (VIS/NIR), спектроскопия в ближнем инфракрасном диапазоне (NIR), спектроскопия в среднем инфракрасном диапазоне (MIR) и гиперспектральная визуализация (HS), широко используются при анализе сельскохозяйственной продукции. HSI может одновременно предоставлять спектральную и пространственную информацию, что может применяться для различения сортов и регионов производства продуктов питания. К настоящему времени изучены и систематизированы инфракрасные спектры более чем 20000 соединений, а спектроскопия используется для определения содержания в пищевых продуктах: витаминов А, К, В1, В2, В6, С, никотиновой кислоты, токоферолов и каротина, ароматических веществ, ряда органических соединений и пр.</p>	-	*	-	-
<p>Раствор помещается в прибор, где он нагревается для испарения и атомизации веществ. Лучок излучения пропускается через расплавленный образец, измеряется поглощение излучения на определенных длинах волн. Информация о типе и концентрации присутствующих элементов получается путем измерения длины волны и интенсивности пиков.</p>	<p>Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) [101–103]</p> <p>Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) представляет собой метод определения элементного состава аналита, присутствующего в образцах, путем измерения поглощенного излучения интересующим химическим элементом. Этот метод широко используется для анализа основных элементов, таких как медь и цинк, в различных матрицах, включая пищевые продукты. Методы подготовки и проведения анализа могут требовать значительной корректуры, если необходимо измерять содержание микроэлементов в образцах с высоким содержанием других солей, например, хлорида натрия.</p>	****	*	****	****
<p>Иследуемый раствор подается в распылитель, в котором превращается в аэрозоль. Аэрозоль через центральный канал плазменной горелки попадает в плазму, где под воздействием высокой температуры вещества диссоциируют и ионизируются. Образовавшиеся положительно ионы проходят через систему ионной оптики в анализатор, где происходит детекция ионов по отношению массы к заряду и детектирование интенсивности ионного потока.</p>	<p>Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) [104,105]</p> <p>Несмотря на высокую чувствительность метода, анализ масс-спектров смесей сложных веществ представляет собой нетривиальную задачу. В таких случаях часто прибегают к сравнению с масс-спектром стандартного образца смеси.</p>	****	*	-	****
<p>ЯМР-спектроскопия использует магнитные свойства атомных ядер, таких как ядра водорода, углерода-13 и фосфора-31, для анализа структуры и свойств жидких и твердых образцов. Как неразрушающий метод он идеально подходит для анализа сложных образцов пищевых продуктов и дает возможность одновременного обнаружения и количественного определения нескольких соединений.</p>	<p>Методы, основанные на магнитно-ядерном резонансе (NMR) [106–112]</p> <p>Ядерные методы, в особенности методы стабильных изотопов, значительно расширяют возможности исследователей в области питания и здоровья человека. Данным методам присуща универсальность и высокая воспроизводимость, точность и прецизионность по сравнению с другими рутинными методами. Для оценки качества белка используют метод двойного меченых стабильных изотопов и индикаторный метод окисления аминокислот. Для оценки различных питательных микроэлементов применяют следующие методы: метод включения эритроцитарного железа, метод разбавления изотопов железа, методику радиоактивного изотопа железа для измерения потери и всасывания железа, двухизотопный метод абсорбции цинка, методику изотопного разведения ретинола.</p>	****	*	****	****
<p>Метод анализирует определенные последовательности ДНК с целью идентификации видов животных в мясных продуктах. ПЦР-тестирование также используется для выявления вредных патогенов и других микроорганизмов, а также наличия генетически модифицированных организмов (ГМО).</p>	<p>Полимеразная цепная реакция (ПЦР) [113–115]</p> <p>Подтверждена целесообразность применения ПЦР-тестирования для обнаружения генетически модифицированных организмов, запрещенных биогенетических ингридиентов, аллергенов, мутаций, бактериальных патогенов пищевого происхождения и других патогенов в различных видах пищевых продуктов</p>	**	*	-	****

Таблица 1. Продолжение / Table 1. Continued

Краткое описание метода (правил применения определенных принципов и средств испытания) ¹ (Description of the principle)	Практики применения (Application practices)	Скорость ¹ (Testing time)	Стоимость ² (Cost)	Воспроизводимость ⁴ (Reproducibility)	Чувствительность ⁵ (Sensitivity)
<p>Иммуноферментный анализ (ИФА) [116,117]</p> <p>Иммуноферментный анализ (ИФА) получил широкое распространение в пищевой промышленности. Его применяют на разных этапах производства: от контроля качества сырья до проверки готовой продукции на безопасность. Тесты используются для обнаружения скрытых аллергенов белков в пищевых продуктах, включая гормоны, антитела и пептиды. В качестве высокочувствительного метода ИФА также используется для обнаружения следов арахиса в сырах, обработанных и приоттовленных продуктах.</p> <p>В молочной промышленности ИФА применяется для выявления патогенов, таких как кишечная палочка, сальмонелла и листерия, в молочных и сырных продуктах. Метод тестирования также позволяет обнаруживать споры плесени до того, как они начнут расти.</p>	<p>Иммуноферментный анализ (ИФА) для идентификации видов мяса, рыбы и молока; аугментация маркировки фруктовых соков; обнаружения генетически модифицированных и облученных пищевых продуктов; идентификация ингредиентов-аллергенов. ИФА вместе с другими аналитическими методами, такими как методы на основе ДНК, помогают обеспечить точную реализацию прослеживаемости для успешного нормативного контроля пищевых продуктов.</p>	**	**	—	—
<p>Газовая и жидкостная хроматография</p> <p>Газовая хроматография (ГХ) [118–121] реализуется за счет того, что инертный газ непрерывно течет по небольшой трубке, пропускающей через нее испаренный образец. В зависимости от их химических и физических характеристик и взаимодействия со стационарной фазой, различные компоненты пробы перемещаются через нее с разной скоростью.</p>	<p>Газовые хроматографы применяются для: контроля жирнокислотного состава масложировой продукции; определения наличия растительных жиров в молоке, мясе, молочных и мясных продуктах; контроля наличия пестицидов в овощах, фруктах, токсичных микробиомов в ликеро-водочной продукции, в рыбе, мясе и продуктах их переработки; побочных продуктов брожения в пиве, сидре, медовухах и пр.</p>	*****	*	—	*****
<p>Газожидкостная хроматография (ГЖХ) [122,123] основана на том, что анализируемые вещества в парообразном состоянии с потоком газа-носителя проходят через колонку с неподвижной жидкой фазой, нанесенной на твердый носитель. Вещества перемещаются между фазами и разделяются из-за разницы в коэффициентах распределения.</p>	<p>Газожидкостные хроматографы используются для определения и контроля содержания в пищевых продуктах водорастворимых и жирорастворимых витаминов; определения аминокислотного состава белоксодержащих продуктов (мясных рыбных, бобовых, зерновых); установления наличия афлатоксинов, полициклических ароматических углеводородов в зерновых, копченых мясных и рыбных продуктах, кондитерских изделиях. С помощью ГЖХ определяют содержание сахара и подсластителей, консервантов, красителей, органических кислот, ксантинов (кофеина), геофиллина, теоброминана), антиоксидантов и антибиотиков в продуктах животного и растительного происхождения</p>	*****	*	—	—
<p>Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [124,125]</p> <p>Прямой анализ аминокислот с использованием гидролиза и колпачечного определения ВЭЖХ. Помимо этого, метод позволяет определять множество химических соединений: афлатоксинов [126], органических кислот [127,128], простых сахаров [129], пигментов [130–132] и консервантов [133,134].</p>	<p>Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [124,125]</p>	*****	*	—	—
<p>Раствор анализируемой смеси вводится в верхнюю часть хроматографической колонки. Анализируемая смесь прокачивается элюентом через хроматографическую колонку, в которой происходит разделение на отдельные вещества. Вытекающий из колонки элюат, содержащий отдельные компоненты анализируемой смеси, определяется детектором.</p>	<p>Капиллярный и гель-электрофорез</p>	*****	*	—	—
<p>Капиллярный (зональный) электрофорез (CZE) [135–137] используется для разделения ионов по заряду. В случае обычного электрофореза заряженные молекулы перемещаются в проводящей жидкости под действием электрического поля. Методика капиллярного электрофореза используется для разделения молекул по заряду и размеру в тонком капилляре, заполненном электролитом.</p> <p>Гель — электрофорез [138,139] — метод, в котором используется электрический ток для разделения ДНК, РНК или белков на основе их физических свойств, таких как размер и заряд. Основан на разной скорости движения под действием внешнего электрического поля фрагментов разной длины через пористый гель (агарозный, полиакриламидный).</p>	<p>Капиллярный электрофорез широко используется для анализа большого количества соединений, особенно в сложных смесях, не поддающихся тривиальному разделению, благодаря его высокой эффективности разделения, невысоких требований к образцам и реагентам и высокой скорости анализа.</p>	*****	*	***	***

Таблица 1. Продолжение / Table 1. End

Краткое описание метода (правил применения определенных принципов и средств испытания) ¹ (Description of the principle)	Практики применения (Application practices)	Скорость ¹ (Testing time)	Стоимость ² (Cost)	Воспроиз- водимость ⁴ (Reproducibility)	Чувстви- тельность ⁵ (Sensitivity)
<p>Тестирование LFD пищевой промышленности как метод иммуно-логического анализа является быстрым и эффективным способом обнаружения глютена в продуктах с реакцией антиген-антитело, используемой для идентификации белка. Новейшие тестовые комплекты LFD компактны и просты в использовании, что делает их идеальными для тестирования на месте.</p> <p>Анализ бокового потока (LEA) представляет собой бумажную платформу для обнаружения и количественного определения аналитов в сложных смесях, где образец помещается на тестовое устройство, а результаты отображаются в течение 5–30 минут.</p>	LFD (устройство бокового потока) [142,143,144]	****	—	—	—

Примечание: Скорость получения результата¹: **** — получение результата в течение 1 часа; *** — от 1 часа до 6 часов; ** — от 6 часов до 24 часов; * — более 24 часов; Testing time¹: **** — getting the result within 1 hour; *** — from 1 hour to 6 hours; ** — from 6 hours to 1 day; * — more than 1 day;

Стоимость метода²: **** — базовое лабораторное оборудование; *** — цена оборудования составит не более 250 тыс. руб.; ** — от 250 тыс. руб до 1 млн руб.; * — цена оборудования свыше 1 млн руб.; Cost of method²: **** — basic laboratory equipment; *** — the price of equipment will not exceed 250 thousand rubles; ** — from 250 thousand rubles to 1 million rubles; * — the price of equipment over 1 million rubles;

Воспроизводимость метода³: **** — менее 1% отн.; *** — от 1 до 5% отн.; ** — от 5 до 10% отн.; * — свыше 10% отн.;

Reproducibility³: **** — less than 1% rel.; *** — from 1 to 5% rel.; ** — from 5 to 10% rel.; * — over 10% rel.;

Чувствительность метода⁴: **** — менее 10⁻⁶ г.; *** — от 10⁻⁶ до 10⁻³ г.; ** — от 10⁻³ до 1 г.;

Sensitivity⁴: **** — less than 10⁻⁶ g.; *** — from 10⁻⁶ to 10⁻³ g.; ** — from 10⁻³ to 1 g.;

что читателю необходимо точно разделять метод на две основные части: методика разделения смесей веществ (собственно, сама хроматография и электрофорез) и следующий за этим метод анализа разделенной смеси. Так, ВЭЖХ-хроматограф может быть оснащен фотометрическим, рефрактометрическим, электрохимическим, масс-селективным детектором. В зависимости от выбора метода анализа разделенной смеси, указанные в таблице стоимость, сложность и чувствительность могут различаться во много раз. Выбор оптимального метода разделения смеси и метода ее анализа заслуживает отдельного, всестороннего обзора. В данном случае авторы опирались на те конфигурации приборов, которые указаны в соответствующих литературных источниках.

Проведенный анализ показывает, что универсального метода исследования состава и качества продуктов пока не существует. Несмотря на постоянное развитие технологий и появление новых, более точных, быстрых и безопасных методов, ни один из них не является универсальным для всех типов продуктов. Так, например, при определении витамина С нельзя использовать классический титриметрический метод в яркоокрашенных продуктах из-за пигментов, которые будут мешать точности проводимого анализа, что вынуждает подбирать другой способ.

3.2. Особенности и ограничения при выборе аналитического инструментария

Представленный обзор методов анализа продуктов питания не претендует на исчерпывающую полноту. Охватить все многообразие методов анализа в рамках одной статьи невозможно. Только современный справочник Официальные методы анализа AOAC INTERNATIONAL (OMA) насчитывает уже более 3000 наименований [37]. Многие из методов OMA приняты в качестве гармонизированных международных эталонных методов Международной организацией по стандартизации (ISO), Международной федерацией молочной промышленности (IDF), Международным союзом теоретической и прикладной химии (IUPAC) и Комиссией Codex Alimentarius). Однако при работе с новыми матрицами пищевых продуктов возникает необходимость обсуждения методов извлечения и пробоподготовки для определения конкретного вещества — а именно, обсуждения особенностей проведения аналитических процедур, основанного на физических принципах проведения измерения и идентификации. При этом в конкретных случаях анализа новых, ранее не производимых продуктов приходится решать вопрос о применимости и особенностях адаптации и модификации уже известных методов к конкретным задачам. Так, например, если говорить о методах, в которых используется ГЖХ и ВЭЖХ, то это методы разделения веществ перед вводом в какой-либо из детекторов или в коллектор фракций (для препаративной ВЭЖХ). Кроме того, приведенные в таблице выше данные по вариантам экстракции не в полной мере учитывают все существующие варианты экстракционных взаимодействий. Например, варианты жидкость-жидкостной экстракции/переэкстракции при анализе полихлорированных бифенилов или экстракции глубокими эвтектическими растворителями и др.

В связи с этим можно утверждать, что выбор методов исследования конкретных параметров в пищевом сырье или комплексном пищевом продукте во многом зависит и от сложности самих изучаемых биологических систем, и от целей измерения. Например, методы, используемые для быстрой обработки измерений в режиме онлайн, могут быть менее точными, чем официально принятые методы исследования, но наиболее полно соответствовать задачам отработки технологических параметров процессов производства при достижении определенных структурных и органолептических характеристик конечного продукта.

3.3. Ограничения при работе с базами данных (Food Composition Database (FCD))

При работе с растущим разнообразием пищевой продукции не всегда возможно использование исходных надежных и дорогостоящих аналитических данных. Зачастую приходится использовать информацию из БД пищевого состава ингредиентов (FCD) и расчеты по рецептуре. В то же время информация о содержании питательных веществ в сырье и продуктах питания из разных источников может значительно различаться, что обусловлено рядом факторов. Так, различия в получаемых данных при использовании одних и тех же аналитических инструментов применительно к условно одинаковым объектам исследований обусловлено: влиянием окружающей среды на корм, почву и климат; особенностями используемых сортов, видов, пород и условия их выращивания, сбора, хранения и обогащения; особенностями структуры потребления населения, включая как пищевое биоразнообразие, так и различия между продуктами

от разных производителей, различными рецептами, технологиями приготовления, торговыми марками и пр. [145,146].

4. Заключение

Таким образом, на основании обзора наиболее употребительных методов анализа пищевых продуктов, представленных в международных базах данных, и с учетом распространенности аналитического оборудования, нами была сформирована группировочная таблица. В обобщенной табличной форме для выделенных по частоте применения методов представлены: базовый принцип реализации, особенности и существенные условия применения, сложившиеся практики. Также проведена сравнительная оценка методов по таким характеристикам, как скорость получения результата, стоимость, воспроизводимость и чувствительность.

На основе анализа информации, изученной в ходе исследования, следует отметить, что как предварительный отбор и подготовка проб, так и разработка аналитических методов — это обширная тема, которая требует постоянного совершенствования и изучения

различных подходов. Чтобы соответствовать современным требованиям, важно обеспечить постоянную разработку, систематизацию и стандартизацию аналитических процедур и методов исследования (особенно измерительных), которые бы позволяли обоснованно выбирать их при изучении состава и контроле пищевой безопасности и качества новых видов пищевой продукции. Также для обеспечения создания, компиляции, распространения и использования высококачественных данных о составе, безопасности и характеристиках пищевых продуктов и сырья, необходимо использовать международные и/или национальные стандарты, руководящие принципы и инструменты, которые позволяют формировать регулярно обновляемые национальные и/или региональные базы данных о составе пищевых продуктов. Результаты данной работы призваны облегчить задачу исследователей при формировании стратегии измерения различных химических свойств новых разрабатываемых пищевых продуктов с учетом как распространенности выбираемых измерительных методов и средств, так и ресурсного обеспечения исследований.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Derossi, A., Husain, A., Caporizzi, R., Severini, C. (2019). Manufacturing personalized food for people uniqueness. An overview from traditional to emerging technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(7), 1141–1159. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1559796>
- Anzani, C., Boukid, F., Drummond, L., Mullen, A. M., Álvarez, C. (2020). Optimising the use of proteins from rich meat co-products and non-meat alternatives: Nutritional, technological and allergenicity challenges. *Food Research International*, 137, Article 109575. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109575>
- Valoppi, F., Agustin, M., Abik, F., Morais de Carvalho, D., Sithole, J., Bhattarai, M. et al. (2021). Insight on current advances in food science and technology for feeding the world population. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, Article 626227. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.626227>
- Hassoun, A., Ait-Kaddour, A., Abu-Mahfouz, A. M., Rathod, N. B., Bader, F., Barba, F. J. et al. (2022). The fourth industrial revolution in the food industry — part I: Industry 4.0 technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(23), 6547–6563. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2034735>
- Liu, F., Li, M., Wang, Q., Yan, J., Han, S., Ma, C. et al. (2022). Future foods: Alternative proteins, food architecture, sustainable packaging, and precision nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(23), 6423–6444. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2033683>
- Onwezen, M. C., Bouwman, E. P., Reinders, M. J., Dagevos, H. (2021). A systematic review on consumer acceptance of alternative proteins: Pulses, algae, insects, plant-based meat alternatives, and cultured meat. *Appetite*, 159, Article 105058. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.105058>
- Sim, S. Y. J., SRV, A., Chiang, J. H., Henry, C. J. (2021). Plant proteins for future foods: A roadmap. *Foods*, 10(8), Article 1967. <https://doi.org/10.3390/foods10081967>
- Jiménez-Munoz, L. M., Tavares, G. M., Corredig, M. (2021). Design future foods using plant protein blends for best nutritional and technological functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 113, 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.049>
- Kapsokefalou, M., Roe, M., Turrini, A., Costa, H. S., Martínez-Victoria, E., Marletta, L. et al. (2019). Food composition at present: New challenges. *Nutrients*, 11(8), Article 1714. <https://doi.org/10.3390/nu11081714>
- Villamiel, M., Méndez-Albiñana, P. (2022). Update of challenges for food quality and safety management. *Journal of Agriculture and Food Research*, 10, Article 100393. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100393>
- Шур, П. З., Суворов, Д. В., Зеленкин, С. Е., Лир, Д. Н. (2023). Идентификация потенциальной опасности потребления новых видов пищевых продуктов для здоровья населения (систематический обзор). *Гигиена и санитария*, 102(5), 495–501. [Shur, P. Z., Suvorov, D. V., Zelenkin, S. E., Lir, D. N. (2023). Identification of potential hazard of consumption of novel products to public health (systematic review). *Hygiene and Sanitation*, 102(5), 495–501. (In Russian)] <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-495-501>
- Boisen, S., Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. (2000). Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. *Livestock Production Science*, 64(2), 239–251. [https://doi.org/10.1016/s0301-6226\(99\)00146-3](https://doi.org/10.1016/s0301-6226(99)00146-3)
- Trott, J. F., Young, A. E., McNabb, B. R., Yang, X., Bishop, T. F., van Eenennaam, A. L. (2022). Animal health and food safety analyses of six offspring of a genome-edited hornless bull. *GEN Biotechnology*, 1(2), 192–206. <https://doi.org/10.1089/genbio.2022.0008>
- Torkashvand, F., Vaziri, B., Maleknia, S., Heydari, A., Vossoughi, M., Mahboudi, F. (2020). Designed amino acid feed in improvement of production and quality targets of a therapeutic monoclonal antibody. *PLoS ONE*, 10(10), Article e0140597. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140597>
- Salazar, A., Keusgen, M., von Hagen, J. (2016). Amino acids in the cultivation of mammalian cells. *Amino Acids*, 48(5), 1161–1171. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2181-8>
- D'Este, M., Alvarado-Morales, M., Angelidaki, I. (2018). Amino acids production focusing on fermentation technologies — A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 14–25. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.001>
- EFSA Scientific Committee. (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*, 13(10), Article 4257. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4257>
- Pan, J., Xu, H., Cheng, Y., Mintah, B. K., Dabbour, M., Yang, F. et al. (2022). Recent insight on edible insect protein: Extraction, functional properties, allergenicity, bioactivity, and applications. *Foods*, 11(19), Article 2931. <https://doi.org/10.3390/foods11192931>
- David-Birman, T., Raftan, G., Lesmes, U. (2018). Effects of thermal treatments on the colloidal properties, antioxidant capacity and in-vitro proteolytic degradation of cricket flour. *Food Hydrocolloids*, 79, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.044>
- Codex Alimentarius (2019). Guidelines for rapid risk analysis following instances of detection of contaminants in food where there is no regulatory level. CXG 92–2019. Retrieved from https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%3A%2F%2Fworkspace.fao.org%2Fsites%2FCodex%2FStandards%2FCXG%2F92-2019%2FCXG_092e.pdf Accessed March 03, 2024
- Shur, P. Z., Zaitseva, N. V. (2018). Health risk assessment when giving grounds for hygienic criteria of food products safety. *Health Risk Analysis*, 4, 43–56. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.4.05.eng>
- Шур, П. З., Зайцева, Н. В., Хотимченко, С. А., Федоренко, Е. В., Сычик, С. И., Фокин, В. А. и др. (2019). К вопросу установления допустимых суточных доз химических веществ в пищевых продуктах по критериям риска здоровью. *Гигиена и санитария*, 98(2), 189–195. [Shur, P. Z., Zaitseva, N. V., Khotimchenko, S. A., Fedorenko, E. V., Sychik, S. I., Fokin, V. A. et al. (2019). On the issue of establishing acceptable daily intake of chemical substances in food products according to health risk criteria. *Hygiene and Sanitation*, 98(2), 189–195. (In Russian)] <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-2-189-195>
- Зайцева, Н. В., Хотимченко, С. А., Шур, П. З., Суворов, Д. В., Зеленкин, С. Е., Бессонов, В. В. (2023). Методические подходы к интегральной оценке и категорированию потенциально опасных химических веществ, непреднамеренно присутствующих в пищевых продуктах. *Вопросы питания*, 92(1), 26–35. [Zaitseva, N. V., Khotimchenko, S. A., Shur, P. Z., Suvorov, D. V., Zelenkin, S. E., Bessonov, V. V. (2023). The modification of methodological approaches for potential hazard identification of inadvertent chemicals in food. *Voprosy Pitaniia*, 92(1), 26–35. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2023-92-1-26-35>
- Giusti, A. M., Bignetti, E., Cannella, C. (2008). Exploring new frontiers in total food quality definition and assessment: From chemical to neurochemical properties. *Food and Bioprocess Technology*, 1(2), 130–142. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0043-9>
- Sabaté, J., Harwatt, H., Soret S. (2016). Environmental nutrition: A new frontier for public health. *American Journal of Public Health*, 106(5), 815–821. <https://doi.org/10.2105/ajph.2016.303046>
- Combs, G. F., Trumbo, P. R., McKinley, M. C., Milner, J., Studenski, S., Kimura, T. et al. (2013). Biomarkers in nutrition: New frontiers in research and application. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1278(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/nyas.12069>
- Langual™ — the International Framework for Food Description. Retrieved from <http://www.langual.org/> Accessed March 20, 2024
- Ispirova, G., Genik, G., Ogrinc, M., Valenčič, E., Stojanov, R., Korošec, P. et al. (2022). Cafeteria FCD Corpus: Food consumption data annotated with regard to different food semantic resources. *Foods*, 11(17), Article 2684. <https://doi.org/10.3390/foods11172684>
- European Food Safety Authority (2015). Food classification standardisation — The FoodEx2 system (Revision 2). Retrieved from <http://www.efsa.europa.eu/en/datex/datexfoodclass.htm> Accessed March 20, 2024
- Kapsokefalou, M., Roe, M., Turrini, A., Costa, H. S., Martínez-Victoria, E., Marletta, L. et al. (2019). Food composition at present: New challenges. *Nutrients*, 11(8), Article 1714. <https://doi.org/10.3390/nu11081714>
- Hinojosa-Nogueira, D., Pérez-Burillo, S., Navajas-Porras, B., Ortiz-Viso, B., de la Cueva, S. P., Lauria, F. et al. (2021). Development of an unified food composition database for the European project "Stance4Health". *Nutrients*, 13(12), Article 4206. <https://doi.org/10.3390/nu13124206>
- Murphy, S. P., Charrondiere, U. R., Burlingame, B. (2016). Thirty years of progress in harmonizing and compiling food data as a result of the establishment of INFOODS. *Food Chemistry*, 193, 2–5. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.097>

33. Nielsen, S. S. (2017). Food analysis laboratory manual. Springer International Publishing, 2017. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-44127-6>
34. Nielsen, S. S. (2017). Food Analysis. Springer International Publishing, 2017. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5>
35. Nielsen, S. S. (2018). Food Analysis. Springer Cham, 2018.
36. Oliveri, P., Forina, M. (2012). Data analysis and chemometrics. Chapter in a book: Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications. Academic Press, 2012. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384862-8.00002-9>
37. Latimer, G. W. J. (2023). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (22nd Edition). Oxford University Press, 2023. <https://doi.org/10.1093/9780197610145.001.0001>
38. Sarkar, T., Salauddin, M., Kirtonia, K., Pati, S., Rebezov, M., Khayrullin, M. et al. (2022). A review on the commonly used methods for analysis of physical properties of food materials. *Applied Science*, 12(4), Article 2004. <https://doi.org/10.3390/app12042004>
39. Igual, M., Martínez-Monzó, J. (2022). Physicochemical properties and structure changes of food products during processing. *Foods*, 11, Article 2365. <https://doi.org/10.3390/foods11152365>
40. Johnson, G. (2005). Encyclopedia of Analytical Science (2nd edition). Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005. <http://doi.org/10.1108/09504120510632723>
41. Martínez, S., Carballo, J. (2021). Physicochemical, sensory and nutritional properties of foods affected by processing and storage. *Foods*, 10(12), Article 2970. <https://doi.org/10.3390/foods10122970>
42. Büttner, J., Borth, R., Boutwell, J., Broughton, P., Bowyer, R. (1975). Provisional recommendation on quality control in clinical chemistry. Part 1. General principles and terminology. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 13, 523–531.
43. Rodríguez-Carrasco, Y. (2022). Foodomics: Current and future perspectives in food analysis. *Foods*, 11(9), Article 1258. <https://doi.org/10.3390/foods11091258>
44. FAO/INFOODS. Food composition databases. Retrieved from <https://www.fao.org/infood/infood/tables-and-databases/faoinfood-databases/en/> Accessed March 03, 2024
45. Scrimshaw, N.S. (1997). INFOODS: The international network of food data systems. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65(4 Suppl), 1190S–1193S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.4.1190S>
46. Charroandiere, U.R., Rittenschöber, D., Nowak, V., Stadlmayr, B., Wijesinha-Bettoni, R., Haytowitz D. (2016). Improving food composition data quality: Three new FAO/INFOODS guidelines on conversions, data evaluation and food matching. *Food Chemistry*, 193, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.055>
47. USDA FoodData Central. Retrieved from <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md-bhnrc/beltsville-human-nutrition-research-center/methods-and-application-of-food-composition-laboratory/mafcl-site-pages/database-resources/> Accessed March 03, 2024
48. FoodStandarts Australian Food Composition Database — Release 2. Retrieved from <https://www.foodstandards.gov.au/science/monitoringnutrients/afcd/Pages/downloadableexcelfiles.aspx> Accessed March 05, 2024.
49. Fineli. Retrieved from <https://fineli.fi/fineli/en/tietoa-palvelusta> Accessed March 05, 2024
50. DTU. Frida. Retrieved from <https://frida.fooddata.dk> Accessed March 05, 2024.
51. Информационно-аналитическая система. База данных: Химический состав пищевых продуктов, используемых в Российской Федерации. Электронный ресурс: http://web.ion.ru/food/FD_tree_grid.aspx Дата доступа: 05.03.2024 [Chemical composition of food products used in the Russian Federation. Retrieved from http://web.ion.ru/food/FD_tree_grid.aspx Accessed March 05, 2024 (In Russian)]
52. MEXT Standard tables of food composition in Japan. Retrieved from https://www.mext.go.jp/en/policy/science_technology/policy/title01/detail01/1374030.html Accessed March 05, 2024.
53. Рождественская, Л. Н. (2022). Современные тренды и вызовы индустрии питания. Глава в книге: Социально-экономические процессы: новое видение, вызовы, тенденции. Петрозаводск: Новая Наука 2022. [Rozhdestvenskaya, L. N. (2022). Modern trends and challenges in the food industry. Chapter in a book: Socio-economic processes: new vision, challenges, trends. Petrozavodsk: New Science, 2022. (In Russian)] <https://doi.org/10.46916/04032022-2-978-5-00174-490-0>
54. Langan, S., Bhardwaj, R., Radhamani, J., Yadav, R., Gautam, R.K., Kalia, S., et al. (2022). A quick analysis method for protein quantification in oilseed crops: a comparison with standard protocol. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 892695. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.892695>
55. AOAC976.05–1977. (1996). Protein (Crude) in animal feed and pet food. Retrieved from http://aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&cPath=1&products_id=2265 Accessed March 05, 2024
56. Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., Asuero, A. G. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part II. Sample preparation, working scale, instrumental finish and quality control. *Critical Review in Analytical Chemistry*, 43, 224–272. <https://doi.org/10.1080/10408547.2012.751787>
57. Miller, E. L., Bimbo, A. P., Barlow, S. M., Sheridan, B., Burks, L. B. W., Barrins, T. et al. (2007). Repeatability and reproducibility of determination of the nitrogen content of fishmeal by the combustion (Dumas) method and comparison with the Kjeldahl method: Interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 90(1), 6–20. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.1.6>
58. Mariotti, F., Tomé, D., Mirand, P. P. (2008). Converting nitrogen into protein—beyond 6.25 and Jones’ factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(2), 177–184. <https://doi.org/10.1080/10408590701279749>
59. Determination of Crude Protein in Grain and Grain Products for Food and Feed by the Dumas Combustion Principle. Retrieved from <https://icc.or.at/store/167-determination-of-crude-protein-in-grain-and-grain-products-for-food-and-feed-by-the-dumas-combustion-principle-pdf> Accessed March 05, 2024
60. Shea, F., Watts, C. E. (1939). Dumas method for organic nitrogen. *Industrial and Engineering Chemistry Analytical Edition*, 11(6), 333–334. <https://doi.org/10.1021/ac50134a013>
61. Hayes, M. (2020). Measuring protein content in food: An overview of methods. *Foods*, 9(10), Article 1340. <https://doi.org/10.3390/foods9101340>
62. Moore, J.C., DeVries, J.W., Lipp, M., Griffiths, J.C., Abernethy, D.R. (2010). Total protein methods and their potential utility to reduce the risk of food protein adulteration. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(4), 350–357. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00114.x>
63. Zheng, K., Wu, L., He, Z., Yang, B., Yang, Y. (2017). Measurement of the total protein in serum by biuret method with uncertainty evaluation. *Measurement*, 112, 16–21. <http://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.08.013>
64. Kruger, N.J. (2009). The Bradford Method for Protein Quantitation. Chapter in a book: The Protein Protocols Handbook. Springer Protocols Handbooks. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_4
65. Nakayama, Y., Yamaguchi, H., Einaga, N., Esumi, M. (2016). Pitfalls of DNA quantification using DNA-binding fluorescent dyes and suggested solutions. *PLoS ONE*, 11(3), Article e0150528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150528>
66. Лакиза, Н. В., Неудачина, Л. К. (2015). Анализ пищевых продуктов. Екатеринбург: Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, 2015. [Lakiza, N. V., Neudachina, L. K. (2015). Analysis of food products. Yekaterinburg: Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, 2015. (In Russian)]
67. Arroyo-Maya, I. J., McClements, D. J. (2016). Application of ITC in foods: A powerful tool for understanding the gastrointestinal fate of lipophilic compounds. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*, 1860(5), 1026–1035. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2015.10.001>
68. Khalef, N., Campanella, O., Bakri, A. (2016). Isothermal calorimetry: Methods and applications in food and pharmaceutical fields. *Current Opinion in Food Science*, 9, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.09.004>
69. Velázquez-Campoy, A., Ohtaka, H., Nezami, A., Muzammil, S., Freire, E. (2004). Isothermal Titration Calorimetry. *Current Protocols in Cell Biology*, 23(1), Chapter 17. Unit 17.8. <https://doi.org/10.1002/0471145030.cb1708s23>
70. Зайцева, Н. В., Хотимченко, С. А., Шур, П. З., Суворов, Д. В., Зеленкин, С. Е., Бессонов, В. В. (2023). Методические подходы к интегральной оценке и категорированию потенциально опасных химических веществ, непреднамеренно присутствующих в пищевых продуктах. *Вопросы питания*, 92(1), 26–35. [Zaitseva, N. V., Khotimchenko, S. A., Shur, P. Z., Suvorov, D. V., Zelenkin, S. E., Bessonov, V. V. (2023). The modification of methodological approaches for potential hazard identification of inadvertent chemicals in food. *Voprosy Pitaniia*, 92(1), 26–35. (In Russian)] <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2023-92-1-26-35>
71. Мишина К. А. (2023) Метрологическое обеспечение в области изотермической калориметрии титрования: перспективы разработки стандартных образцов. *Эталоны. Стандартные образцы*, 19(3), 31–43. [Mishina K. A. (2023). Metrological support in the field of isothermal titration calorimetry: Prospects for the development of reference materials. *Measurement Standards. Reference Materials*, 19(3), 31–43. (In Russian)] <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-3-31-43>
72. Hewavitharana, G. G., Perera, D. N., Navaratne, S. B., Wickramasinghe, I. (2020). Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: a review. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(8), 6865–6875. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.039>
73. Señoráns, F. J., Luna, P. (2012). Sample preparation techniques for the determination of fats in food. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, 4, 203–211. <https://doi.org/doi/10.1016/B978-0-12-381373-2.00134-4>
74. Zhou, X., Zhang, Z., Liu, X., Wu, D., Ding, Y., Li, G. et al. (2020). Typical reactive carbonyl compounds in food products: Formation, influence on food quality, and detection methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 503–529. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12535>
75. Wagner, K.-H., Plasser, E., Proell, C., Kanzler, S. (2008). Comprehensive studies on the trans fatty acid content of Austrian foods: Convenience products, fast food and fats. *Food Chemistry*, 108(3), 1054–1060. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.038>
76. Shin, J.-M., Hwang, Y.-O., Tu, O.-J., Jo, H.-B., Kim, J.-H., Chae, Y.-Z. et al. (2013). Comparison of different methods to quantify fat classes in bakery products. *Food Chemistry*, 136(2), 703–709. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.033>
77. Servaes, K., Maesen, M., Prandi, B., Sforza, S., Elst, K. (2015). Polar lipid profile of nanochloropsis oculata determined using a variety of lipid extraction procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(15), 3931–3941. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00241>
78. Fakirov, S. (2006). Modified Soxhlet apparatus for high-temperature extraction. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(2), 2013–2014. <https://doi.org/10.1002/app.23597>
79. López-Bascón, M. A., Luque de Castro, M. D. (2020). Soxhlet extraction. Chapter in a book: Liquid-Phase Extraction. Elsevier, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00011-6>
80. Cheng, H., Erichsen, H., Soerensen, J., Petersen, M. A., Skibsted, L. H. (2019). Optimizing water activity for storage of high lipid and high protein infant formula milk powder using multivariate analysis. *International Dairy Journal*, 93, 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.02.008>
81. Liu, Z., Ezeriacks, V., Rochfort, S., Cocks, B. (2018). Comparison of methylation methods for fatty acid analysis of milk fat. *Food Chemistry*, 261, 210–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.053>
82. Shinn, S. E., Proctor, A. (2013). Rapid lipid extraction from egg yolks. *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 90(2), 315–316. <https://doi.org/10.1007/s11746-012-2155-2>
83. Kato, S., Iseki, T., Hanzawa, Y., Otoki, Y., Ito, J., Kimura, F. et al. (2017). Evaluation of the mechanisms of mayonnaise phospholipid oxidation. *Journal of Oleo Science*, 66(4), 369–374. <https://doi.org/10.5650/jos.ess16187>
84. Bligh, E. G., Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
85. Iverson, S. J., Lang, S. L. C., Cooper, M. H. (2001). Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. *Lipids*, 36(11), 1283–1287. <https://doi.org/10.1007/s11745-001-0845-0>

86. Breil, C., Abert Vian, M., Zemb, T., Kunz, W., Chemat, F. (2017). “Bligh and Dyer” and Folch methods for solid–liquid–liquid extraction of lipids from microorganisms. Comprehension of solvation mechanisms and towards substitution with alternative solvents. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), Article 708. <https://doi.org/10.3390/ijms18040708>
87. Destandau, E., Michel, T., Elfakir, C. (2015). Microwave-assisted extraction. Chapter in a book: *Green Chemistry Series*. RSC Publishing, 2013. <https://doi.org/10.1039/9781849737579-00113>
88. Costa, D. dos S. V., Bragagnolo, N. (2016). Development and validation of a novel microwave assisted extraction method for fish lipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(3), Article 1600108. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600108>
89. Akanda, M. J. H., Sarker, M. Z. I., Ferdosh, S., Manap, M. Y. A., Ab Rahman, N. N. N., Ab Kadir, M. O. (2012). Applications of supercritical fluid extraction (SFE) of palm oil and oil from natural sources. *Molecules*, 17(2), 1764–1794. <https://doi.org/10.3390/molecules17021764>
90. Sahena, F., Zaidul, I. S. M., Jinap, S., Karim, A. A., Abbas, K. A., Norulaini, N. A. N. et al. (2009). Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – a review. *Journal of Food Engineering*, 95(2), 240–253. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026>
91. Brunner, G. (2005). Supercritical fluids: Technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering*, 67(1–2), 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.05.060>
92. Berg, H., Turner, C., Dahlberg, L., Mathiasson, L. (2000). Determination of food constituents based on SFE: Applications to vitamins A and E in meat and milk. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 43(1–3), 391–401. [https://doi.org/10.1016/S0165-022X\(00\)0063-4](https://doi.org/10.1016/S0165-022X(00)0063-4)
93. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
94. Liu, L., Na, L., Niu, Y., Guo, F., Li, Y., Sun, C. (2013). An ultrasonic assisted extraction procedure to free fatty acids from the liver samples of mice. *Journal of Chromatographic Science*, 51(4), 376–382. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms151>
95. Pérez, R. A., Albero, B. (2023). Ultrasound-assisted extraction methods for the determination of organic contaminants in solid and liquid samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 166, Article 117204. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117204>
96. Power, A. C., Chapman, J., Chandra, S., Cozzolino, D. (2019). Ultraviolet-visible spectroscopy for food quality analysis. Chapter in a book: *Evaluation Technologies for Food Quality*. Woodhead Publishing, 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814217-2.00006-8>
97. Cavdaroglu, C., Ozen, B. (2023). Applications of UV-Visible, fluorescence and mid-infrared spectroscopic methods combined with chemometrics for the authentication of apple vinegar. *Foods*, 12(6), Article 1139. <https://doi.org/10.3390/foods12061139>
98. Stoscheck, C. M. (1990). Quantitation of Protein. Chapter in a book: *Methods in Enzymology*. Academic Press, 1990. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)82008-p](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)82008-p)
99. Nawrocka, A., Lamorski, J. (2013). Determination of food quality by using spectroscopic methods. Chapter in a book: *Advances in Agrophysical Research*. InTech, 2013. <https://doi.org/10.5772/52722>
100. Feng, L., Wu, B., Zhu, S., He, Y., Zhang, C. (2021). Application of visible/infrared spectroscopy and hyperspectral imaging with machine learning techniques for identifying food varieties and geographical origins. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 680357. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.680357>
101. Mendes, E., Duarte, N. (2021). Mid-infrared spectroscopy as a valuable tool to tackle food analysis: A literature review on coffee, dairies, honey, olive oil and wine. *Foods*, 10(2), Article 477. <https://doi.org/10.3390/foods10020477>
102. Mohd Fairulnizal, M. N., Vimala, B., Rathi, D. N., Mohd Naeem, M. N. (2019). Atomic absorption spectroscopy for food quality evaluation. Chapter in a book: *Technology and Nutrition, Evaluation Technologies for Food Quality*. Woodhead Publishing, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814217-2.00009-3>
103. El Youssfi, M., Sifou, A., Ben Aakame, R., Mahnine, N., Arsalane, S., Halim, M. et al. (2023). Trace elements in foodstuffs from the Mediterranean basin – occurrence, risk assessment, regulations, and prevention strategies: A review. *Biological Trace Element Research*, 201(5), 2597–2626. <https://doi.org/10.1007/s12011-022-03334-z>
104. Filatova, D. G., Es'kina, V. V., Baranovskaya, V. B., Karpov, Y. A. (2020). Present-day possibilities of high-resolution continuous-source electrothermal atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*. 75(5), 563–568. <https://doi.org/10.1134/S1061934820050044>
105. Пупышев, А. А., Суриков, В. Т. (2012). Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Образование ионов. LAP Lambert Academic Publishing, 2012. [Pupyshev, A. A., Surikov, V. T. (2012). Inductively coupled plasma mass spectrometry. The formation of ions. LAP Lambert Academic Publishing, 2012. (In Russian)]
106. Tetiana, M., Derkach, Olga P. Baula. (2017). Pharmacopoeia methods for elemental analysis of medicines: A comparative study. *Bulletin of Dnipropetrovsk University. Series Chemistry*, 25(2), 73–85. <https://doi.org/10.15421/081711>
107. Santos, A. D. C., Fonseca, F. A., Lião, L. M., Alcantara, G. B., Barison, A. (2015). High-resolution magic angle spinning nuclear magnetic resonance in food-stuff analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 75, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.003>
108. Kirtil, E., Cikrikci, S., McCarthy, M. J., Oztop, M. H. (2017). Recent advances in time domain NMR and MRI sensors and their food applications. *Current Opinion in Food Science*, 17, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.07.005>
109. Sobolev, A. P., Ingallina, C., Spano, M., Di Matteo, G., Mannina, L. (2022). NMR-based approaches in the study of foods. *Molecules*, 27(22), Article 7906. <https://doi.org/10.3390/molecules27227906>
110. Moughan, P. J. (2023). Use of isotope-labeled body or dietary proteins to determine dietary amino acid digestibility. *The Journal of Nutrition*, 153(7), 1858–1865. <https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2023.05.018>
111. Capitani, D., Mannina, L., Proietti, N., Sobolev, A. P., Tomassini, A., Micheli, A. et al. (2010). Monitoring of metabolic profiling and water status of Hayward kiwifruits by nuclear magnetic resonance. *Talanta*, 82(5), 1826–1838. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.07.080>
112. Capitani, D., Mannina, L., Proietti, N., Sobolev, A. P., Tomassini, A., Micheli, A. et al. (2013). Metabolic profiling and outer pericarp water state in zespri, Cl. GI, and hayward kiwifruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(8), 1727–1740. <https://doi.org/10.1021/jf3028864>
113. Maestrello, V., Solovyev, P., Bontempo, L., Mannina, L., Camin, F. (2022). Nuclear magnetic resonance spectroscopy in extra virgin olive oil authentication. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(5), 4056–4075. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13005>
114. Candrian, U. (1995). Polymerase chain reaction in food microbiology. *Journal of Microbiological Methods*, 23(1), 89–103. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(95\)00019-H](https://doi.org/10.1016/0167-7012(95)00019-H)
115. Klancnik, A., Kovač, M., Toplak, N., Piskernik, S., Jeršek, B. (2012). PCR in food analysis. Chapter in a book: *Polymerase chain reaction*. InTech, 2012. <https://doi.org/10.5772/38551>
116. Salihah, N. T., Hossain, M. M., Lubis, H., Ahmed, M. U. (2016). Trends and advances in food analysis by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 2196–2209. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2205-0>
117. Asensio, L., González, I., García, T., Martín, R. (2008). Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Food Control*, 19(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.02.010>
118. Koestel, C., Simonin, C., Belcher, S., Rösti, J. (2016). Implementation of an enzyme linked immunosorbent assay for the quantification of allergenic egg residues in red wines using commercially available antibodies. *Journal of Food Science*, 81(8), T2099–T2106. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13378>
119. Salimon, J., Omar, T. A., Salih, N. (2014). Comparison of two derivatization methods for the analysis of fatty acids and trans fatty acids in bakery products using gas chromatography. *The Scientific World Journal*, 1, Article 906407. <https://doi.org/10.1155/2014/906407>
120. Shantha, N. C., Napolitano, G. E. (1992). Gas chromatography of fatty acid. *Journal of Chromatography A*, 624(1–2), 37–51. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85673-H](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85673-H)
121. Salimon, J., Omar, T. A., Salih, N. (2017). An accurate and reliable method for identification and quantification of fatty acids and trans fatty acids in food fats samples using gas chromatography. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1875–S1882. <https://doi.org/10.1016/j.arabjoc.2015.07.016>
122. Mondal, D. D., Chakraborty, U., Bera, M., Ghosh, S., Kar, D. (2023). An overview of nutritional profiling in foods: Bioanalytical techniques and useful protocols. *Frontiers in Nutrition*, 10, Article 1124409. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1124409>
123. Lehotay, S., Hajšlová, J. (2002). Application of gas chromatography in food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 21(9–10), 686–697. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00805-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00805-1)
124. Bradbury, A. G. W. (1990). Gas chromatography of carbohydrates in food. Chapter in a book: *Principles and Applications of Gas Chromatography in Food Analysis*. Springer, Boston, MA, 1990. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0681-8_4
125. Rutherford, S. M. (2009). Accurate determination of the amino acid content of selected feedstuffs. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (suppl 7), 53–62. <https://doi.org/10.1080/0963748080269957>
126. Nie, Q., Nie, S. (2019). High-performance liquid chromatography for food quality evaluation. Chapter in a book: *Evaluation Technologies for Food Quality*. Woodhead Publishing, 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814217-2.00013-5>
127. Sirhan, A. Y., Tan, G. H., Wong, R. C. S. (2011). Method validation in the determination of aflatoxins in noodle samples using the QuEChERS method (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) and high performance liquid chromatography coupled to a fluorescence detector (HPLC–FLD). *Food Control*, 22(12), 1807–1815. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.007>
128. Ibáñez, A. B., Bauer, S. (2014). Analytical method for the determination of organic acids in dilute acid pretreated biomass hydrolysate by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), Article 145. <https://doi.org/10.1186/s13068-014-0145-3>
129. Zeppa, G., Conterno, L., Gerbi, V. (2001). Determination of organic acids, sugars, diacetyl, and acetoin in cheese by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2722–2726. <https://doi.org/10.1021/jf0009403>
130. Захарова, А. М., Карцова, Л. А., Гринштейн, И. Л. (2013). Определение органических кислот, углеводов и подсластителей в пищевых продуктах и биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Аналитика и контроль*, 17(2), 204–210. [Zaharova, A. M., Kartsova, L. A., Greenstein, I. L. (2013). Determination of organic acids, carbohydrates and sweeteners in food products and biologically active additives by HPLC. *Analytics and Control*, 17(2), 204–210. (In Russian)]
131. Picazo, M., Rochera, C., Vicente, E., Miracle, M. R., Camacho, A. (2013). Spectrophotometric methods for the determination of photosynthetic pigments in stratified lakes: A critical analysis based on comparisons with HPLC determinations in a model lake. *Limnetica*, 32, 139–158. <https://doi.org/10.23818/limn.32.13>
132. Yuan, X., Kim, C. J., Lee, R., Kim, M., Shin, H. J., Kim, L. et al. (2022). Validation of a multi-residue analysis method for 287 pesticides in citrus fruits mandarin orange and grapefruit using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Foods*, 11(21), Article 3522. <https://doi.org/10.3390/foods11213522>
133. Park, J., Kim, H., Hong, S., Suh, H.-J., Lee, C. (2019). High-performance liquid chromatography and gas chromatography to set the analysis method of stearoyl lactylate, a food emulsifier. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1669–1677. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00629-1>
134. So, J. S., Lee, S. B., Lee, J. H., Nam, H. S., Lee, J. K. (2023). Simultaneous determination of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and ethyl-

- paraben in foods by high-performance liquid chromatography. *Food Science and Biotechnology*, 32(9), 1173–1183. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01264-7>
135. Pylypiw, H. M., Grether, M. T. (2000). Rapid high-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and potassium sorbate in foods. *Journal of Chromatography A*, 883(1–2), 299–304. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00404-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00404-0)
136. Dong, Y. (1999). Capillary electrophoresis in food analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 10(3), 87–93. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00031-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00031-X)
137. Piñero, M., Bauza, R., Arce, L. (2011). Thirty years of capillary electrophoresis in food analysis laboratories: Potential applications. *Electrophoresis*, 32(11), 1379–1393. <https://doi.org/10.1002/elps.201000541>
138. Gao, Z., Zhong W. (2022). Recent (2018–2020) development in capillary electrophoresis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 414(1), 115–130. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03290-y>
139. Rio, D. C., Ares, M., Hannon, G. J., Nilsen, T. W. (2010). Nondenaturing agarose gel electrophoresis of RNA. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2010(6), Article pdb.prot5445. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5445>
140. Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
141. Francisco da Silva Neto, G., Luíza de Andrade Rodrigues, M., Fonseca, A. (2021). A new quantitative gel electrophoresis method with image-based detection for the determination of food dyes and metallic ions. *Talanta*, 221, Article 121602. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121602>
142. Dario, G. (2012). Electrophoresis as a useful tool in studying the quality of meat products. Chapter in a book: *Electrophoresis*. InTech, 2012. <https://doi.org/10.5772/45761>
143. Kalogianni, D. P. (2021). Lateral flow assays for food authentication. Chapter in a book: *Biosensors in Agriculture: Recent Trends and Future Perspectives*. Springer, Cham, 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66165-6_16
144. Courtney, R. C., Taylor, S. L., Baumert, J. L. (2016). Evaluation of commercial milk-specific lateral flow devices. *Journal of Food Protection*, 79(10), 1767–1774. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-127>
145. Greenfield, H., Southgate, D. A. (2003). *Food Composition Data: Production, management, and use*. Elsevier Science Publishers, FAO, Rome, 2003. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3544-7>
146. Md Noh, M. F., Gunasegavan, R. D.-N., Mustafa Khalid, N., Balasubramaniam, V., Mustar, S., Abd Rashed, A. (2020). Recent techniques in nutrient analysis for food composition database. *Molecules*, 25(19), Article 4567. <https://doi.org/10.3390/molecules25194567>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Рождественская Лада Николаевна — кандидат экономических наук, заведующая кафедрой технологии и организации пищевых производств, Новосибирский государственный технический университет 630073, Новосибирск, пр. Карла Маркса, 20</p> <p>ведущий научный сотрудник, отдел гигиенических исследований с лабораторией физических факторов, Новосибирский научно-исследовательский институт гигиены Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 630108, Новосибирск, ул. Пархоменко, 7</p> <p>Тел.: +7-913-907-36-62</p> <p>E-mail: lada2006job@mail.ru</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7250-0288</p>	<p>Lada N. Rozhdestvenskaya, Candidate of Economic Sciences, Head of the Department of Technology and Organization of Food Production, Novosibirsk State Technical University 20, Karl Marx Ave., Novosibirsk, 630073, Russia</p> <p>Leading Researcher, Department of Hygienic Research with a Laboratory of Physical Factors, Novosibirsk Research Institute of Hygiene of Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being 7, Parkhomenko str., Novosibirsk, 630108, Russia</p> <p>Tel.: +7-913-907-36-62</p> <p>E-mail: lada2006job@mail.ru</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7250-0288</p>
<p>Романенко Сергей Павлович — кандидат медицинских наук, заместитель директора по научной работе, Новосибирский научно-исследовательский институт гигиены Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 630108, Новосибирск, ул. Пархоменко, 7</p> <p>Тел.: +7-961-215-38-18</p> <p>E-mail: romanenko_sp@niig.su</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1375-0647</p>	<p>Sergey P. Romanenko, Candidate of Medical Sciences, Deputy Director for Science, Novosibirsk Research Institute of Hygiene of Rospotrebnadzor Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being 7, Parkhomenko str., Novosibirsk, 630108, Russia</p> <p>Tel.: +7-961-215-38-18</p> <p>E-mail: romanenko_sp@niig.su</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1375-0647</p>
<p>Ломовский Игорь Олегович — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, лаборатория механохимии, Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук. 630090, Новосибирск, ул. Кутателадзе, 18</p> <p>Тел.: +7-923-249-61-31</p> <p>E-mail: lomovsky@solid.nsc.ru</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8269-033X</p>	<p>Igor O. Lomovkiy, Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher, laboratory of mechanochemistry, Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences 18, Kutateladze str., Novosibirsk, 630090, Russia</p> <p>Tel.: +7-923-249-61-31</p> <p>E-mail: lomovsky@solid.nsc.ru</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8269-033X</p>
<p>Лачугин Алексей Павлович — младший научный сотрудник, отдел гигиенических исследований с лабораторией физических факторов, Новосибирский научно-исследовательский институт гигиены Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 630108, Новосибирск, ул. Пархоменко, 7</p> <p>Тел.: +7-913-908-32-32</p> <p>E-mail: lachugin_ap@niig.su</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0009-0002-4120-6980</p>	<p>Alexey P. Lachugin, Junior Research Assistant, Department of Hygienic Research with a Laboratory of Physical Factors, Novosibirsk Research Institute of Hygiene of Rospotrebnadzor Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being 7, Parkhomenko str., Novosibirsk, 630108, Russia</p> <p>Tel.: +7-913-908-32-32</p> <p>E-mail: lachugin_ap@niig.su</p> <p>ORCID: https://orcid.org/0009-0002-4120-6980</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-535-542>



Поступила 05.09.2024

Поступила после рецензирования 28.10.2024

Принята в печать 01.11.2024

© Соболев Р. В., Соколов И. Е., Петров Н. А., Саркисян В. А., Кочеткова А. А., 2024

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

Обзорная статья

Open access

МЕТОДЫ ЭКСТРАКЦИИ, РАЗДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ЦИКЛИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ ИЗ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО (*LINUM USITATISSIMUM* L.): ОБЗОР

Соболев Р. В.*, Соколов И. Е., Петров Н. А., Саркисян В. А., Кочеткова А. А.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

льняное масло, циклолинопептиды, выделение, определение содержания, жидкостная экстракция, твердофазная экстракция

Лен масличный (*Linum usitatissimum* L.) является ценнейшей культурой, характеризующейся высоким содержанием жиров, пищевых волокон, белка, а также различных биологически активных веществ, в частности циклических пептидов. Циклические пептиды — группа циклических гидрофобных пептидов, состоящих из восьми-десяти аминокислот с молекулярной массой в диапазоне 950–2300 Да. Масло и семена льна содержат в своем составе от 0,1 до 0,3% циклических пептидов, способных проявлять антиоксидантную, противовоспалительную, иммуносупрессивную, антигипертензивную и противоопухолевую активности. Цель настоящего обзора заключалась в систематизации и обобщении имеющихся литературных данных о методах экстракции, разделения и идентификации циклических пептидов из масла семян льна масличного. Установлено, что основными методами получения циклических пептидов являются экстракции типа «твердое вещество — жидкость», «жидкость — жидкость» или «твердофазная» экстракция. В качестве растворителей обычно применяют метанол, гексан, этилацетат, дихлорметан, ацетонитрил и деионизованную воду. Для очистки и концентрирования циклических пептидов используют препаративную флеш-хроматографию на силикагеле или полимерных адсорбентах, для получения индивидуальных стандартов — высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). В качестве неподвижной фазы наиболее часто используют неполярные модифицированные сорбенты — октадецильные (C18) и фенилгексилные функциональные группы. Идентификацию проводят с использованием инструментальных методов анализа: ИК-спектроскопии, ЯМР, ВЭЖХ с детектором типа диодная матрица (HPLC-PDA/DAD), тандемной масс-спектрометрией высокого разрешения с ионизацией электрораспылением (ESI-HR-MS/MS). Для качественного и количественного определения циклических пептидов достаточным является осуществление метода ВЭЖХ с детектором типа диодная матрица на длине волны 214 нм. В свою очередь, масс-спектральные методы, в том числе тандемная масс-спектрометрия, позволяют подтвердить качественный состав и установить аминокислотную последовательность циклических пептидов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена в рамках гранта Российского Научного Фонда (проект № 24-16-00171 «Циклические пептиды *Linum usitatissimum*. Особенности получения, биологическая активность и перспективы их пищевого применения»)

Received 05.09.2024

Accepted in revised 28.10.2024

Accepted for publication 01.11.2024

© Sobolev R. V., Sokolov I. E., Petrov N. A., Sarkisyan V. A., Kochetkova A. A., 2024

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

Review article

Open access

METHODS OF EXTRACTION, SEPARATION AND IDENTIFICATION OF CYCLIC PEPTIDES FROM FLAXSEED (*LINUM USITATISSIMUM* L.): A REVIEW

Roman V. Sobolev*, Ilya E. Sokolov, Nikita A. Petrov, Varuzhan A. Sarkisyan, Alla A. Kochetkova

Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

KEY WORDS:

Flaxseed oil, cyclolinopeptides, separation, content analysis, liquid extraction, solid-phase extraction

ABSTRACT

Oilseed flax (*Linum usitatissimum* L.) is a valuable crop characterized by a high content of fats, dietary fiber, protein and various biologically active substances, in particular cyclopeptides. Cyclic peptides are a group of cyclic hydrophobic peptides consisting of eight to ten amino acids with a molecular weight in the range of 950–2300 Da. Flax oil and seeds contain from 0.1 to 0.3% cyclopeptides, which can exhibit antioxidant, anti-inflammatory, immunosuppressive, antihypertensive and antitumor activity. The aim of this review was to systematize and summarize the available literature data on methods of extraction, separation and identification of cyclopeptides from flaxseed oil. It was found that the main methods for obtaining cyclopeptides are solid-liquid, liquid-liquid or solid-phase extraction. Commonly used solvents include methanol, hexane, ethyl acetate, dichloromethane, acetonitrile and deionized water. Preparative flash chromatography on silica gel or polymer adsorbents is used to purify and concentrate cyclopeptides, and high-performance liquid chromatography (HPLC) is used to obtain individual standards. The most commonly used stationary phases are non-polar modified sorbents — octadecyl (C18) and phenylhexyl functional groups. Identification is carried out using instrumental methods of analysis: IR spectroscopy, NMR, HPLC with a diode array detector (HPLC-PDA/DAD), high-resolution tandem mass spectrometry with electrospray ionization (ESI-HR-MS/MS). For the qualitative and quantitative determination of cyclopeptides, the HPLC with a diode array detector at a wavelength of 214 nm is sufficient. In turn, mass spectral methods, including tandem mass spectrometry, make it possible to confirm the qualitative composition and establish the amino acid sequence of cyclic peptides.

FUNDING: The work was performed within the framework of the grant of the Russian Science Foundation (project No. 24–16–00171 “Cyclic peptides from *Linum usitatissimum*. Features of production, biological activity and prospects for their food application”).

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Соболев, Р. В., Соколов, И. Е., Петров, Н. А., Саркисян, В. А., Кочеткова, А. А. (2024). Методы экстракции, разделения и идентификации циклических пептидов из льна масличного (*Linum usitatissimum* L.): Обзор. *Пищевые системы*, 7(4), 535–542. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-535-542>

FOR CITATION: Sobolev, R. V., Sokolov, I. E., Petrov, N. A., Sarkisyan, V. A., Kochetkova, A. A. (2024). Methods of extraction, separation and identification of cyclic peptides from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.): A review. *Food Systems*, 7(4), 535–542. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-535-542>

1. Введение

Лен масличный (*Linum usitatissimum* L.) является одной из наиболее распространенных культур в Российской Федерации и с каждым годом находит все большее применение. Россия вошла в число крупнейших производителей и экспортеров льняного семени в мире, собрав в 2022 году свыше 1,7 млн тонн и обойдя Казахстан по объемам производства [1]. Семена льна отличаются высоким содержанием жиров (41%), пищевых волокон (28%) и белка (20%). Влажность семян составляет 7,7%, а зольность — 3,4% [2]. Лен масличный также богат цианогенными гликозидами, фенольными соединениями, лигнанами, слизью, минералами, витаминами и циклическими пептидами [2,3]. Большое разнообразие соединений, содержащихся в льняном семени, обеспечивает его высокую пищевую ценность, при этом некоторые из них обладают функциональными свойствами и могут быть использованы для разработки пищевых ингредиентов и специализированных пищевых продуктов [4,5].

Особый интерес к льняному семени обусловлен наличием в его составе таких биологических активных соединений, как циклические пептиды (ЦП, циклолинопептиды). ЦП представляют собой группу циклических гидрофобных пептидов, состоящих из восьми (октапептиды), девяти (нонапептиды) или реже десяти (декапептиды) аминокислот с молекулярной массой в диапазоне 950–2300 Да [6]. В данных соединениях присутствует кольцевая последовательность связей, в которой кольцевая структура образована посредством связи между одним концом пептидной связи и другим концом с амидной связью или любыми другими химически стабильными связями, такими как эфирная, тиоэфирная, лактонная и дисульфидная [7].

Характерное строение первого выделенного ЦП представлено на Рисунке 1.

Циклический пептид А (CLA), представленный на Рисунке 1, содержит 8 аминокислот: изолейцин, лейцин, валин, пролин, фенилаланин, фенилаланин, изолейцин (Иле-Лей-Вал-Про-Фен-Фен-Лей-Иле) [2]. Широкий диапазон свойств, характерных для ЦП льна (антиоксидантные, противовоспалительные, иммуносупрессивные, антигипертензивные и противоопухолевая активности), делает их перспективными натуральными компонентами из льняного семени с добавленной стоимостью [8–11].

Для широкого применения ЦП в промышленности возможны два пути их получения: химический синтез этих веществ и экстракция из растительного сырья. Синтетический подход малоэффективен с экономической точки зрения ввиду сложности необходимых реакций, их большого количества, значительной стоимости применяемых реагентов и неодинаковой эффективности каждой стадии синтеза. В связи с этим оптимальным подходом остается извлечение ЦП из растительного сырья как в индивидуальном виде, так и в составе смесей [12].

Льняное масло имеет характерный горький привкус. Согласно данным статьи [13], горький привкус масла положительно коррелирует с содержанием в его составе циклического пептида Е, при этом также известна связь горького привкуса с присутствием других окисленных метионином ЦП [14,15]. Согласно сведениям, представленным в работах [2,13,16], в льняном масле идентифицировано более 20 различных ЦП.

Учитывая высокую потенциальную биологическую ценность ЦП и их влияние на органолептические свойства масла, существует необходимость поиска эффективного способа их выделения. Выделение ЦП — прием технологической глубокой переработки сельскохозяйственного сырья, обеспечивающий новые возможности в производстве специализированных пищевых продуктов. ЦП

встречаются в льняном семени в низких концентрациях, поэтому выделение отдельных пептидов требует большого количества исходного материала [15]. Обычно ЦП получают из масла, выделяемого из льняного семени двумя основными способами: прессованием (преимущественно холодное) либо сочетанием прессования и экстракции. Учитывая широкое разнообразие ЦП, важно точно идентифицировать химический состав и структуру выделенных компонентов, в связи с чем разрабатывается множество методов определения их химического состава.

Таким образом, цель настоящего обзора заключалась в систематизации и обобщении имеющихся литературных данных о методах экстракции, разделения и идентификации циклических пептидов из масла семян льна масличного (*Linum usitatissimum* L.).

2. Объекты и методы

Объектами исследования являлись научные публикации, посвященные изучению экстракции, разделения и идентификации циклических пептидов из льна масличного (*Linum usitatissimum* L.) и продуктов его переработки.

2.1. Методы поиска литературы

Систематический поиск научной литературы был проведен с использованием поисковых систем PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar по ключевым фразам с включением операторов «и» и «или»: «flaxseed cyclic peptides», «cyclolinopeptides», «extraction of cyclic peptides from flaxseed», «flaxseed orbitides», «linusorbs», «identification of cyclic peptides from flaxseed».

2.2. Критерии включения/исключения

Исследования были сгруппированы по тематическим областям обзора, статьи исключались на основании предварительного анализа названия и аннотации.

Критерии включения:

- 1) опубликованные научные статьи;
- 2) проиндексированный источник;
- 3) тематика статей — исследование экстракции, разделения и идентификации циклических пептидов льна;
- 4) включение статей, опубликованных ранее 2015 г., возможно в случае отсутствия новых источников по заданным критериям поиска;
- 5) преимущественно зарубежные источники.

Критерии исключения:

- 1) статьи, опубликованные ранее 2001 г., за исключением общепризнанных;
- 2) тезисы докладов конференций.

Были рассмотрены полные тексты статей, соответствующих критериям поиска. Авторы независимо друг от друга провели анализ отобранных источников на предмет соответствия исследований критериям включения/исключения. Большинство используемых источников было опубликовано не ранее 2015 года.

3. Результаты и обсуждение

В исследовании [17] растительные циклические пептиды на основе их структуры и распределения в растениях были систематизированы в структурную классификацию, включающую два класса, пять подклассов и восемь типов (Рисунок 2).

Согласно исследованию [2], ЦП льняного масла были классифицированы как представители «гомомоноциклопептиды VI типа растений семейства Гвоздичные». Циклические пептиды из льняного семени нумеруют по дате их открытия, при этом каждому вновь открытому пептиду приписывалась следующая буква алфавита, например CLA (1), CLB (2), CLC (3) и т. д. Первый ЦП из льняного масла был выделен в 1959 году [18]. С тех пор подходы к экстракции ЦП из льна и продуктов его переработки модифицировались и развивались. Основные ЦП, обнаруженные в льняном масле, представлены в Таблице 1 [2].

3.1. Методы экстракции и разделения циклических пептидов

Благодаря широкому разнообразию свойств, присущих ЦП, они могут использоваться в качестве физиологически функциональных пищевых ингредиентов. Для этого необходимы экономически эффективные и безопасные методы экстракции. Многие проведенные исследования были сосредоточены на анализе биологической активности и характеристике ЦП, при этом процесс их экстракции, в частности безопасными растворителями, зачастую игнорируется. Экстракция и разделение ЦП остаются сложной задачей, особенно из-за нестабильности большинства соединений [9]. Химический состав и биологическая активность ЦП, полученных разными способами,

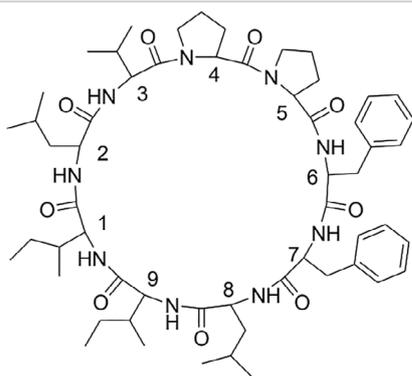


Рисунок 1. Структура циклического пептида А (CLA)

Figure 1. Structure of cyclic peptide A (CLA)



Таблица 1. Общая номенклатура ЦП, содержащихся в льняном семени и продуктах его переработки
 Table 1. General nomenclature of CLPs contained in flaxseed and its processed products

Порядок	Новое обозначение	Первое название	Последовательность аминокислот	Молекулярная масса (Да)	Источник
1	[1-9-NαC]-CLA	CLA	Иле-Лей-Вал-Про-Фен-Фен-Лей-Иле	1040,34	[18,19]
2	[1-9-NαC]-CLB	CLB	Мет-Лей-Иле-Про-Про-Фен-Фен-Вал-Иле	1058,38	[20,21]
3	[1-9-NαC], [1-MetO]-CLB	CLC	Мсо-Лей-Иле-Про-Про-Фен-Фен-Вал-Иле	1074,38	[21]
4	[1-9-NαC], [1-MetO ₂]-CLB	CLK	Мсн-Лей-Иле-Про-Про-Фен-Фен-Вал-Иле	1090,38	[22,23]
5	[1-8-NαC]-CLD	CLD', CLK, CLO	Мет-Лей-Лей-Про-Фен-Фен-Три-Иле	1048,34	[15,24,25]
6	[1-8-NαC], [1-MetO]-CLD	CLD	Мсо-Лей-Лей-Про-Фен-Фен-Три-Иле	1064,34	[21]
7	[1-8-NαC], [1-MetO ₂]-CLD	1-Msn-CLD	Мсн-Лей-Лей-Про-Фен-Фен-Три-Иле	1084,34	[22]
8	[1-8-NαC]-CLE	CLE', CLJ, CLP	Мет-Лей-Вал-Фен-Про-Лей-Фен-Иле	961,26	[15,24,25]
9	[1-8-NαC], [1-MetO]-CLE	CLE	Мсо-Лей-Вал-Фен-Про-Лей-Фен-Иле	977,26	[21,26]
10	[1-8-NαC], [1-MetO ₂]-CLE	CLJ	Мсн-Лей-Вал-Фен-Про-Лей-Фен-Иле	993,26	[23]
11	[1-8-NαC]-CLF	CLF, CLL	Мет-Лей-Мет-Про-Фен-Фен-Три-Вал	1051,50	[24,25]
12	[1-8-NαC], [3-MetO]-CLF	CLI	Мет-Лей-Мсо-Про-Фен-Фен-Три-Вал	1068,35	[23]
13	[1-8-NαC], [1-MetO]-CLF	(Mso)-CLP-3	Мсо-Лей-Мет-Про-Фен-Фен-Три-Вал	1068,35	[27]
14	[1-8-NαC], [1,3-MetO]-CLF	CLF	Мсо-Лей-Мсо-Про-Фен-Фен-Три-Вал	1084,35	[26]
15	[1-8-NαC]-CLG	CLG, CLM	Мет-Лей-Мет-Про-Фен-Фен-Три-Иле	1066,38	[24–26]
16	[1-8-NαC], [3-MetO]-CLG	CLN	Мет-Лей-Мсо-Про-Фен-Фен-Три-Иле	1082,38	[24]
17	[1-8-NαC], [1-MetO]-CLG	CLH	Мсо-Лей-Мет-Про-Фен-Фен-Три-Иле	1082,38	[23]
18	[1-8-NαC], [1,3-MetO]-CLG	CLG	Мсо-Лей-Мсо-Про-Фен-Фен-Три-Иле	1098,38	[23]
19	[1-9-NαC]-CLQ	[1-9-NαC]-CLQ	Мет-Лей-Лиз-Про-Фен-Фен-Фен-Три-Иле	1210,53	[15]
20	[1-9-NαC], [1-MetO]-CLQ	[1-9-NαC], [1-MetO]-CLQ	Мсо-Лей-Лиз-Про-Фен-Фен-Фен-Три-Иле	1226,52	[15]
21	[1-9-NαC]-CLR	[1-9-NαC]-CLS	Гли-Иле-Про-Про-Фен-Три-Лей-Тре-Лей	1025,24	[15]

Примечание: Мет — метионин, Лей — лейцин, Иле — Изолейцин, Фен — фенилаланин, Три — триптофан, Вал — Валин, Про — пролин, Гли — глицин, Тре — Треонин, Мсо — S-оксид метионина, Мсн — S-S-диоксид метионина.

могут значительно различаться. Это связано с возможным разрушением или окислением компонентов, например, метионина. В этой связи множество авторов стремилось не только экстрагировать как можно больше ЦП из льна и его компонентов (масла, семян, жмыха и т. д.), но и разделить их между собой. Существующие методы экстракции и разделения ЦП представлены в Таблице 2.

Рассматриваемые методы применяются в основном для дальнейшей идентификации ЦП в составе исследуемых образцов, а также для извлечения отдельных соединений и их использования в качестве стандартов. В большинстве случаев на первом этапе проводят экстракцию, однако в данных экстрактах могут содержаться триглицериды и другие компоненты, поэтому дополнительно проводят

хроматографическое разделение. Примечательно, что в качестве растворителей обычно используют непищевые элюенты, например, метанол и ацетонитрил.

В исследовании [24] проводили экстракцию из льняного семени с помощью ацетона. Льняное семя измельчали и экстрагировали в ацетоне (1:50). Экстракт выпаривали под вакуумом, полученное масло растворяли в метаноле, содержащем гидроксид натрия, и оставляли на 1 час для гидролиза большей части липидов. Метанольную смесь дважды экстрагировали гексаном и выпаривали под вакуумом. Остаток распределяли между водой и этилацетатом, слой органики смывали водой и выпаривали. Осадок использовали в дальнейших экспериментах.

Таблица 2. Методы экстракции и разделения ЦП

Table 2. Methods of extraction and separation of CLPs

Цель	Растворители и реактивы	Метод	Адсорбент	Источник
Экстракция	Гексан, этилацетат, этанол, метанол, гидрокарбонат натрия, дихлорметан	Твердофазная экстракция	Силикагель 60 (размер частиц 40–63 мкм)	[28]
	Ацетон, гексан, этилацетат, метанол, дихлорметан	Твердофазная экстракция	Силикагель 60 (размер частиц 40–63 мкм, 230–400 меш)	[29]
	Гексан, этилацетат, метанол, дихлорметан	Твердофазная экстракция	Силикагель (500 мг)	[30]
	Этилацетат	Твердофазная экстракция	Силикагель 60	[31]
	Ацетон, метанол, гексан, деионизованная вода, этилацетат, гидроксид натрия	Экстракция в системе твердое вещество – жидкость, жидкостная экстракция	–	[24]
	Метанол	Экстракция в системе твердое вещество – жидкость (с ультразвуком)	–	[32]
	Метанол, деионизованная вода	Экстракция в системе твердое вещество – жидкость	–	[15]
	Метанол, деионизованная вода	Экстракция в системе твердое вещество – жидкость	–	[33]
	Метанол, этанол, деионизованная вода	Жидкостная экстракция (с ультразвуком)	–	[9]
	Ацетон, петролейный эфир, этанол, метанол, гексан, деионизованная вода	Экстракция в системе твердое вещество – жидкость, жидкостная экстракция	–	[34]
	Этанол, деионизованная вода	Жидкостная экстракция	–	[31]
	Гексан, этилацетат, метанол, дихлорметан	Препаративная флеш-хроматография	Силикагель (300–400 меш)	[35]
	Разделение	Метанол, вода, хлороформ, ацетонитрил	Препаративная флеш-хроматография	Полимерный адсорбент (неполярный сополимер стирол-дивинил-бензольной адсорбирующей смолы, сферические частицы 0,5 мм)
Этилацетат, гексан, метанол, дихлорметан, деионизованная вода, ацетонитрил		Препаративная флеш-хроматография	Силикагель (300–400 меш)	[36]
Деионизованная вода, ацетонитрил		ВЭЖХ	Силикагель с привитыми C18 группами, размер частиц 5 мкм)	[37]
Гексан, этилацетат, метанол, дихлорметан, раствор бикарбоната натрия, соляной раствор		Препаративная флеш-хроматография	Силикагель 60 (размер частиц 40–63 мкм)	[12]
Ацетонитрил, изопропанол, метанол, диизопропиловый эфир, гексан, ацетон		Твердофазная экстракция, Препаративная флеш-хроматография; ВЭЖХ	Силикагель 60 (70–230 меш); силикагель с привитыми C18 группами (размер частиц 4 и 1,9 мкм)	[32]
Метанол, хлороформ, деионизованная вода, ацетонитрил		Препаративная флеш-хроматография; ВЭЖХ	Полимерный адсорбент (неполярный сополимер стирол-дивинил-бензольной адсорбирующей смолы, сферические частицы 0,5 мм); силикагель; силикагель с привитыми C18 группами (размер частиц 10 мкм)	[38]
Метанол, деионизованная вода		ВЭЖХ	Силикагель с привитыми C18 группами (размер частиц 5 мкм, 300 Å; 3 мкм, 110 Å; 5 мкм, 100 Å; 2,6 мкм, 100 Å)	[9]
Этиловый эфир уксусной кислоты, н-гептан, диэтиловый эфир, петролейный эфир, деионизованная вода, ацетонитрил		Твердофазная экстракция; ВЭЖХ	Силикагель, силикагель с привитыми C18 группами	[39]
Гексан, этилацетат, метанол, дихлорметан, деионизованная вода, ацетонитрил		Препаративная флеш-хроматография; ВЭЖХ	Силикагель 60 (200–400 меш); силикагель с привитыми фенилгексил группами (размер частиц 2,6 и 5 мкм)	[40]
Гексан, этилацетат, метанол, дихлорметан, деионизованная вода, ацетонитрил		Твердофазная экстракция; ВЭЖХ	Силикагель; силикагель с привитыми C18 группами (размер частиц 5 мкм)	[30]

Автором Ванг [31] показана возможность экстракции ЦП масла, сорбированных на силикагеле, охлажденным этилацетатом. Для проведения экстракции свежееотжатое масло смешивали с силикагелем (25:1) и перемешивали. После отстаивания масло декантировали, а силикагель загружали в воронку Бюхнера и под вакуумом из полученной суспензии (силикагель: масло) удаляли остатки масла. Силикагель последовательно четыре раза промывали охлажденным этилацетатом (фракции 1–4) и дважды этанолом, для извлечения всех оставшихся ЦП (фракции 5 и 6). Все собранные фракции упаривали в вакууме. К маслосодержащим остаткам 1 и 2 фракций добавляли ме-

танол для извлечения ЦП. Полученные два образца затем выпаривали в вакууме и восстанавливали в метаноле. Остатки всех остальных четырех фракций растворяли в метаноле после удаления растворителя. Первые две фракции (смытые этилацетатом) содержали наибольшее количество слабо полярных пептидов. Чтобы до конца смыть сорбированные на силикагеле пептиды, использовали этанол как более полярный по сравнению с этилацетатом растворитель. Наибольший процент выхода ЦП выявлен для фракции 6 (первый смыв этанолом) и составляет 31%, далее идет фракция 1 (первый смыв этилацетатом), выход которой составил 23% от общего выхода ЦП на все 6 фракций.

Бернетт с соавторами [28] экстрагировали ЦП из льняного масла путем адсорбции масла на силикагеле с последующим элюированием полярными растворителями. В частности, льняное масло смешивали с силикагелем и после отстаивания декантировали. Взвесь остатка силикагеля, содержащего ЦП, смешивали с н-гексаном и переносили в воронку из спеченного стекла для удаления растворителя путем фильтрации. Извлеченный твердый остаток дополнительно экстрагировали н-гексаном, чтобы удалить как можно больше масла из силикагеля, содержащего ЦП. Безмасляный остаток последовательно экстрагировали 50% смесью (об./об.) этилацетата в н-гексане и этанолом. Аликвоту каждого фильтрата концентрировали в вакууме, ресуспендировали в метаноле и фильтровали для анализа на ВЭЖХ с диодно-матричным детектором. В том же направлении двигались и авторы работы [12], использовавшие силикагель с предварительно посаженными ЦП и экстракцию н-гексаном при перемешивании. Суспензию растворителя и силикагеля помещали в фильтрующую воронку и удаляли растворитель под вакуумом. Полученный твердый остаток дополнительно экстрагировали н-гексаном, чтобы удалить как можно больше масла из силикагеля, содержащего ЦП. Затем обезжиренный остаток последовательно экстрагировали 50% (об./об.) этилацетатом в н-гексане и 10% (об./об.) метанолом в дихлорметане. Полученный экстракт содержал 5 ЦП, растворитель удаляли выпариванием на роторном испарителе для получения сырого экстракта, который растворяли в этилацетате и последовательно экстрагировали насыщенным раствором бикарбоната натрия и соляным раствором. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, затем фильтровали и концентрировали для получения очищенного от растворителя экстракта ЦП.

В работе авторов [30] льняное семя измельчали и пропускали через сито. Молотые семена льна смешивали с н-гексаном, а затем перемешивали blenderом. После экстракции смесь центрифугировали. Супернатант выпаривали при 40 °С с использованием роторного испарителя для получения образца масла. Остаток снова экстрагировали, как указано выше. До проведения анализа пробы хранили в герметичной стеклянной посуде при температуре минус 20 °С. Колонку для твердофазной экстракции с силикагелем использовали для выделения ЦП из экстрагированного гексаном масла. Колонку уравнивали гексаном, после чего навеску масла смешивали с гексаном и загружали. Колонку элюировали при обычном давлении по методу [29] с небольшой модификацией. Пять элюентов возрастающей полярности представляли собой 100% гексан, 20% этилацетата в гексане, 50% этилацетата в гексане, 100% этилацетата и 10% метанола в дихлорметане. Две обогащенные пептидами фракции (100% этилацетат и 10% метанол в дихлорметане) объединяли и удаляли растворитель на роторном испарителе при 40 °С. Остаток повторно растворяли в метаноле и фильтровали перед анализом.

В исследовании [40] получали «грубый» экстракт ЦП. Авторы смешивали масло с силикагелем (5:1) и наносили на стеклянную колонку, в которой в качестве сорбента использовали силикагель (100 см³). Фракция, не содержащая пептиды (в основном триацилглицерины), была элюирована под действием гравитационных сил. Далее применяли флэш-хроматографию, элюируя образец несколькими типами растворителей: 100% гексан, 20% этилацетата в гексане, 50% этилацетата в гексане, 100% этилацетат (фракция А) и 10% метанола в дихлорметане (фракция Б). Фракции А и Б, содержащие ЦП, объединяли и концентрировали на роторном испарителе при 40 °С. Полученную сухую смесь растворяли в метаноле и центрифугировали. Отбирали супернатант, концентрировали и хранили для дальнейшей хроматографической очистки. Установлено, что с помощью данного метода из 500 мл масла можно получить до 550 мг фракции, обогащенной ЦП. Согласно полученным данным, наиболее эффективным растворителем является метанол, увеличивший выход фракции ЦП с 10 до 90 мг/мл. Отмечается, что эффективным методом извлечения ЦП является поэтапный смыв сорбируемых на силикагеле компонентов элюентами возрастающей полярности (до пяти стадий). Такой подход позволяет элюировать практически все ЦП, присутствующие в масле, однако может привести к снижению общего выхода конечного продукта.

В работе [36] ЦП экстрагировали из масла согласно следующей методике: навеску льняного масла помещали в пробирку и растворяли в гексане (1:10). Затем добавляли 70% смесь метанол/вода и перемешивали на вортке в течение 30 минут для экстракции пептидов. После экстракции смесь центрифугировали и отбирали супернатант. Затем повторяли экстракцию, собранные супернатанты объединяли, выпаривали, после чего растворяли в метаноле для последующего анализа.

Бернетт с соавторами [33] для выделения ЦП использовали следующую методику: семена взвешивали и измельчали, после чего выдерживали с метанолом и водой (70:30, об./об.) при соотношении семян к растворителю 1:10 (об./об.). После 2 часов термостатирования при 60 °С образец кратковременно встряхивали, а затем центрифугировали. Полученные супернатанты фильтровали перед анализом ВЭЖХ с диодно-матричным детектором (HPLC DAD). Одновременно исследовали влияние степени измельчения и температуры на эффективность экстракции ЦП. Семена дегуммировали (удаляли нецеллюлозные ткани) в соотношении семя: вода 1:10 (мас./об.), часть семян измельчали, а вторую часть оставляли в неизменном виде. Измельченные и цельные семена экстрагировали, как указано выше, используя два условия экстракции: термостатирование в течение 2 часов, либо при температуре окружающей среды, либо при 60 °С, после чего экстракты обрабатывали и анализировали.

Известно об экстракции ЦП напрямую из льняного семени [15]. Семена замораживали с помощью жидкого азота и измельчали. Экстракцию ЦП из измельченных семян осуществляли 70% метанолом при 60 °С, после чего экстракт фильтровали и анализировали. В полученном экстракте было идентифицировано 19 ЦП.

Авторы работы [32] использовали ультразвук для экстракции ЦП из масла и шрота льна. Льняное масло или шрот взвешивали в пробирке, добавляли метанол (1:10) и перемешивали на вортке с последующей обработкой ультразвуком. Полученную смесь центрифугировали, отбирали супернатант и затем анализировали методом ВЭЖХ с масс-спектрометрией (HPLC–MS). Метанольная экстракция с дополнительной обработкой смеси ультразвуком обеспечила выход ЦП на уровне более 90%. Авторы показали, что используемый метод не вызывал окисления ЦП. Установлено, что метод с применением ультразвука показал хорошую точность и воспроизводимость с извлечением от 90 до 102%.

В исследовании [9] ЦП выделяли из льняного масла с помощью жидкостной экстракции, либо за счет экстракции метанолом с ультразвуковой обработкой. Жидкостную экстракцию проводили путем смешивания льняного масла со смесью метанол/этанол + вода (1:1) с последующим перемешиванием на вортке и центрифугированием. Отбирали супернатант для дальнейшего анализа. Авторы также применяли экстракцию метанолом при обработке ультразвуком. Льняное масло добавляли к метанолу (1:1), перемешивали на вортке и обрабатывали ультразвуком. Полученную смесь центрифугировали, отбирали супернатант и анализировали. Согласно результатам исследования, наиболее эффективным способом экстракции была жидкостная экстракция смесью метанол-вода.

Кай с соавторами [34] предложили двухстадийный метод экстракции ЦП из жмыха льняного семени. В кожуре льняного семени содержится всего 18,8% от общего количества ЦП, содержащихся в семени. Это указывает на то, что большая часть ЦП концентрируется в семядоле. Измельченный и просеянный жмых экстрагировали 95% этанолом. Этанол удаляли вакуумной фильтрацией с использованием роторного испарителя. Далее смесь растворяли в н-гексане и водном растворе метанола (60%). Смесь перемешивали на вортке и центрифугировали. Затем нижний слой (метанольную фракцию) отбирали, к верхнему слою повторно добавляли водный раствор метанола и повторяли процедуру экстракции еще два раза. Отобранные метанольные фракции объединяли и концентрировали. Метанольный экстракт переносили в центрифужную емкость и добавляли дистиллированную воду в соотношении 5:1 (по весу). Смесь перемешивали на вортке и центрифугировали. Супернатант, который содержал в основном фосфолипиды, удаляли, полученный осадок считали очищенным экстрактом ЦП. Установлено, что при использовании 95% этанола для предварительной экстракции выход ЦП в конечном экстракте составлял более 70%.

В представленных исследованиях полученные экстракты, содержащие смесь циклических пептидов, либо высушивали для дальнейшего использования, либо проводили последующее разделение/очистку с помощью хроматографии.

Для разделения ЦП Матсумото с соавторами [23] наносили предварительно подготовленный метанольный экстракт на хроматографическую колонку Dianon HP-20 (полимерный адсорбент), используя градиентную систему вода-метанол (0:1–1:0). Фракцию, смываемую метанолом, наносили на хроматографическую колонку с силикагелем в градиентной системе хлороформ-метанол (1:0–0:1). С применением ВЭЖХ с обращенной фазой (HPLC ODS) 15% метанольную фракцию смывали с колонки 40–60% ацетонитрилом и получали экстракты ЦП: CLF (0,0008%), CLG (0,0024%), CLH (0,0002%) и CLI (0,00007%). Для того чтобы выделить отдельный циклический пептид (CLF), аналитическим методом воспользовались авторы работы [38], в которой

метанольный экстракт был фракционирован с помощью колонки HP-20, содержащей полимерный адсорбент. Фракция, элюированная 100% метанолом, была в дальнейшем фракционирована на HPLC ODS с помощью колонки с силикагелем. Очистку ЦП (CLF) проводили путем рекристаллизации (степень чистоты более 97%).

В работе [12] экстракт, полученный по методике, описанной ранее, подвергали колоночной флеш-хроматографии и проводили последовательное элюирование системой растворителей: (а) 80% этилацетат в гексане; (б) 100% этилацетат; (в) 2,5% метанола в дихлорметане; (г) 5% метанола в дихлорметане; (д) 7,5% метанола в дихлорметане и (е) 10% метанола в дихлорметане. В результате разделения получали три основные фракции, содержащие ЦП. Масса конечной фракции колебалась от 2,40 г до 4,32 г.

Авторы [36] проводили разделение в препаративном жидкостном хроматографе низкого давления путем последовательного элюирования пятью растворителями с возрастающей полярностью. Используемые элюенты: 100% гексан (фракция А), 20% этилацетат в гексане (фракция В), 50% этилацетат в гексане (фракция С), 100% этилацетат (фракция D) и 10% метанол в дихлорметане (фракция E). Фракции D и E объединяли и удаляли растворитель с помощью роторного вакуумного испарителя с образованием светло-желтого порошка (1,20 г). Смесь ЦП далее разделяли с помощью препаративной жидкостной хроматографии высокого давления с использованием колонки C18. Подвижная фаза состояла из деионизированной воды и ацетонитрила. Фракции отбирали и концентрировали с удалением растворителя.

В исследовании [30] проведено разделение ЦП с помощью ВЭЖХ, оснащенной диодно-матричным детектором (HPLC-DAD) и колонкой C18. Подвижная фаза состояла из деионизированной воды и ацетонитрила. Проведенная количественная оценка наличия ЦП в 13 сортах льна показала 14 идентифицированных соединений, содержание которых варьируется между сортами в диапазоне 270–440 мкг/г масла.

Авторами [37] для разделения ЦП была использована HPLC-DAD и колонка C18. Подвижными фазами были деионизированная вода (А) и ацетонитрил (В). В результате разделения были получены 12 ЦП. Показано, что содержание ЦП в экстракте может достигать 631,41 мкг/г масла (при использовании горячего прессования).

В работе [35] описано разделение ЦП из масла льна с помощью препаративной жидкостной хроматографии низкого давления. Масло растворяли в смеси этилацетат/гексан (1/19) и наносили на стеклянную хроматографическую колонку с силикагелем. Разделение проводили посредством последовательного смыва пятью растворителями: 100% гексан, 20% раствор этилацетата в гексане, 50% раствор этилацетата в гексане, 100% этилацетат и 10% раствор метанола в дихлорметане. Отбирали фракции, получаемые последними двумя растворителями, затем растворители удаляли на роторном испарителе до получения сухого порошкообразного экстракта. Содержание ЦП в полученных экстрактах не указано.

После предварительно проведенной экстракции авторы [40] выполняли разделение. Разработан практический метод на основе препаративной ВЭЖХ для одновременного выделения 12 типов ЦП. Дополнительно проводили аналитическую ВЭЖХ с диодно-матричным детектором (HPLC-PDA) и обращенно-фазовой колонкой. Оптимальные условия: начальное соотношение ацетонитрила к воде 40%, конечное соотношение ацетонитрила 80%. Полученные 12 ЦП также состояли из некоторых окисленных промежуточных и восстановленных форм ЦП, которые обычно выходят с другими соединениями. Чистота ЦП составляла более 95%.

В исследовании [9] было проведено разделение полученной смеси ЦП с использованием ВЭЖХ и колонок Grace™ Vydac, Gemini™ C18 и Kinetex™ C18, различающихся размером частиц и порами. Полное разделение 12 ЦП было достигнуто быстрым и экономичным методом ВЭЖХ на колонке Kinetex™ C18 с использованием метанола/воды в качестве элюента. Лучшее разделение наблюдалось при применении колонок Gemini™ и Kinetex™.

Брюль с соавторами [39] провели хроматографическое разделение ЦП с использованием ВЭЖХ с колонкой RP-18e (силикагель с привитыми C18 группами). Элюирование начинали со смеси 60% воды и 40% ацетонитрила, которую заменяли на 35% воды и 65% ацетонитрила, затем на 25% воды и 75% ацетонитрила и далее до 100% ацетонитрила. Ввиду отсутствия эталонных стандартных веществ цель получения количественных результатов не ставилась.

В работе [32] после проведенной экстракции, описанной выше, было выполнено последующее разделение ЦП. Установлено, что наилучшее разделение ЦП льняного семени было достигнуто с использованием колонки Kinetex C18, что позволило разделить ЦП: CLA и CLJ, а также CLN и CLD. Всего удалось разделить 14 ЦП.

Несмотря на большое количество представленных методов, извлечение ЦП с применением растворителей, разрешенных для использования в пищевой промышленности, обнаружено только в диссертации Ванга [31]. Суть экстракции заключалась в следующем: на первом этапе льняное масло добавляли к 100% этанолу (1:1) в делительной воронке и встряхивали для смешивания двух фаз. Собирали верхний слой раствора в воронке (этанольный экстракт). Аналогично масло экстрагировали 50, 60, 70, 80 и 90% водным раствором этанола. Определено, что использование 70 и 80% водного раствора этанола с объемным соотношением растворителя к маслу 0,25:1 приводило к наиболее высокому выходу ЦП из масла. Оптимальным было принято использование 70% раствора этанола. Примечательно, что авторам удалось успешно масштабировать данную методику от 160 мл до 4200 литров масла. Степень извлечения ЦП составляла 61,2–92,0% в зависимости от используемых объемов масла.

Согласно представленным результатам, для извлечения ЦП из льняного семени и продуктов его переработки обычно используют экстракцию в системе «твердое вещество — жидкость» или «жидкость — жидкость» (измельченное льняное семя или масло и органический растворитель) и «твердофазную» экстракцию (льняное масло и силикагель). В большинстве случаев в качестве растворителей используют метанол, гексан, этилацетат, дихлорметан, ацетонитрил и деионизованную воду. Такой подход позволяет с высокими выходами извлечь ЦП из исходного сырья, однако не лишен недостатков. Основным недостатком является отсутствие селективности при извлечении для ЦП — одновременно в раствор/на силикагель переходят близкие по химическим свойствам матричные компоненты. Для решения этой проблемы применяют дополнительные стадии очистки и концентрирования ЦП — препаративную флеш-хроматографию на силикагеле или полимерных адсорбентах. Так, например, в случае силикагеля, за счет постадийного увеличения полярности в системе растворителей гексан-этилацетат удаётся практически полностью избавиться от полярных примесей. Финальной стадией очистки смеси ЦП или получения индивидуальных стандартов является высокоэффективная жидкостная хроматография. Здесь в качестве неподвижной фазы наиболее часто используют неполярные модифицированные сорбенты-октадецильные (C18) и фенилгексилные функциональные группы. Последние, в свою очередь, позволяют добиться высочайшей степени разделения и проводить качественные и количественные измерения ЦП в семени льна.

3.2. Методы идентификации циклических пептидов

Для получения ЦП из семян льна или продуктов его переработки существует необходимость поиска методов идентификации исследуемых компонентов. Нами было обнаружено множество различных подходов, позволяющих идентифицировать ЦП в составе льна. Так, в исследовании Матсумото [23] для идентификации ЦП использовали ИК- и УФ- спектроскопию, ¹H и ¹³C ЯМР, масс-спектрометрию (FAB-MS), тонкослойную (TLC) и высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC), что позволило обнаружить 4 ЦП (CLF-CLJ). В исследовании [40] чистоту выделенных фракций определяли с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором HPLC-PDA (длина волны 214 нм) и гибридного масс-спектрометра высокого разрешения (ESI-Q-TOF-MS/MS), что позволило успешно идентифицировать до 12 типов ЦП. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором HPLC-DAD (длина волны 214 нм) использовали в исследовании [34]. Авторам удалось идентифицировать 12 различных ЦП, общая концентрация которых варьировалась от 385,63 до 1268,88 мг/кг в зависимости от анализируемого сорта семян. В работе [29] авторы использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию с диодно-матричным детектором HPLC-DAD (длины волн 214, 244 и 280 нм), что позволило количественно измерить с использованием внутреннего стандарта в диапазоне 5–500 мкг/мл 6 различных циклических пептидов. Подобную методику использовали авторы [38] для идентификации циклического пептида F (CLF). В исследовании Окинью-Овити [15] определение ЦП осуществляли с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодным матричным детектором (HPLC-DAD) и гибридного масс-спектрометра высокого разрешения (ESI-Qq-TOF-MS) в tandemном режиме (ESI-Qq-TOF-MS/MS). В результате авторами были обнаружены три ЦП. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором HPLC-PDA (длина волны 210 нм) и масс-спектрометра высокого разрешения (ESI-Q-Orbitrap-MS) в tandemном режиме (ESI-Q-Orbitrap-MS/MS), позволило авторам [32] идентифицировать и количественно определить в диапазоне 1,5–1000 мкг/мл 14 различных ЦП (CLA, CLB, CLC, CLD, CLE,

CLF, CLG, CLH, CLI, CLJ, CLK, CLL, CLM, CLN). Аналогичная методика применялась авторами [9], благодаря чему было идентифицировано в общей сложности 15 ЦП (CLA-CLG, CLI, CLK-CLP, CLT). Стефанович [24] идентифицировал ЦП с использованием гибридного масс-спектрометра (ESI-QqQ-MS) в тандемном режиме (ESI-QqQ-MS/MS), что позволило успешно обнаружить наличие 14 ЦП. В работе [28] авторами для обнаружения ЦП использовались ^1H ЯМР, высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектором HPLC-DAD (диапазон длин волн 190–300 нм) и масс-спектрометрия высокого разрешения в тандемном режиме (ESI-Q-TOF-MS/MS). Подобный подход позволил подтвердить пять ЦП. В работе [41] обнаружили один циклический пептид (CLE) с помощью ИК-спектроскопии, ^1H и ^{13}C ЯМР, высокоэффективной жидкостной хроматографии HPLC-DAD (длина волны 210 нм) и масс-спектрометрии высокого разрешения (ESI-Q-TOF-MS). Согласно утверждению авторов, идентифицированный циклический пептид (CLE) является ключевым горьким соединением, содержащимся в хранящемся льняном масле. Зенг с соавторами [37] применяли высокоэффективную жидкостную хроматографию HPLC-DAD (длина волны 214 нм) и масс-спектрометрию высокого разрешения (ESI-Q-TOF-MS). Среди идентифицированных ЦП в основном были представлены пептиды, содержащие метионин, такие как CLB, CLA, CLP и CLO, имеющие более низкую полярность, чем другие ЦП. Остальные ЦП содержали S-S-диоксид метионина. В исследовании [30] авторы использовали круговой дихроизм, ИК-спектроскопию, ЯМР, высокоэффективную жидкостную хроматографию HPLC-DAD (длина волны 214 нм) и тандемную масс-спектрометрию высокого разрешения (ESI-Q-TOF-MS/MS) для идентификации и количественного определения ЦП в 13 образцах льняного масла. Всего идентифицировано и количественно определено 14 различных ЦП, концентрации которых варьировались от 273 ± 3 до 434 ± 7 мкг/г масла. В работе [16] авторами был проведен анализ на-

личия ЦП с применением высокоэффективного жидкостного хроматографа, снабженного УФ-ВИД детектором HPLC-VWD (длина волны 214 нм), и при помощи гибридных масс-спектрометров высокого разрешения (MALDI-Q-TOF-MS и ESI-QqQ-TOF-MS).

Таким образом, для идентификации ЦП льна в основном используют следующие инструментальные методы анализа: ИК-спектроскопию, ЯМР, высокоэффективную жидкостную хроматографию с детектором типа диодная матрица (HPLC-PDA/DAD), тандемную масс-спектрометрию высокого разрешения с ионизацией электрораспылением (ESI-HRMS/MS). Причем стоит отметить, что для качественного и количественного определения ЦП достаточным является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектором типа диодная матрица на длине волны 214 нм. В свою очередь, масс-спектральные методы, в том числе тандемная масс-спектрометрия, позволяют подтвердить качественный состав и установить аминокислотную последовательность ЦП. Авторами [6] отмечено, что тандемная масс-спектрометрия высокого разрешения с источником ионизации, таким как электроспрей (ESI), предпочтительна для качественного анализа ЦП из-за простоты подготовки проб, высокой чувствительности и широкого динамического диапазона.

4. Выводы

В результате проведенного обзора показаны существующие принципы идентификации циклических пептидов, методы их экстракции и разделения. Учитывая, что в большинстве имеющихся методов используются токсичные растворители, применение выделенных ЦП возможно только в непищевых целях. В связи с этим существует необходимость разработки методов экстракции и разделения этих биологически активных веществ растворителями, разрешенными для применения в пищевой промышленности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2022). FAO-STAT. Crops and livestock products. Retrieved from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> Accessed August 30, 2024.
- Shim, Youn Young, Gui, B., Arnison, P. G., Wang, Y., Reaney, M. J. T. (2014). Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 38(1), 5–20. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.03.011>
- Bekhit, A. E.-D. A., Shavandi, A., Jodjaja, T., Birch, J., Teh, S., Mohamed Ahmed, I. A. et al. (2018). Flaxseed: Composition, detoxification, utilization, and opportunities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 129–152. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.11.017>
- Dzuvor, C. K. O., Taylor, J. T., Acquah, C., Pan, S., Agyei, D. (2018). Bioprocessing of functional ingredients from flaxseed. *Molecules*, 23(10), Article 2444. <https://doi.org/10.3390/molecules23102444>
- Yang, J., Wen, C., Duan, Y., Deng, Q., Peng, D., Zhang, H. et al. (2021). The composition, extraction, analysis, bioactivities, bioavailability and applications in food system of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) oil: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 118(Part A), 252–260. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.025>
- Shim, Y. Y., Song, Z., Jadhav, P. D., Reaney, M. J. T. (2019). Orbitides from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.): A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology*, 93, 197–211. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.007>
- Saharan, R., Kumar, S., Khokra, S. L., Singh, S., Tiwari, A., Tiwari, V. et al. (2022). A comprehensive review on therapeutic potentials of natural cyclic peptides. *Current Nutrition and Food Science*, 18(5), 441–449. <https://doi.org/10.2174/15740131518666220114153509>
- Xiong, Q., Lee, Y.-Y., Li, K.-Y., Li, W.-Z., Du, Y., Liu, X. et al. (2022). Status of linusorbs in cold-pressed flaxseed oil during oxidation and their response toward antioxidants. *Food Research International*, 161, Article 111861. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111861>
- Fojnica, A., Leis, H.-J., Murkovic, M. (2022). Identification and characterization of the stability of hydrophobic cyclolinopeptides from flaxseed oil. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 903611. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.903611>
- Mueed, A., Madjirebaye, P., Shibli, S., Deng, Z. (2022). Flaxseed peptides and cyclolinopeptides: A critical review on proteomic approaches, biological activity, and future perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(46), 14600–14612. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06769>
- Fojnica, A., Gromilic, Z., Vranic, S., Murkovic, M. (2023). Anticancer potential of the cyclolinopeptides. *Cancers*, 15(15), Article 3874. <https://doi.org/10.3390/cancers15153874>
- Okinyo-Owiti, D. P., Burnett, P.-G. G., Reaney, M. J. T. (2014). Simulated moving bed purification of flaxseed oil orbitides: Unprecedented separation of cyclolinopeptides C and E. *Journal of Chromatography B*, 965, 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.06.037>
- Gui, B., Shim, Y. Y., Reaney, M. J. T. (2012). Distribution of cyclolinopeptides in flaxseed fractions and products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(35), 8580–8589. <https://doi.org/10.1021/jf3023832>
- Lang, T., Frank, O., Lang, R., Hofmann, T., Behrens, M. (2022). Activation spectra of human bitter taste receptors stimulated with cyclolinopeptides correspond-
- ing to fresh and aged linseed oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(14), 4382–4390. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c00976>
- Okinyo-Owiti, D. P., Young, L., Burnett, P.-G. G., Reaney, M. J. T. (2014). New flaxseed orbitides: Detection, sequencing, and ^{15}N incorporation. *Biopolymers*, 102(2), 168–175. <https://doi.org/10.1002/bip.22459>
- Lao, Y. W., Mackenzie, K., Vincent, W., Krokhot, O. V. (2014). Characterization and complete separation of major cyclolinopeptides in flaxseed oil by reversed-phase chromatography. *Journal of Separation Science*, 37(14), 1788–1796. <https://doi.org/10.1002/jssc.201400193>
- Tan, N.-H., Zhou, J. (2006). Plant cyclopeptides. *Chemical Reviews*, 106(3), 840–895. <https://doi.org/10.1021/cr040699h>
- Kaufmann, H. P., Tobschirbel, A. (1959). About an oligopeptide from flax seeds. *Chemische Berichte*, 92(11), 2805–2809. <https://doi.org/10.1002/cber.19590921122> (In German)
- Deng, S., Li, J., Luo, T., Deng, Z. (2022). Flaxseed cyclic peptide [1–9-NaC]-linusorb B3 (CLA) improves oxidative stability of flaxseed oil by chelating metal ions and intermediate oxidative products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(50), 15776–15786. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06102>
- Morita, H., Shishido, A., Matsumoto, T., Takeya, K., Itokawa, H., Hirano, T. et al. (1997). A new immunosuppressive cyclic nonapeptide, cyclolinopeptide B from *Linum usitatissimum*. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 7(10), 1269–1272. [https://doi.org/10.1016/s0960-894x\(97\)00206-0](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(97)00206-0)
- Morita, H., Shishido, A., Matsumoto, T., Itokawa, H., Takeya, K. (1999). Cyclolinopeptides B–E, new cyclic peptides from *Linum usitatissimum*. *Tetrahedron*, 55(4), 967–976. [https://doi.org/10.1016/s0040-4020\(98\)01086-2](https://doi.org/10.1016/s0040-4020(98)01086-2)
- Olivia C. (2013) High Throughput Screening of Flax (*Linum usitatissimum* L.) Cyclolinopeptides. Thesis Degree of Master of Science University of Saskatchewan, Saskatoon. Retrieved from <https://harvest.usask.ca/items/25362000-bf73-443d-80c4-22af6b940f57> Accessed August 21, 2024.
- Matsumoto, T., Shishido, A., Morita, H., Itokawa, N. K., Takeya, K. (2001). Cyclolinopeptides F–I, cyclic peptides from linseed. *Phytochemistry*, 57(2), 251–260. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00442-8](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00442-8)
- Stefanowicz, P. (2004). Electrospray mass spectrometry and tandem mass spectrometry of the natural mixture of cyclic peptides from linseed. *European Journal of Mass Spectrometry*, 10(5), 665–671. <https://doi.org/10.1021/ejms.657>
- Stefanowicz, P. (2001). Detection and sequencing of new cyclic peptides from linseed by electrospray ionization mass spectrometry. *Acta Biochimica Polonica*, 48(4), 1125–1129. <https://doi.org/10.18388/abp.2001.3877>
- Dahiya, R., Dahiya, S., Shrivastava, J., Fuloria, N. K., Gautam, H., Mourya, R. et al. (2021). Natural cyclic polypeptides as vital phytochemical constituents from seeds of selected medicinal plants. *Archiv Der Pharmazie – Chemistry in Life Sciences*, 354(4), Article 2000446. <https://doi.org/10.1002/ardp.202000446>
- Reaney, M. J., Jia, Y., Shen, J., Schock, C., Tyler, N., Elder, J. et al. (2008). Recovery of hydrophobic peptides from oils. Patent US No. 8383172.
- Burnett, P.-G. G., Jadhav, P. D., Okinyo-Owiti, D. P., Poth, A. G., Reaney, M. J. T. (2015). Glycine-containing flaxseed orbitides. *Journal of Natural Products*, 78(4), 681–688. <https://doi.org/10.1021/np5008558>
- Gui, B., Shim, Y. Y., Datla, R. S. S., Covello, P. S., Stone, S. L., Reaney, M. J. T. (2012). Identification and quantification of cyclolinopeptides in five flax-

- seed cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(35), 8571–8579. <https://doi.org/10.1021/jf301847u>
30. Zou, X.-G., Chen, X.-L., Hu, J.-N., Wang, Y.-F., Gong, D.-M., Zhu, X.-M. et al. (2017). Comparisons of proximate compositions, fatty acids profile and micronutrients between fiber and oil flaxseeds (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.06.001>
31. Wang, D. (2014). Extraction of Orbitides from Flaxseed. Thesis Degree of Master of Science University of Saskatchewan, Saskatoon. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10388/ETD-2014-02-1435> Accessed August 30, 2024.
32. Aladedunye, F., Sosinska, E., Przybylski, R. (2013). Flaxseed cyclolinopeptides: Analysis and storage stability. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(3), 419–428. <https://doi.org/10.1007/s11746-012-2173-0>
33. Burnett, P.-G. G., Olivia, C. M., Okinyo-Owiti, D. P., Reaney, M. J. T. (2016). Orbitide composition of the flax core collection (FCC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(25), 5197–5206. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02035>
34. Cai, Z.-Z., Xu, C.-X., Song, Z.-L., Li, J.-L., Zhang, N., Zhao, J.-H. et al. (2024). A two-step method of cyclolinopeptide (linusorb) preparation from flaxseed cake via dry-screening. *Food Chemistry*, 449, Article 139243. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139243>
35. Zou, X.-G., Li, J., Sun, P.-L., Fan, Y.-W., Yang, J.-Y., Deng, Z.-Y. (2020). Orbitides isolated from flaxseed induce apoptosis against SGC-7901 adenocarcinoma cells. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 71(8), 929–939. <https://doi.org/10.1080/09637486.2020.1750573>
36. Zou, X.-G., Hu, J.-N., Zhu, X.-M., Wang, Y.-F., Deng, Z.-Y. (2018). Methionine sulfone-containing orbitides, good indicators to evaluate oxidation process of flaxseed oil. *Food Chemistry*, 250, 204–212. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.030>
37. Zeng, J., Xiao, T., Ni, X., Wei, T., Liu, X., Deng, Z.-Y. et al. (2022). The comparative analysis of different oil extraction methods based on the quality of flaxseed oil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 107, Article 104373. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104373>
38. Kaneda, T., Nakajima, Y., Koshikawa, S., Nugroho, A. E., Morita, H. (2019). Cyclolinopeptide F, a cyclic peptide from flaxseed inhibited RANKL-induced osteoclastogenesis via downregulation of RANK expression. *Journal of Natural Medicines*, 73(3), 504–512. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01292-w>
39. Brühl, L., Bonte, A., N'Diaye, K., Matthäus, B. (2022). Oxidation of cyclo-lino peptides in linseed oils during storage. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 124(12), Article 2200137. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202200137>
40. Liu, X., Cai, Z.-Z., Lee, W. J., Lu, X.-X., Reaney, M. J. T., Zhang, J.-P. et al. (2021). A practical and fast isolation of 12 cyclolinopeptides (linusorbs) from flaxseed oil via preparative HPLC with phenyl-hexyl column. *Food Chemistry*, 351, Article 129318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129318>
41. Brühl, L., Matthäus, B., Fehling, E., Wiege, B., Lehmann, B., Luftmann, H. et al. (2007). Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7864–7868. <https://doi.org/10.1021/jf071136k>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Соболев Роман Владимирович — кандидат технических наук, инженер-исследователь, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: sobolevrv@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2166-006X * автор для контактов</p> <p>Соколов Илья Евгеньевич — научный сотрудник, лаборатория пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: sokolov.iliya1993@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2819-6001</p> <p>Петров Никита Александрович — кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: petrov@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9755-6002</p> <p>Саркисян Варужан Амбарцумович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: sarkisyan@ion.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-5911-610X</p> <p>Кочеткова Алла Алексеевна — доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский проезд, 2/14 Тел.: +7-495-698-53-89 E-mail: kochetkova@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9821-192X</p>	<p>Roman V. Sobolev, Candidate of Technical Sciences, Research Engineer, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustinsky proyezd, 109240, Moscow, Russia Tel: +7-495-698-53-89 E-mail: sobolevrv@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2166-006X * corresponding author</p> <p>Ilya E. Sokolov, Researcher, Laboratory of Food Toxicology and Safety Assessment of Nanotechnology, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustinsky proyezd, 109240, Moscow, Russia Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: sokolov.iliya1993@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2819-6001</p> <p>Nikita A. Petrov, Candidate of Biological Sciences, Researcher, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustinsky proyezd, 109240, Moscow, Russia Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: petrov@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9755-6002</p> <p>Varuzhan A. Sarkisyan, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustinsky proyezd, 109240, Moscow, Russia Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: sarkisyan@ion.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-5911-610X</p> <p>Alla A. Kochetkova, Doctor of Technical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Food Biotechnologies and Specialized Products, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety 2/14, Ustinsky proyezd, 109240, Moscow, Russia Tel. +7-495-698-53-89 E-mail: kochetkova@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9821-192X</p>
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/10.21323/2618-9771-2024-7-4-543-550>

Поступила 15.08.2024

Поступила после рецензирования 13.11.2024

Принята в печать 18.11.2024

© Никитина М. А., Чернуха И. М., Артамонова М. П., Кусай А. Т., 2024

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

Научная статья

Open access

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СОСТАВА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЬЮТЕРНОЙ СИМУЛЯЦИИ

Никитина М. А.^{1,*}, Чернуха И. М.¹, Артамонова М. П.², Кусай А. Т.^{2,3}¹Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия²Российский биотехнологический университет (Росбиотех), Москва, Россия³Университет Хамы, Хама, Сирия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

пищевой продукт,
цифровой
двойник, цифровая
модель, датчики,
жизненный цикл
продукта, ошибка,
прогнозирование

Одним из фронтиров науки является разработка цифрового двойника пищевого продукта для прогнозирования состава и свойств будущего продукта. Однако в настоящее время для прогнозирования состава пищевого продукта используют компьютерную симуляцию (моделирование). Цель нашего исследования сопоставить значения показателей пищевой ценности цифровой модели и реального пищевого продукта, и оценить адекватность полученных данных. Объектами исследования были эмульгированный мясорастительный продукт на основе традиционного блюда «Мухаммара» и цифровая модель (компьютерный симулятор) рецептуры эмульгированного мясорастительного продукта. На примере разработки эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара» показаны этапы разработки цифрового двойника пищевого продукта. Показана некорректность использования цифровой модели без подкрепления ее данными (числовыми значениями), полученных с приборов, датчиков. В исследовании сравнили расчетные показатели с данными, полученными эмпирическим путем (в результате лабораторного эксперимента) в трех блоках: физико-химические показатели, витамины и минеральные вещества. Симуляцию и расчет абсолютной и относительной ошибки осуществляли в программной среде R Studio. Расхождение в данных расчетных и эмпирических, во-первых, можно объяснить средними значениями показателей, которые содержатся в базах данных пищевых продуктов. В базах данных на данный момент времени содержатся усредненные данные, не учитывающие индивидуальные характеристики сырья животного и растительного происхождения. Во-вторых, необходимо учитывать коэффициент потерь (или коэффициент сохранения) пищевых нутриентов при тепловой или термической обработке пищевого продукта. Установлено, что только разработка точного цифрового двойника с учетом всех параметров поможет отслеживать параметры качества на каждом этапе производства, что позволит оперативно реагировать на отклонения и улучшать качество конечного продукта.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию FGUS-2024-0003 ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 15.08.2024

Accepted in revised 13.11.2024

Accepted for publication 18.11.2024

© Nikitina M. A., Chernukha I. M., Artamonova M. P., Qusay A. T., 2024

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

Original scientific article

Open access

PREDICTING COMPOSITION OF A FUNCTIONAL FOOD PRODUCT USING COMPUTER SIMULATION

Marina A. Nikitina^{1,*}, Irina M. Chernukha¹, Marina P. Artamonova², Abu Trabi Qusay^{2,3}¹V.M. Gorbатов Federal Research Center for Foods Systems, Moscow, Russia²Russian Biotechnological University (Rosbiotech), Moscow, Russia³University of Hama, Hama, Syria

KEY WORDS:

food, digital twin,
digital model, sensor,
product lifecycle, error,
prediction

ABSTRACT

One of the frontiers of science is the development of a digital twin for a food product to predict composition and properties of a future product. Today, however, computer simulation (modeling) is used for predicting the composition of a food product. The aim of our research is to compare the levels of the nutritional value parameters from a digital model and a real food product and to assess adequacy of the obtained data. The objects of the research were the emulsified meat-and-plant product based on the traditional meal "Mukhammar" and a digital model (computer simulator) of the recipe of the emulsified meat-and-plant product. By the example of the development of the emulsified meat-and-plant product based on the traditional meal "Mukhammar", stages of the development of a digital twin of a food product are shown. It was demonstrated that it is incorrect to use a digital model without supporting it with data (numerical values) obtained from apparatus, sensors. The calculated parameters were compared with the data obtained empirically (as a result of the laboratory experiment) in three blocks: physico-chemical indicators, vitamins and minerals. Simulation and calculation of the absolute and relative errors were performed in the program environment R Studio. Differences between the calculated and empirical data can be explained, firstly, by the average values of parameters in food product databases. As for now, databases contain averaged data, which do not take into account individual characteristics of animal and plant raw materials. Secondly, it is necessary to take into consideration the coefficient of losses (or coefficient of preservation) of food nutrients during thermal treatment of food. It has been established that only the development of the precise digital twin with regard to all parameters will help to trace quality parameters at each stage of the production, which will allow reacting timely to deviations and improving quality of the final product.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2024-0003 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Никитина, М. А., Чернуха, И. М., Артамонова, М. П., Кусай, А. Т. (2024). Прогнозирование состава функционального пищевого продукта с использованием компьютерной симуляции. *Пищевые системы*, 7(4), 543–550. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-543-550>

FOR CITATION: Nikitina, M. A., Chernukha, I. M., Artamonova, M. P., Qusay, A.T. (2024). Predicting composition of a functional food product using computer simulation. *Food Systems*, 7(4), 543–550. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-543-550>

1. Введение

«Мухаммара» (по-арабски “reddened” красный) — пряный густой соус из грецких орехов, красного болгарского перца и гранатовой патоки без добавления какого-либо мяса. Соус появился в Сирии и Ливане. Рецепт соуса различается в зависимости не только от региона, но и способа приготовления в ближневосточных семьях. В своем исследовании при конструировании эмульгированного мясорастительного продукта к ингредиентам традиционного блюда «Мухаммара» было добавлено 1) куриное филе (филе грудки); 2) филе мяса индейки для получения более высокой пищевой ценности.

Пищевой продукт богатый белком позволяет человеку чувствовать себя более сытым несмотря на небольшой объем порции, и тем самым помогает контролировать вес. Как известно [1,2,3] здоровый вес приводит к уменьшению факторов риска возникновения проблем с сердцем, таких как высокий уровень триглицеридов и высокое кровяное давление. Наряду с этим мясо птицы содержит триптофан, который связан с изменением концентрации серотонина в человеческом мозге [4,5]. В состав разработанного пищевого продукта также входят красный болгарский перец, грецкие орехи, оливковое масло, гранатовый соус и кунжутная паста. Грецкие орехи обладают повышенной антиоксидантной активностью, по сравнению с другими видами орехов. Данное свойство обусловлено наличием витаминов Е, мелатонина и полифенолов [6]. Красный болгарский перец способствует укреплению клеток, что является защитой от таких состояний, как ишемическая болезнь сердца и другие неинфекционные болезни. Кроме того, красный болгарский перец особенно богат питательными веществами, предотвращающими рак, включая витамины С, Е и бета-каротин, содержит большое количество полифенолов (защитные растительные соединения включают лютеин, кверцетин и капсантин). Гранатовый соус, также входящий в состав пищевого продукта, богат антиоксидантами и витамином С, позволяет увеличить выработку лейкоцитов, которые являются первой линией защиты иммунной системы и влияют на снижение уровня холестерина. Полифенольные соединения, содержащиеся в гранатовом соусе, также снижают уровень вредного холестерина в организме человека. В следствии чего снижается вероятность развития атеросклероза, инсультов и сердечных приступов. Уровень витамина В в гранатовом соусе высок, что улучшает метаболизм, а также способствует естественному росту и развитию [7]. Богатый витамином К кунжут обогащает продукт компонентом, участвующим в образовании белков, способствующих свертываемости крови, способствуя нормализации кровообращения и профилактике инсультов. Кофеин, по мнению австралийских ученых, положительно влияет на профилактику ожирения [8]. Наряду с этим в кофе содержатся такие природные антиоксиданты как хлорогеновая кислота — мощный ДНК протектор, а также тригонеллин — капилляропротектор. Это привносит в продукт функциональные свойства и усиливает его действие как кардиопротектор. По данным экспертов суточное рекомендуемое поступление антиоксидантов составляет 3000–5000 в единицах ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Это количество антиоксидантов обеспечивает значительный антиоксидантный потенциал плазмы и тканей организма и способствует снижению воздействия окислительного стресса, провоцируемого свободными радикалами. По содержанию биоактивных веществ можно предположить, что в «Мухаммаре» заложен потенциал положительного воздействия на организм человека.

Процесс разработки рецептов новых пищевых или функциональных продуктов и первичной апробации их соответствия задаваемым требованиям могут быть значительно ускорены и упрощены с помощью цифрового двойника.

Цифровой двойник пищевого продукта — виртуальная модель, которая отражает характеристики и жизненный цикл реального продукта. Поведение будущего продукта и определение его выходных показателей с использованием цифрового двойника является более наглядным и прозрачным способом оптимизации состава и свойств пищевого продукта с максимальным приближением к его назначению. Анализ научных исследований показал, что на данном этапе нет цифровых двойников пищевого продукта. Ученые исследователи используют, как правило цифровую модель или цифровую тень пищевого продукта.

Цифровые двойники открывают огромные возможности в прогнозировании и контроле характеристик качества пищевых продуктов, прослеживаемости. Особенно это значимо при разработке персонализированных продуктов питания. Как известно, на качество готового пищевого продукта влияют различные показатели (физико-химические, реологические и т. д.) входного сырья. Сезонные колебания показателей, в том числе связанных с сортавыми и по-

родными особенностями сельскохозяйственного сырья оказывают существенное влияние на его характеристики, таким образом, корректировка параметров в технологическом процессе имеет важное значение.

Kritzinger и др. [9] в своей работе на основании анализа литературных источников разделили понятие цифровых двойников на три основные категории: 1) цифровая модель; 2) цифровая тень; 3) цифровой двойник. Основное различие между этими тремя категориями заключается в потоке информации между цифровым объектом (процессом) и физическим объектом (процессом).

Самый низкий уровень цифрового двойника — цифровая модель, она не подключена ни к какому потоку информации, создается и работает на автономных данных.

Цифровая тень имеет односторонний поток информации от физического объекта к цифровому объекту, данные поступают в режиме реального времени. Эта информация используется ядром цифровой модели для прогнозирования эволюции единичной технологической операции.

Цифровой двойник требует двунаправленного потока информации, где действия по управлению технологическими операциями выполняются на основе прогнозов, сделанных цифровой моделью на основе текущей информации о процессе.

В настоящее время в публикациях чаще всего встречается низкий уровень цифрового двойника, либо цифровая модель, либо цифровая модель, реализованная на компьютере, — компьютерный симулятор [10]. Согласно ГОСТ Р 57700.21–2020, компьютерная симуляция (моделирование) — «моделирование, выполненное с использованием компьютерной (цифровой) модели... выполняют с целью получения данных, необходимых для принятия решений... в ходе жизненного цикла»¹.

Cabeza-Gil и соавторы [11] разработали цифровой двойник процесса приготовления французского блина. ЦД контролирует процесс приготовления с использованием обычной сковороды с датчиком температуры и весами. Используя данные с датчиков (температура сковороды и вес теста) ЦД в режиме реального времени рассчитывает несколько параметров, которые описывают состояние блина, включая его температуру, цвет и потерю веса. Это позволяет получить информацию о готовности пищи и оценивать, когда ее следует переворачивать или снимать со сковороды. ЦД французского блина разработан с использованием нейронной сети, обученной на более чем 400 000 точек данных моделирования. Средняя абсолютная погрешность составила менее 5%. Авторы предлагают технологию, позволяющую автоматизировать процесс приготовления пищи, и имеет потенциальное применение как на домашних, так и на профессиональных кухнях.

Инновационная концепция цифрового клонирования гастрономических устройств (eGastronomic things) для мониторинга их функций и моделирования их работы представлена в статье [12]. Автомат приготовления мороженого и его трехмерный цифровой двойник визуализирован в трехмерной виртуальной среде, которая обеспечивает взаимодействие посредством дополненной или виртуальной реальности. Однако, анализ информации о состоянии, анализ сенсорных данных и алгоритмы прогнозирования оставлены для дальнейшего изучения. Цифровой двойник автомата приготовления мороженого защищен электронным шлюзом Интернета вещей, встроенным в машину и объединенным с платой сбора данных. Таким образом, устройство защищено от несанкционированного использования за счет реализации безопасного механизма контроля доступа.

Kannarinn и соавторы [13] в своем исследовании разработали структуру цифрового двойника, обеспечивающую автономность термической обработки пищевых продуктов. Температурные датчики внутри микроволновой печи формируют граничные и начальные условия имитационной модели. Моделирование, выполняемое в режиме реального времени, возвращает несколько будущих сценариев в систему управления автономным процессом устройства. На основании этих данных планируется траектория температуры печи для удовлетворения требований пользователя к определенной прожарке, содержанию влаги, минимальной температуре внутри или дезактивации патогенов в конце процесса. Например, приготовить мясо средней прожарки, нежное, тщательно поджаренное и достичь температуры готовности к употреблению в конкретный момент времени. Наряду с этим, возможно изменение целей пользователя во время процесса приготовления. Средняя квадратическая ошибка со-

¹ ГОСТ Р 57700.21–2020 «Компьютерное моделирование в процессах разработки, производства и обеспечения эксплуатации изделий. Термины и определения». — М.: Стандартинформ, 2020. — 12 с.

ставила менее 1 °C (0,2% средней процентной ошибки) на репрезентативных тестовых данных. Ускорение моделирования $Sr \approx 1,8 \times 10^4$ позволяет осуществлять предиктивный контроль модели.

Цифровой двойник (Digital twin) способен имитировать параметры технологического процесса и использоваться в качестве базы знаний в самоадаптирующейся программной системе [14].

Defraeye и др. [15] отмечают, что цифровой двойник пищевого продукта имеет особые дополнительные требования. Основываясь на законах физики, цифровые двойники дают расширенное представление об основных физических, биохимических, микробиологических и физиологических процессах, позволяя объяснить, почему происходит потеря качества. Например, скоропортящийся вид свежей садовой продукции, которая хранится при низких скоростях воздуха, проходящего через вентилируемую упаковку.

Основными аспектами разработки Digital Twins являются сбор данных, моделирование данных и применение данных [16]. Для сбора и хранения данных в режиме реального времени, получения информации для предоставления ценной информации и создания цифрового представления физического объекта используют такие технологии как Интернет вещей (IoT) [17], искусственный интеллект (AI) [18], расширенная реальность (XR) и облачные вычисления (Cloud) [19].

Как отмечает в обзорной статье Henrichs и др. [20] пять компонентов обеспечивают создание цифровых двойников: датчики, возможности интеграции, агрегированные данные из реального мира, аналитические методы и исполнительные механизмы. Они необходимы для объединения данных, связанных с пищевым продуктом и технологическим процессом в цифровом двойнике, а также для прогнозирования или анализа ситуации с помощью цифрового двойника.

Таким образом, цифровые двойники являются неотъемлемой частью кибер-физической системы².

Передача данных между цифровым и реальным объектом должна осуществляться посредством датчиков.

В своей работе Rajak и др. [22] проводят обсуждение потенциального применения IoT (интернета вещей) и интеллектуальных датчиков для точного мониторинга физико-химических показателей (влажность, температура, содержание влаги, содержание азота, качество почвы, парниковые газы) сельскохозяйственных земель. Используя датчики для мониторинга факторов окружающей среды, таких как осадки, влажность и температура, для достижения максимальной урожайности. Датчики с поддержкой Интернета вещей помогают измерить содержание воды и азота в почве. Наряду с этим на основе уровня содержания углекислого газа (CO₂) в земле можно эффективно контролировать скорость эвапотранспирации (испарения влаги) для улучшения качества урожая. Кроме этого, можно сократить (уменьшить) нападение вредителей, контролируя популяцию вредителей с помощью ловушек с поддержкой Интернета вещей, оснащенных камерой высокого разрешения и другими аксессуарами.

Alfian G. и соавторы [23] в своем исследовании предложили систему прослеживаемости пищевых продуктов *e-pedigree* для контроля и поддержания качества корейской кимчи. Объединяя технологии RFID (Radio frequency identification) меток, WSN (wireless sensor network) и интеллектуального анализа данных, система прослеживаемости обеспечивает полную историю качества пищевых продуктов от фермы до розничного продавца с предоставлением данных о температуре и влажности пищевого продукта на всех этапах.

В обзорной статье Yu и др. [24] подводит итоги о 3D-реконструкции (создании виртуальной модели) в сельском хозяйстве, животноводстве и пищевой промышленности. Отмечает, что датчики играют решающую роль в технологии 3D-реконструкции, предоставляя необходимые данные для создания виртуальных моделей. В большинстве случаев для 3D-реконструкции используются оптические датчики, такие как монокулярные камеры, стереокамеры, камеры RGB-D, системы обнаружения и определения дальности объекта в окружающей среде, с использованием света, точнее лазерного луча (LiDAR, Light Detection and Ranging), лазерные сканеры и т. д.

Для оценки качества фруктов на основе 3D-реконструкции существенным препятствием является точное определение различных характеристик, включая форму, размер, а также дефекты кожицы. Mon и ZarAung [25] предложили способ для оценки объема и трех-

мерной формы плода манго. Ширина и длина плода манго были получены из двухмерного (2D) цветного изображения. Толщина плода оценивалась на основе распределения интенсивности света в 2D (вид сверху) плода манго и максимальной корреляции ширины и толщины. Затем реконструируется трехмерная форма плода манго. В исследовании использовали 150 образцов манго. Точность предложенного способа — 96,8%.

Некоторые виды сельскохозяйственной продукции (например, яблоко, гуава) требуют осмотра с нескольких углов (ракурсов) для оценки внешнего вида. Однако использование нескольких изображений может привести к избыточным данным. В своей работе Yimnam и Clark [26] представили методы реконструкции 3D-объекта, создания новых изображений без дублированных областей объекта и извлечения характеристик цвета и текстуры для оценки. Использование характеристик, извлеченных из изображений с несколькими ракурсами без дублирования областей объекта, обеспечивает значительно более высокую точность, чем использование исходных изображений с несколькими ракурсами для сортировки яблок.

В работах Guo и др. [27], Ahmad и др. [28], Скобелева и соавторов [29] применяют цифровые двойники для принятия управленческих решений в КФС.

В публикации [30] сказано, что потребители желают все больше и больше новых продуктов питания, изготовленных по индивидуальному заказу, и, по возможности, без дополнительных затрат. Например, это продукты здорового питания, продукты для этнических и религиозных групп и т. д. Быстро меняющиеся тенденции, растущая мобильность населения, а с другой стороны, строгие требования к безопасности пищевых продуктов, требование прослеживаемости отдельных этапов производства и сырья, а также меры, необходимые для предотвращения растраты ресурсов. Все эти проблемы (задачи) можно успешно преодолеть с помощью цифрового двойника и других решений цифрового предприятия.

Компания Mars совместно с Microsoft Azure использует цифровые двойники для оптимизации производства «шоколадных батончиков» для увеличения прибыли и сокращения отходов. ЦД даст возможность сотрудникам на местах принимать решения в режиме реального времени [31].

Цель нашего исследования спрогнозировать пищевую ценность будущего эмульгированного мясорастительного продукта на основе показателей, взятых из Базы данных химического состава пищевых продуктов и сырья животного и растительного происхождения. Сравнить экспериментальные и расчетные данные.

Исследование базируется на гипотезе о возможности виртуального проектирования пищевого продукта с заданным составом с минимальным отклонением от реального.

2. Объекты и методы

Объектами исследования были:

- 1) эмульгированный мясорастительный продукт на основе традиционного блюда «Мухаммара». В состав продукта входят:
 - охлажденное филе куриной грудки (Петелинская птицефабрика, Россия);
 - орехи грецкие очищенные отборные сырые сушеные («Орех-сити», Узбекистан);
 - кунжутная паста («Le Moulin», Тунис);
 - чеснок (ООО «Фермерский чеснок», Россия);
 - кофе черный молотый («Haseeb Serrado», Сирия);
 - перец чили острый стручковый («Prodigy Land», Таиланд);
 - паприка молотая («Индана», Россия);
 - гранатовый соус («Наршараб», Сирия);
 - оливковое нерафинированное масло первого холодного отжима («ALKHAIR», Сирия);
 - питьевая вода («Черноголовка», Россия);
 - соль пищевая («Руссоль», Россия).

Учитывая, что «блюдо» — это пищевой продукт или сочетание продуктов и полуфабрикатов, доведенных до кулинарной готовности, порционированное и оформленное (ГОСТ 31985–2013³), в своем исследовании мы оперировали термином «продукт» при разработке рецептуры и «блюдо» при оценке его органолептических характеристик и перспектив применения.

- 2) цифровая модель (компьютерный симулятор) рецептуры эмульгированного мясорастительного продукта.

Приготовление эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара» предусматривало

² Кибер-физическая система (CPSs) — интеллектуальная система, которая включает в себя инженерные взаимодействующие сети физических и вычислительных компонентов. CPSs способны встраиваться в производственные процессы, улучшая обмен информацией между промышленным оборудованием, качественно преобразовывать производственные цепочки, эффективнее управлять бизнесом и клиентами. [21]

³ ГОСТ 31985–2013 «Услуги общественного питания. Термины и определения». — М. Стандартинформ, 2020. — 16 с.

варку мяса птицы — филе курицы (соотношение мясо:вода = 1:2, температура 95 °С, время 30 минут). Отваренное мясо курицы внесли в многофункциональную установку, сочетающую в себе функции перемешивания, гомогенизации и нагрева в условиях вакуума (FrymaKoruma MaxxD LAB, изготовитель Romaco FrymaKoruma, Германия) и добавляли сырые грецкие орехи, сырой очищенный чеснок, острый перец (промытый водой комнатной температуры), кунжутную пасту, гранатовый соус, тонкоизмолотый черный кофе, молотую паприку, оливковое масло, холодную воду (температура 5 °С), соль пищевую. Смесь гомогенизировали до получения однородной консистенции. В результате получили продукт мягкой гомогенной консистенции, желто-розового оттенка с легким привкусом пряностей, кунжута и мяса птицы.

Физико-химические показатели в сырье и готовом продукте определяли, используя следующие методы:

- массовую долю влаги — методом, основанным на высушивании анализируемой пробы с песком до постоянной массы при температуре 103 ± 2 °С⁴;
- массовую долю белка — методом, основанным на минерализации органических веществ пробы с последующим определением азота по количеству образовавшегося аммиака (метод Кьельдаля)⁵;
- массовую долю жира — путем экстракции жира растворителем из высушенной анализируемой пробы в экстракционном аппарате Сокслета с последующим удалением растворителя и высушиванием выделенного жира до постоянной массы (метод Сокслета)⁶;
- массовую долю общей золы — озолением при температуре 550 ± 25 °С пробы⁷;
- содержание углеводов — расчетным методом;
- содержание водорастворимых витаминов — методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в ультрафиолетовой области спектра с заданной длиной волны. Полученные результаты в виде пиков на хроматограмме сопоставляют с пиками стандартных образцов с заведомо известными концентрациями⁸;
- содержание жирорастворимых витаминов — методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в ультрафиолетовой области спектра с заданной длиной волны. Полученные результаты в виде пиков на хроматограмме сопоставляют с пиками стандартных растворов образцов витаминов известных массовых концентраций⁹;
- содержание калия, натрия, магния — методом пламенной атомной абсорбции¹⁰;
- содержание кальция — атомно-абсорбционным методом¹¹;
- содержание цинка и меди — инверсионно-вольтамперометрическим методом¹²;
- содержание минеральных веществ (железа, селена) по методическим указаниям¹³.

Расчетные значения пищевых нутриентов получали с использованием формулы:

$$z_j = k \cdot \frac{\sum_{i=1}^n b_{ij} x_i}{\sum_{i=1}^n x_i}, \quad j = \overline{1, m} \quad (1)$$

где b_{ij} — содержание j -го элемента химического состава (белка, жира, влаги и т. д.) в i -м рецептурном ингредиенте пищевого продукта;

⁴ ГОСТ 33319–2015 «Мясо и мясные продукты. Метод определения массовой доли влаги». — М. Стандартинформ, 2019. — 8 с.

⁵ ГОСТ 25011–2017 «Мясо и мясные продукты. Методы определения белка». — М. Стандартинформ, 2018. — 24 с.

⁶ ГОСТ 23042–2015 «Мясо и мясные продукты. Методы определения жира». — М. Стандартинформ, 2019. — 16 с.

⁷ ГОСТ 31727–2012 (ISO 936:1998) «Мясо и мясные продукты. Метод определения массовой доли общей золы». — М. Стандартинформ, 2019. — 13 с.

⁸ ГОСТ Р 55482–2013 «Мясо и мясные продукты. Метод определения содержания водорастворимых витаминов». — М. Стандартинформ, 2019. — 12 с.

⁹ ГОСТ 32307–2013 «Мясо и мясные продукты. Определение содержания жирорастворимых витаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии».

¹⁰ ГОСТ Р 55482–2013 «Мясо и мясные продукты. Определение содержания натрия, калия, магния и марганца методом пламенной атомной абсорбции».

¹¹ ГОСТ Р 55573–2013 «Мясо и мясные продукты. Определение кальция атомно-абсорбционным и титриметрическим методами».

¹² ГОСТ 33824–2016 «Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсионно-вольтамперометрический метод определения содержания токсичных элементов (кадмия, свинца, меди и цинка)».

¹³ МР 2.3.7.0168–20 Оценка качества пищевой продукции и оценка доступа населения к качественной пищевой продукции, способствующей устранению дефицита макро- и микронутриентов. Методические рекомендации».

x_i — массовая доля i -го ингредиентов рецептуры; n — количество ингредиентов рецептуры; m — количество пищевых нутриентов значения которых рассчитываем.

Информацию о химическом составе сырья животного и растительного происхождения брали из базы данных «Пищевые продукты» [32].

В качестве целевой функции (критерия оптимизации) использовали квадратичный критерий минимального отклонения от заданной структуры пищевой ценности:

$$P(z) = \sum_{j=1}^m (z_j^0 - z_j^{calculation})^2 \rightarrow \min \quad (2)$$

$$z_j^{calculation} = \sum_{i=1}^n b_{ji} x_i,$$

где z_j^0 — эталонное (или нормативное) содержание j -го нутриента пищевой ценности; b_{ji} — удельное содержание j -го элемента химического состава (белка, жира, влаги и т. д.) в i -м рецептурном ингредиенте продукта; x_i — массовая доля i -го ингредиента рецептуры.

В связи с тем, что критерий оптимизации нелинейный, использовали метод нелинейной оптимизации — метод градиентного спуска [33,34,35]. Метод градиентного спуска — это итеративный алгоритм оптимизации, используемый для нахождения локального минимума функции. Основная идея которого заключается в последовательном улучшении оценки *argmin* функции $P(z)$ за счет движения в направлении противоположном направлению градиента. Алгоритм вычисляет градиент функции на каждой итерации. В R Studio используется библиотека *nlopt* [36].

Симуляцию (моделирование) проводили в среде R Studio по критерию пищевой ценности [37]. Программное обеспечение R представляет собой свободно распространяемый кроссплатформенный программный инструмент, используемый для статистических расчетов и визуализации данных. Дистрибутивы R доступны на веб-сайте The Comprehensive R Archive Network.

Сопоставление и анализ данных, полученных в результате математических расчетов с использованием цифровой модели эмульгированного мясорастительного пищевого продукта и данных, полученных в ходе лабораторных исследований, проводили с использованием абсолютной и относительной ошибки.

Абсолютная ошибка (AE) — это величина разницы между расчетным и измеренным значением.

$$AE = |y - y^{calculation}| \quad (3)$$

Относительная ошибка (RE) показывает размер ошибки относительно измеренного значения. Показывает размер ошибки в процентах.

$$RE = \frac{AE}{y} \cdot 100\% \quad (4)$$

Статистическую обработку полученных результатов проводили в табличном процессоре MS Excel при уровне значимости 0,05. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения («Mean ± SD»). Эксперименты проведены с 5-ти кратной повторностью.

3. Результаты и обсуждение

Согласно ГОСТ Р 57700.37–2021¹⁴ цифровой двойник изделия «разрабатывается и применяется на всех стадиях жизненного цикла изделия, изменяясь на каждой стадии». Поэтому для разработки цифрового двойника эмульгированного мясорастительного пищевого продукта необходимо описать его жизненный цикл вначале крупноблочно. На Рисунке 1 представлены три основных блока (этапа), которые необходимо разработать для получения цифрового двойника пищевого продукта. Первый этап включает формирование будущего пищевого продукта. Разработчик описывает вид продукта, его тип, назначение, диапазон основных показателей. Выбирается критерий оптимизации, с использованием кластеризации подбираются основные ингредиенты будущего продукта, устанавливаются диапазоны варьирования рецептурных ингредиентов. Таким образом формируется область допустимых решений. Подробно этот этап описан в нашей предыдущей работе [38]. Второй этап жизненного

¹⁴ ГОСТ Р 57700.37–2021 «Компьютерные модели и моделирование. Цифровые двойники изделий. Общие положения». — М.: Российский институт стандартизации, 2021. — 15 с.

цикла продукта связан с технологическим процессом и заключается в приготовлении кулинарного изделия, готового к употреблению в пищу, разделенного на порции. На этом этапе учитываются значения входных переменных (например, физико-химические показатели), контролируемые параметры (температура приготовления, время приготовления), регулируемые параметры и выходные переменные (физико-химические показатели, функционально-технологические свойства и т. д.). Таким образом, необходимо технологический процесс представить в виде технологических операций с описанием входных, выходных, контролируемых и регулируемых параметров. Выходные переменные на *i*-ой технологической операции являются входными переменными для *i*+1-й технологической операции. Далее необходимо каждую технологическую операцию описать с помощью уравнений математической физики. Этот этап представлен в работе [39]. Третий этап связан с оценкой того, как нутриенты смоделированного пищевого продукта будут перевариваться и усваиваться стенками желудка и кишечника. Желудочно-кишечный тракт человека в концепции имитационного моделирования рассматривается, как естественный биохимический реактор, обеспечивающий гидролиз пищевых веществ (белков, жиров, углеводов) их транспортировку и всасывание продуктов гидролиза через стенки кишечника в кровь. При моделировании должно учитываться множество переменных состояния человека, его пищеварительной системы и пищевого продукта. Поэтому для детального представления знаний в структурно-параметрической модели необходима коллаборация медиков, технологов, математиков. Разработка третьего этапа очень сложный и длительный процесс.

На Рисунке 1 красным квадратом выделены два этапа жизненного цикла пищевого продукта цифровые модели или цифровые тени, которых в настоящее время наиболее изучены и представлены в научных публикациях [11,12,13]. В работе [39] описано изменение химического состава и качественных показателей белка в зависимости от основного мясного сырья (филе грудки курицы, филе грудки индейки, бескостная говядина от тазобедренного отруба, бескостная баранина). Анализ показал, что несмотря на то, что мясо индейки диетическое, пищевой продукт с филе грудки индейки по показателям аминокислотной сбалансированности уступает продукту с мясом баранины.

В работе [40] с использованием компьютерного проектирования осуществили подбор соотношений мясного сырья (говядины и мяса птицы) с учетом следующих ограничений: сумма ненасыщенных жирных кислот и трансжиров должна быть не более 1,5 г/100 г и не более 10% от энергетической ценности.

В статье [41] представлена цифровая модель аналога мясного продукта из соевого фарша. В качестве функции цели ученые использовали стоимостной критерий. Основными ограничениями на 100 г пищевой ценности были: 1) массовая доля белка должна составлять 17,0%; 2) массовая доля жира должна быть не более 2,0%; 3) массовая доля углеводов должна быть не менее 6,5%; 4) массовая доля сухих веществ должна составлять не менее 27%.

На Рисунке 2 представлена пошаговая схема моделирования (моделирования) любого пищевого продукта. Как видно из схемы для получения достоверной цифровой модели необходимо учитывать поправочные весовые коэффициенты, чтобы учесть потери на протяжении всего технологического процесса. Весовые коэффициенты в нашей модели были установлены путем опроса квалифицированных экспертов-технологов с помощью методики экспертных оценок.

При тепловой обработке происходит уменьшение содержания некоторых витаминов из-за химических изменений и в результате потерь их во внешнюю среду. Степень разрушения зависит от приро-



Рисунок 1. Цифровой двойник жизненного цикла пищевого продукта

Figure 1. Digital twin of the life cycle of a food product



Рисунок 2. Схема моделирования (моделирования) пищевого продукта

Figure 2. Scheme of simulation (modeling) of a food product

ды витаминов (водорастворимые или жирорастворимые), температуры и продолжительности нагревания. Процент потерь витамина В₁ (тиамина) находится в диапазоне от 30 до 60%, витамина В₂ (рибофлавина) — 10–40%, витамина В₅ (пантотеновая кислота) — 15–30%, витамина В₃ (PP) (никотиновая кислота) — 10–35%, витамин В₆ (пиридоксин) — 30–60% [42,43].

При составлении цифровой модели эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара» учтены потери основного мясного ингредиента (куриной грудки) при термической обработке. Используя уравнение (1) и данные о химическом составе пищевых ингредиентов, взятые из базы данных «Пищевые продукты» [39], получили систему балансовых уравнений по химическому составу пищевого продукта:

$$\begin{cases}
 Protein = (20.85 \cdot x_1 + 6.5 \cdot x_2 + 13.9 \cdot x_3 + 1.3 \cdot x_4 + 14.14 \cdot x_5 + 16.2 \cdot x_6 + 0.5 \cdot x_7 + 18.08 \cdot x_8) \cdot 0.99 \\
 Fat = (9.25 \cdot x_1 + 0.5 \cdot x_2 + 14.4 \cdot x_3 + 0.44 \cdot x_4 + 12.89 \cdot x_5 + 60.8 \cdot x_6 + 50.87 \cdot x_7 + 99.8 \cdot x_8) \cdot 0.99 \\
 \dots \\
 Vitamin_{B1} = (0.1 \cdot x_1 + 0.08 \cdot x_2 + 0.07 \cdot x_3 + 0.07 \cdot x_4 + 0.1 \cdot x_5 + 0.39 \cdot x_6 + 0.04 \cdot x_7 + 0.24 \cdot x_8) \cdot 0.7
 \end{cases}$$

где $x_1, x_2, x_3, \dots, x_{11}$ — соответственно массовая доля компонентов в рецептуре, т. е. куриная грудка, чеснок, кофе черный молотый, перец острый (стручковый), паприка, грецкий орех, гранатовый соус, кунжутная паста, оливковое масло, вода и соль; 0,99... 0,7 — весовые коэффициенты, характеризующие сохранность пищевого нутриента при тепловой обработке.

В результате обработки данных расчетных и экспериментальных были получены следующие значения:

А) — в блоке физико-химических показателей (Таблица 1).

Как видно из Таблицы 1 значения в блоке физико-химических показателей очень сильно различаются. Расхождения 1) по массовой доле белка являются наименьшими (относительная ошибка равна 0,17%); 2) по массовой доле жира и массовой доле влаги относительная ошибка составляет 1% и 7,87%, соответственно, что также является приемлемым. Однако, наибольшее расхождение в значениях было получено по показателю массовой доли углеводов и массовой доли золы. Данная несогласованность может быть объяснена многими факторами: а) состав пищевого сырья имеет вероятностный разброс

Таблица 1. Расчетные и экспериментальные значения физико-химических показателей эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара»

Table 1. Calculated and experimental values of the physico-chemical parameters of the emulsified meat-and-plant product based on the traditional meal "Mukhamar"

Показатель	Результат, г/100 г продукта	Расчетные значения, г/100 г продукта	Абсолютная ошибка, г/100 г продукта	Относительная ошибка, %
Массовая доля влаги	55,25 ± 0,15	59,6	4,35	7,87
Массовая доля жира	15,85 ± 0,25	16,01	0,16	1,00
Массовая доля белка	17,7 ± 0,10	17,67	0,03	0,17
Массовая доля углеводов	9,07*	6,33	2,74	30,00
Массовая доля золы	2,13 ± 0,02	0,39**	1,74	81,60

* Значение получено в ходе вычисления {100 — сумма (массовой доли влаги; массовой доли жира; массовой доли белка; массовой доли золы)}.

** Значение получено в ходе вычисления {100 — сумма (массовой доли влаги; массовой доли жира; массовой доли белка; массовой доли углеводов)}.

показателей, это связано с регионом выращивания культуры или сельскохозяйственной птицы, животного; и б) видом растения, породой животного и т. д.; в) коэффициентом термопотери, который имеет не конкретное значение, а диапазон варьирования.

Такой разброс между табличными и реальными значениями приемлем и описан исследователями. Например, по данным [44,45] диапазон варьирования белка в свинине нежирной от 18,8 ± 3,8 до 21,4 ± 3,0; в свинине полужирной от 15,1 ± 3,0 до 16,3 ± 3,3; в свинине жирной от 8,7 ± 1,7 до 14,6 ± 2,9; в говядине высшего сорта от 21,0 ± 2,9 до 23,1 ± 3,2; в говядине 1-го сорта от 18,8 ± 3,8 до 20,9 ± 2,9. В базе данных «Химический состав пищевых продуктов, используемых в Российской Федерации», размещенной на сайте ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи (<https://ion.ru/>) представлены следующие данные по белку: свинина полужирная — 17, свинина

жирная — 11,7, свинина нежирная — 14,3. Поэтому для устранения несовпадений в данных необходимо использовать «умные датчики» для определения контролируемых переменных входного сырья (первая задача). Значения, от которых поступают в цифровую модель или компьютерный симулятор будущего продукта.

Вторая более труднорешаемая задача, это установление конкретных значений потерь, которые происходят в результате термической обработки.

Б) — в блоке «Витамины» (Таблица 2).

В Таблице 2 в столбце «Расчетные значения» содержатся два показателя. Первый — значение без учета потерь при термообработке. Вторым — значение с учетом выбранного коэффициента потерь при термообработке. От правильности выбранного коэффициента зависит «сходимость» расчетных и экспериментальных значений.

Например, диапазон варьирования потерь при термообработке витамина В₁ (тиамина), как было отмечено выше находится в пределах от 30 до 60%. Из данного диапазона при составлении цифровой модели пищевой системы можно взять любое значение, нами выбрано минимальное значение из этого диапазона — 30%. Таким образом, коэффициент сохранности витамина В₁ (тиамина) равен 0,7 (100% — 30% = 70%). Диапазон для витамина В₂ (рибофлавина) — 10–40%. В цифровой модели учитывается коэффициент 0,9, что соответствует 10% потерь при термообработке. Диапазон для витамина А — 15–50%. В цифровой модели учитывается коэффициент 0,5 (50% потерь при термообработке).

С учетом выбранных коэффициентов потерь при термообработке в цифровой модели эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара» результаты по «сходимости» значений витаминов в модельной системе и эксперименте следующие: 1) наименьший процент в относительной погрешности показали витамин В₅ (пантотеновая кислота) и витамин С (аскорбиновая кислота) — 2,78 и 5,40, соответственно; 2) наибольший процент — витамин В₁ (тиамин) и витамин А — 14,71 и 14,74, соответственно.

С) — в блоке «Минеральные вещества» (Таблица 3).

В Таблице 3, аналогично Таблице 2 в столбце «Расчетные значения» содержатся два показателя без и с учетом коэффициента термопотери. Наибольший дисбаланс между расчетными и эксперимен-

Таблица 2. Расчетные и экспериментальные значения витаминов эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара»

Table 2. Calculated and experimental values of vitamins of the emulsified meat-and-plant product based on the traditional meal "Mukhamar"

Показатель	Результат, мг / 100 г продукта	Расчетные значения, мг / 100 г продукта		Абсолютная ошибка, мг / 100 г продукта	Относительная ошибка, %
		без учета потерь при термообработке	с учетом потерь при термообработке		
В ₁ (тиамин)	0,68 ± 0,12	0,82	0,58	0,10	14,71
В ₂ (рибофлавин)	Менее 0,05	0,09	0,08	Расчет ошибки не проводили, нет точного экспериментального значения	
В ₃ (РР) (никотиновая кислота)	2,72 ± 0,54	2,82	2,68	0,04	11,47
В ₅ (пантотеновая кислота)	0,72 ± 0,14	1,39	0,70	0,02	2,78
В ₆	0,38 ± 0,10	0,42	0,34	0,04	10,53
В ₉ (фолиевая кислота)	Менее 0,01	0,0098	0,002	Расчет ошибки не проводили, нет точного экспериментального значения	
С (аскорбиновая кислота)	50,72 ± 11,67	95,96	47,98	2,74	5,40
А	0,019 ± 0,01	0,033	0,016	2,84	14,74
Е	0,89 ± 0,13	1,00	1,00	0,11	12,36

Таблица 3. Расчетные и экспериментальные значения минеральных веществ эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара»

Table 3. Calculated and experimental values of minerals of the emulsified meat-and-plant product based on the traditional meal "Mukhamar"

Показатель	Результат, мг / 100 г продукта	Расчетные значения, мг. / 100 г продукта		Абсолютная ошибка, мг / 100 г продукта	Относительная ошибка, %
		без учета потерь при термообработке	с учетом потерь при термообработке		
Кальций	145,67 ± 24,76	169,2	169,2	23,53	16,15
Калий	2008,58 ± 301,29	2744,2	2058,15	49,57	2,47
Натрий	3221,10 ± 515,38	4327,9	3245,93	24,83	0,78
Магний	711,88 ± 142,36	1038,4	726,9	15,02	2,11
Цинк	20,63 ± 4,31		НЕ РАССЧИТЫВАЛИ		
Железо	43,51 ± 8,41	56,14	39,3	4,21	9,68
Медь	6,19 ± 0,57		НЕ РАССЧИТЫВАЛИ		
Селен	0,04 ± 0,01	0,066	0,05	0,01	25

тальными данными в минеральных веществах эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара» наблюдается у селена (Se) и кальция (Ca) — 25% и 16,15%, соответственно.

Мы рассмотрели каждый блок по отдельности, если рассматривать блоки в совокупности, то наихудший вариант получился по определению массовой доли золы (относительная погрешность 81,60%), наилучший вариант — массовой доли белка (относительная погрешность 0,17%). Оба эти показателя из блока «Физико-химических показатели».

4. Выводы

Промоделирована рецептура эмульгированного мясорастительного продукта на основе традиционного блюда «Мухаммара» с целью оптимизации его состава и усиления функциональных/антиоксидантных свойств за счет внесения природных ингредиентов-антиоксидантов —

гранатового соуса, кунжутной пасты и черного молотого кофе. Изготовлен продукт и проведено сравнение показателей с цифровой моделью. Исходные данные ингредиентов для модели взяты из общедоступных БД.

Расхождение данных 0,17% для белка, 81,6% для показателя содержания золы, а также по витаминам и минеральным веществам объясняются тем, что в базах данных содержатся усредненные физико-химические показатели сырья. Во-вторых, даже с учетом коэффициентов потерь при тепловой или термической обработке пищевого продукта возможны большие погрешности, это связано с особенностями сорта, условиями выращивания, сбора и хранения сырья и др.

В дальнейшем предполагается уточнить справочные данные, сформировать собственную базу данных показателей состава и качества мясного сырья с учетом генетических и фенотипических факторов, а также технологических аспектов (например, величин термопотерь).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК/REFERENCES

- Palatini, P., Saladini, F., Mos, L., Vriz, O., Ermolao, A., Battista, F. et al. (2024). Healthy overweight and obesity in the young: Prevalence and risk of major adverse cardiovascular events. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 34(3), 783–791. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2023.11.013>
- Kivimäki, M., Kuosma, E., Ferrie, J. E., Luukkonen, R., Nyberg, S. T., Alfredsson, L. et al. (2017). Overweight, obesity, and risk of cardiometabolic multimorbidity: Pooled analysis of individual-level data for 120813 adults from 16 cohort studies from the USA and Europe. *The Lancet Public Health*, 2(6), e277–e285. [http://doi.org/10.1016/S2468-2667\(17\)30074-9](http://doi.org/10.1016/S2468-2667(17)30074-9)
- Eckel, N., Meidtner, K., Kalle-Uhlmann, T., Stefan, N., Schulze, M.B. (2016). Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A Systematic review and meta-analysis. *European Journal of Preventive Cardiology*, 23(9), 956–966. <http://doi.org/10.1177/2047487315623884>
- Nayak, B.N., Singh, R.B., Buttar, H.S. (2022). Biochemical and dietary functions of tryptophan and its metabolites in human health. Chapter in a book: *Functional Foods and Nutraceuticals in Metabolic and Non-Communicable Diseases*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819815-5.00003-3>
- Gupta, S.K., Vyavahare, S., Blanes, I.L.D., Berger, F., Isales, C., Fulzele, S. (2023). Microbiota-derived tryptophan metabolism: Impacts on health, aging, and disease. *Experimental Gerontology*, 183, Article 112319. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2023.112319>
- Wang, J., Liu, J., John, A., Jiang, Y., Zhu, H., Yang, B. et al. (2022). Structure identification of walnut peptides and evaluation of cellular antioxidant activity (2022). *Food Chemistry*, 388, Article 132943. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132943>
- Kalaycioglu, Z., Erim, F.B. (2017). Total phenolic contents, antioxidant activities, and bioactive ingredients of juices from pomegranate cultivars worldwide. *Food Chemistry*, 221, 496–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.084>
- Larsson, S.C., Woolf, B., Gill, D. (2023). Appraisal of the causal effect of plasma caffeine on adiposity, type 2 diabetes, and cardiovascular disease: Two sample mendelian randomisation study. *BMJ Medicine*, 2, Article e000335. <https://doi.org/10.1136/bmjmed-2022-000335>
- Kritzing, W., Karner, M., Traar, G., Henjes, J., Sih, W. (2018). Digital Twin in manufacturing: A categorical literature review and classification. *IFAC-PapersOnLine*, 51(11), 1016–1022. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2018.08.474>
- Santner, T.J., Williams, B.J., Notz, W.I. (2018). *The Design and Analysis of Computer Experiments*. New York: Springer, 2018. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8847-1>
- Cabeza-Gil, I., Ríos-Ruiz, I., Martínez, M.A., Calvo, B., Grasa, J. (2023). Digital twins for monitoring and predicting the cooking of food products: A case study for a French crêpe. *Journal of Food Engineering*, 359, Article 111697. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111697>
- Karadeniz, A.M., Arif, İ., Kanak A., Ergün S. (May 26–29, 2019). *Digital Twin of eGastronomic Things: A Case Study for Ice Cream Machines*. In Proceedings of the 2019 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS), Sapporo, Japan, 2019. <https://doi.org/10.1109/ISCAS.2019.8702679>
- Kannapinn, M., Pham, M.K., Schäfer, M. (2022). Physics-based digital twins for autonomous thermal food processing: Efficient, non-intrusive reduced-order modeling. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 81, Article 103143. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103143>
- Krupitzer, C., Roth, F.M., VanSyckel, S., Schiele, G., Becker, C. (2015). A survey on engineering approaches for self-adaptive systems. *Pervasive and Mobile Computing*, 17(Part B), 184–206. <https://doi.org/10.1016/j.pmcj.2014.09.009>
- Defraeye, T., Shrivastava, C., Berry, T., Verboven, P., Onwude, D., Schudel, S. et al. (2021). Digital twins are coming: Will we need them in supply chains of fresh horticultural produce? *Trends in Food Science and Technology*, 109, 245–258. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.025>
- Lv, Z., Xie, S. (2021). Artificial intelligence in the digital twins: State of the art, challenges, and future research topics. *Digital Twin*, 1–12. <https://doi.org/10.12688/digitaltwin.17524.1>
- Attaran, M. (2017). The Internet of Things: Limitless opportunities for business and society. *Journal of Strategic Innovation and Sustainability*, 12(1), 10–29.
- Hou, L., Wu, S., Zhang, G., Tan, Y., Wang, X. (2020). Literature review of digital twins applications in construction workforce safety. *Applied Sciences*, 11(1), Article 359. <https://doi.org/10.3390/app11010359>
- Shu, Z., Wan, J., Zhang, D. (2016). Cloud-integrated cyber-physical systems for complex industrial applications. *Mobile Networks and Applications*, 21, 865–878. <https://doi.org/10.1007/s11036-015-0664-6>
- Henrichs, E., Noack, T., Pinzon Piedrahita, A.M., Salem, M.A., Stolz, J., Krupitzer, C. (2022). Can a byte improve our bite? An analysis of digital twins in the food industry. *Sensors*, 22(1), Article 115. <https://doi.org/10.3390/s22010115>
- Lisitsyn, A.B., Chernukha, I.M., Nikitina, M.A. (2023). Cyber-physical systems in food production chain. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(4), 316–325. <https://doi.org/10.21323/2414-458X-2023-8-4-316-325>
- Rajak, P., Ganguly, A., Adhikary, S., Bhattacharya, S. (2023). Internet of Things and smart sensors in agriculture: Scopes and challenges. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, Article 100776. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100776>
- Alfian, G., Rhee, J., Ahn, H., Lee, J., Farooq, U., Ijaz, M.F., Syaekhoni, M.A. (2017). Integration of RFID, wireless sensor networks, and data mining in an e-pedigree food traceability system. *Journal of Food Engineering*, 212, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.008>
- Yu, S., Liu, X., Tan, Q., Wang, Z., Zhang, B. (2024). Sensors, systems and algorithms of 3D reconstruction for smart agriculture and precision farming: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 224(9), Article 109229. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2024.109229>
- Mon, T., ZarAung, N. (2020). Vision based volume estimation method for automatic mango grading system. *Biosystems Engineering*, 198(10), 338–349. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.08.021>
- Yimyam, P., Clark, A.F. (February 5–6, 2016). *3D reconstruction and feature extraction for agricultural produce grading*. In Proceedings of the 8th International Conference on Knowledge and Smart Technology (KST), Chiang Mai, Thailand, 2016. <https://doi.org/10.1109/KST.2016.7440482>
- Guo, P., Dusadeerungsikul, P.O., Nof, S.Y. (2018). Agricultural cyber physical system collaboration for greenhouse stress management. *Computers and Electronics in Agriculture*, 150, 439–454. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.05.022>
- Ahmad, I., Pothuganti, K. (September 10–12, 2020). *Smart field monitoring using ToxTrac: A cyber-physical system approach in agriculture*. In Proceedings of the 2020 International Conference on Smart Electronics and Communication (ICOSEC), Trichy, India, 2020. <https://doi.org/10.1109/ICOSEC49089.2020.9215282>
- Skobelev, P., Laryukhin, V., Simonova, E., Goryanin, O., Yalovenko, V., Yalovenko, O. (July 27–28, 2020). *Developing a smart cyber-physical system based on digital twins of plants*. In Proceedings of the 2020 Fourth World Conference on Smart Trends in Systems, Security and Sustainability (WorldS4), London, UK, 2020. <https://doi.org/10.1109/WorldS450073.2020.9210359>
- Siemens AG. (2018). *Customization in the Food and Beverage Industry. Spotlight on the Digital Twin*. White Paper. 2018. Retrieved from https://www.foodengineeringmag.com/ext/resources/WhitePapers/FE_Whitepaper_Customization-Food-and-Beverage.pdf Accessed June 20, 2024.
- McLean, V., Redmond, W. (2021). Mars and Microsoft Work together to Accelerate Mars' Digital Transformation and Reimagine Business Operations, Associate Experience and Consumer Engagement. Press Release. 2021. Retrieved from <https://news.microsoft.com/2021/05/13/mars-and-microsoft-work-together-to-accelerate-mars-digital-transformation-and-reimagine-business-operations-associate-experience-and-consumer-engagement/> Accessed June 20, 2024.
- Патент № 2015620557. Пищевые продукты. Никитина М. А., Лисицын А. Б., Захаров А. Н., Сусь Е. Б., Пилюгина С. А., Дыдыкин А. С., Устинова Оубл. 12.02.2015. [A. B. Nikitina, M.A., Lisitsyn, A.B., Zakharov, A.N., Sus, E.B., Pilugina, S.A., Dydykin, A.S., Ustinova, A.V. (2015). Food products. Patent RF no. 2015620557, 2013 (In Russian)]
- Cauchy, A.-L. (1847). Méthode générale pour la résolution des systèmes d'équations simultanées. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, XXV, 536–538. [Cauchy, A.-L. (1847). General method for solving systems of simultaneous equations. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, XXV, 536–538. (In French)] <https://doi.org/10.1017/CBO9780511702396.063>
- Поляк, Б.Т. (1963). Градиентные методы минимизации функционалов, решения уравнений и неравенств. Автореф. дис. канд. физ.-мат. наук М.: МГУ. — 9 с. [Polyak, B. T. Gradient methods for the minimization of functionals, solving equations and inequalities Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Physical and Mathematical Sciences. Moscow: MSU, — P. 9. (In Russian)]
- Канторович, Л.В., Акилов, Г.П. (2004). *Функциональный анализ*. СПб.: Невский диалект, 2004. [Kantorovich, L.V., Akilov, G.P. (2004). *Functional analysis*. Saint-Petersburg: Nevsky dialect, 2004. (In Russian)]
- Bhadani, R. (2021). Nonlinear Optimization in R using nlopt. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2101.02912>

37. Лисицын, А.Б., Чернуха, И.М., Никитина, М.А. (2021). Конструирование многокомпонентных продуктов питания. Москва: Издательство «МГУПП», 2021. [Lisitsyn, A.B., Chernukha, I.M., Nikitina, M.A. (2021). Construction of multi-component food products. Moscow: MGUPP, 2021. (In Russian)]
38. Chernukha, I.M., Nikitina, M.A., Aslanova, M.A., Qusay, A.T. (2022). Systemic approach in the development of functional foods for various noncommunicable diseases. *Theory and Practice of Meat Processing*, 7(3), 164–176. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-3-164-176>
39. Никитина, М.А., Чернуха, И.М., Кусай, А.Т. (2022). Мониторинг жизненного цикла пищевого продукта, созданного на основе цифрового двойника. *Всё о мясе*, 4, 22–26. [Nikitina, M.A., Chernukha, I.M., Qusay, A.T. (2022). Monitoring the life cycle of a food product created on the basis of the digital twin. *Vsyo o Myase*, 4, 22–26. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-4-22-26>
40. Асланова, М.А., Деревицкая, О.К., Дыдыкин, А.С., Боро, А.Л., Солдатова, Н.Е. (2024). Разработка технологии функциональных мясных кулинарных изделий с использованием кардионутрициологических принципов. *Всё о мясе*, 1, 36–39. [Aslanova, M.A., Derevitskaya, O.K., Dydykin, A.S., Bero, A.L., Soldatova, N. E. Development of the technology for functional meat culinary products using cardionutrient principles. *Vsyo o myase*, № 1, 36–39. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2024-1-36-39>
41. Макарова, А.А., Лисин, П.А., Паско, О.В. (2021). Проектирование аналоговых мясных полуфабрикатов с применением симплекс-метода. *Индустрия питания*, 6(2), 50–58. [Makarova, A.A., Lisin, P.A., Pasko, O.V. (2021). Design of analog meat semi-finished products using the simplex method. *Food Industry*, 6(2), 50–58. (In Russian)] <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-2-6>
42. Скурихин, И.М., Нечаев, А.П. (1991). Все о пище с точки зрения химика. Москва: Высшая школа, 1991. [Skurikhin, I.M., Nechaev, A.P. (1991). All about food from the point of view of a chemist. Moscow: Higher education, 1991. (In Russian)]
43. Рогов, И.А., Жаринов, А.И., Воякин, М.П. (2008). Химия пищи. Принципы формирования качества мясopодуKтов. Санкт-Петербург: Издательство РАПП, 2008. [Rogov, I.A., Zharinov, A.I., Voyakin, M.P. (2008). Chemistry of food. Principles of formation of meat product quality. Saint-Petersburg: RAPP, 2008. (In Russian)]
44. Оганян, Н.Г., Добровольский, В.И., Семенова, А.А., Васильева, Т.В. (2023). Метрологические аспекты при оценке соответствия мясной продукции установленным требованиям. *Контроль качества продукции*, 3, 38–43. [Oganyan, N.G., Dobrovol'skiy, V.I., Semenova, A.A., Vasilyeva, T.V. (2023). Metrological aspects in conformity assessment of meat products with the established requirements. *Production Quality Control*, 3, 38–43. (In Russian)]
45. Oganyan, N.G., Semenova, A.A., Dobrovol'skiy, V.I. (September 14–16, 2021). Metrological aspects of the safety and quality of meat products. *Journal of Physics: Conference Series*, 2192, Article 012022. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2192/1/012022>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Никитина Марина Александровна — доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, руководитель направления Информационные технологии Центра «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. 297 E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8313-4105 * автор для контактов</p>	<p>Marina A. Nikitina, Doctor of Technical Sciences, Docent, Leading Scientific Worker, Head of the Direction of Information Technologies of the Center of Economic and Analytical Research and Information Technologies, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel: +7-495-676-95-11 (297) E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8313-4105 * corresponding author</p>
<p>Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, 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 доб. 109 E-mail: imcher@inbox.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927</p>	<p>Irina M. Chernukha, Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department for Coordination of Initiative and International Projects, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str, 109316, Moscow, Russia Tel: +7-495-676-95-11 (109) E-mail: imcher@inbox.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927</p>
<p>Артамонова Марина Петровна — кандидат технических наук, профессор, кафедра конструирования функциональных продуктов питания и нутрициологии, Российский биотехнологический университет (Росбиотех) 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Тел: +7-499-750-01-11(6015) E-mail: ya.artmarina@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8372-3594</p>	<p>Marina P. Artamonova, Candidate of Technical Sciences, Professor, Department of Design of Functional Food Products and Nutrition, Russian Biotechnological University (Rosbiotech) 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Tel: +7-499-750-01-11(6015) E-mail: ya.artmarina@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8372-3594</p>
<p>Кусай Абу Траби — аспирант, Кафедра конструирования функциональных продуктов питания и нутрициологии, Российский биотехнологический университет (Росбиотех) 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11 Технический институт ветеринарной медицины, Университет Хамы Площадь Асси, Хама, Сирия. Tel: +7-499-750-01-11(6015) E-mail: qusay2077@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2193-0624</p>	<p>Abu T. Qusay, Postgraduate Student, Department of Design of Functional Food Products and Nutrition, Russian Biotechnological University (Rosbiotech) 11, Volokolamsk highway, 125080, Moscow, Russia Technical Institute of Veterinary Medicine, University of Hama Assi Square, Hama, Syria Tel: +7-499-750-01-11(6015) E-mail: qusay2077@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2193-0624</p>
<p>Критерии авторства</p>	<p>Contribution</p>
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.</p>
<p>Конфликт интересов</p>	<p>Conflict of interest</p>
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-551-559>



Поступила 23.05.2024

Поступила после рецензирования 13.11.2024

Принята в печать 18.11.2024

© Серба Е. М., Соколова Е. Н., Римарева Л. В., Ионов В. В., Игнатова Н. И., Оверченко М. Б., 2024

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

Научная статья

Open access

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТЕХНОЛОГИИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЗЕРНО-ФРУКТОВОГО СУСЛА ИЗ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ И ЖМЫХА ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ

Серба Е. М.*, Соколова Е. Н., Римарева Л. В., Ионов В. В., Игнатова Н. И., Оверченко М. Б.

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

пшеница, ягоды и жмых черной смородины, ферментные препараты, биокатализ, зерно-фруктовое сусло

Для разработки конкурентоспособных спиртных напитков с интересными сенсорными характеристиками перспективно введение в состав зернового сусла плодово-ягодного сырья, позволяющего придать дистиллятам оригинальные вкус и аромат. Однако высокая кислотность, а также содержание клетчатки и пектиновых веществ в плодово-ягодном сырье создают сложности при переработке, требующие дополнительных исследований для разработки эффективных технологий. Цель данной работы состояла в исследовании условий приготовления зерно-фруктового сусла с использованием биотехнологических методов конверсии полимеров пшеничного и черносмородинового сырья. Объектами исследования служили ягоды и жмых черной смородины; зерно пшеницы; ферментные препараты — источники амилаз, гемицеллюлаз, протеаз и пектиназ; образцы сусла. Обоснована возможность комплексной переработки ягод черной смородины с получением ферментированного сока как дополнительной продукции, и жмыха — для использования в составе зерно-фруктового сусла. Показано, что биокаталитическая деструкция белково-пектинового комплекса ягодного сырья привела к переходу основной части клетчатки в жмых. Концентрация аминного азота составила 315 мг%, растворимых углеводов — 6,8%, фенольных веществ — 94,75 мг%, pH — 3,0. Установлено, что при совместной гидродинамической и ферментативной обработке зерно-фруктового сырья введение в состав сырьевых ингредиентов черносмородинового жмыха негативно сказалось на реологических свойствах сусла, вязкость которого повышалась практически в 3 раза. Подобраны рациональные условия приготовления сусла из смешанного пшеничного сырья и жмыха черной смородины при их совместном использовании: гидромодуль сусла — 1:3; дозировка ферментов гемицеллюлазного действия — 0,3 ед. КС/г сырья; содержание в составе сырьевых компонентов жмыха — не более 30%. Выявлено преимущество раздельного приготовления сырьевых составляющих сусла: пшеничного замеса и ферментированного жмыха с последующим соединением на стадии осахаривания и протеолиза. Данный способ приводил к существенному снижению вязкости сусла. При этом наблюдалось увеличение концентрации общих и растворимых углеводов. Анализ углеводного профиля показал, что в пшеничном сусле преобладала глюкоза (8,1%). В зерно-фруктовом сусле глюкоза и фруктоза присутствовали практически в равных количествах. Разработана структурная схема раздельной подготовки сырьевых компонентов (зерна и жмыха черной смородины) в технологии зерно-фруктовых дистиллятов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания (тема № FGMF-2023-0004).

Received 23.05.2024

Accepted in revised 13.11.2024

Accepted for publication 18.11.2024

© Serba E. M., Sokolova E. N., Rimareva L. V., Ionov V. V., Ignatova N. I., Overchenko M. B., 2024

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

Original scientific article

Open access

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE TECHNOLOGY OF PREPARATION OF GRAIN-FRUIT WORT FROM WHEAT GRAIN AND BLACKCURRANT CAKE

Elena M. Serba*, Elena M. Sokolova, Lyubov V. Rimareva, Vladislav V. Ionov, Nadezhda I. Ignatova, Marina B. Overchenko

Russian Research Institute of Food Biotechnology — branch of the Federal State Budgetary Institution of Science of the Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

KEY WORDS:

wheat, blackcurrant berries and cake, enzyme preparations, biocatalysis, grain-fruit wort

ABSTRACT

For the development of competitive alcoholic beverages with interesting sensory characteristics, it is promising to introduce fruit and berry raw materials into the grain wort, which allows distillates to be given an original taste and aroma. However, in the process of processing fruit and berry raw materials, difficulties arise due to its high acidity and high content of fiber and pectin substances, which require additional research to develop efficient technologies. The purpose of this work was to study the conditions for the preparation of grain-fruit wort using biotechnological methods for the conversion of polymers of wheat and blackcurrant raw materials. The objects of the study were berries and blackcurrant cake; wheat grain; enzyme preparations — sources of amylases, hemicellulases, proteases and pectinases; wort samples. The possibility of complex processing of black currant berries to obtain fermented juice as an additional product, and cake for use in grain-fruit wort has been substantiated. It was shown that as a result of the biocatalytic destruction of the protein-pectin complex of berry raw materials, the main part of fiber passed into the cake. The concentration of amine nitrogen was 315 mg%, soluble carbohydrates — 6.8%, phenolic substances — 94.75 mg%, pH — 3.0. It was found that with the combined hydrodynamic and enzymatic processing of grain and fruit raw materials, the introduction of blackcurrant cake into the composition of raw ingredients had a negative effect on the rheological properties of the wort, the viscosity of which increased almost three times. Rational conditions for

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Серба, Е. М., Соколова, Е. Н., Римарева, Л. В., Ионов, В. В., Игнатова, Н. И., Оверченко, М. Б. (2024). Биотехнологические аспекты технологии приготовления зерно-фруктового сусла из зерна пшеницы и жмыха черной смородины. *Пищевые системы*, 7(4), 551–559. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-551-559>

FOR CITATION: Serba, E. M., Sokolova, E. N., Rimareva, L. V., Ionov, V. V., Ignatova, N. I., Overchenko, M. B. (2024). Biotechnological aspects of the technology of preparation of grain-fruit wort from wheat grain and blackcurrant cake. *Food Systems*, 7(4), 551–559. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-551-559>

the preparation of wort from mixed wheat raw materials and blackcurrant cake when used together have been selected: the hydromodule of the wort is 1:3; the dosage of hemicellulase enzymes is 0.3 units /g (может быть units KS/g) of raw materials; the content of the raw components of the cake is not more than 30%. The advantage of separate preparation of the raw components (wheat batch and fermented cake) of wort followed by combination at the stage of saccharification and proteolysis was revealed. With this method, the viscosity of the wort was significantly reduced. The concentration of total and soluble carbohydrates increased. Analysis of the carbohydrate profile showed that in wheat wort glucose was prevalent (8.1%). In grain-fruit wort, glucose and fructose were present in almost equal proportions. A block diagram has been developed for the separate preparation of raw materials (grain and blackcurrant cake) in the technology of grain-fruit distillates.

FUNDING: The work was carried out at the expense of a subsidy for the implementation of the state task (subject No. FGMF-2023-0004).

1. Введение

Потребительские предпочтения в области крепких алкогольных напитков за последние годы сместились в сторону продуктов с интересными органолептическими свойствами, преимущественно импортного производства [1,2]. В связи с этим исследования в области спиртных дистиллятов направлены на разработку технологий, учитывающих не только биохимический состав, но и органолептические свойства исходного растительного сырья, что позволяет формировать уникальный букет и придавать целевой продукции приятные сенсорные характеристики [3,4,5]. В отличие от традиционных для получения зерновых дистиллятов культур (пшеницы, ржи и ячменя) использование в составе сула фруктового сырья позволит придать напиткам оригинальные вкус и аромат [6,7,8]. Однако в процессе их переработки возникают сложности, связанные с повышенным содержанием клетчатки, пектиновых веществ и с высокой кислотностью, требующие дополнительных исследований.

Анализ научных публикаций показал, что среди ягодных культур наиболее перспективной для получения оригинальных зерно-фруктовых дистиллятов является черная смородина (*Ribes nigrum L.*), плоды которой обладают ярко выраженным ароматом и содержат целый комплекс биологически активных соединений и ароматобразующих компонентов [9,10,11]. Применение черной смородины в пищевой промышленности обусловлено высоким содержанием питательных и биологически активных веществ, необходимых для сбалансированного питания человека и придающих целевой продукции интересные вкус и аромат [12,13]. Ягоды черной смородины богаты нутриентами, такими как растворимые углеводы (8,2–13,2%), витамины (С, Е, В₁, В₂, В₅, В₆, РР), бета-каротин (8,2–10,0 мкг%), антоцианы (222,8–459,9 мг%), полифенолы (480,6–898,5 мг%) и органические кислоты (лимонная, яблочная). Также в них содержатся пектиновые вещества (0,2–0,6%), макро- и микроэлементы [8,14,15]. Анализ литературы свидетельствует о технологической значимости таких компонентов черносмородинового сырья, как углеводы, пищевые волокна, аскорбиновая кислота (116–342 мг%) и полифенольные соединения, в том числе антоцианы (160–411 мг%) [16–18]. Кроме того, важную роль играют лимонная кислота (около 2%) и минеральные вещества, такие как калий (250–360 мг%), магний (25–34 мг%) и марганец (0,3 мг%) [19–21].

Приведенные сведения о биохимическом составе ягод черной смородины указывают на перспективу использования этого нетрадиционного сырья для получения оригинальных спиртных напитков на основе зерно-фруктовых дистиллятов взамен использования синтетических ароматизаторов. Наличие пищевых и биологически активных веществ во фруктовом сырье позволит не только обеспечить дрожжи дополнительным количеством сбраживаемых углеводов, но и обогатить суло ароматобразующими соединениями [20,22]. Приведенные в публикациях данные показывают, что при сенсорной оценке алкогольных напитков, приготовленных из черносмородинового сырья и ферментированных дрожжами, выявлено наличие ярко выраженного аромата черной смородины [8,23]. При этом авторы отмечают высокое содержание органических кислот в плодово-ягодном сырье, приводящее к усилению кислотности сула, что может стать проблемой при разработке технологии зерно-фруктовых дистиллятов [8,23,24].

При традиционной промышленной переработке черной смородины в соковом производстве образуется значительное количество жмыха, который используется преимущественно в качестве корма для скота, что экономически нецелесообразно [25,26]. Имеются сведения о применении выжимок ягод черной смородины в качестве вспомогательного средства для повышения микробиологической безопасности и хранимостепособности целевой продукции [27]. Жмых состоит из неоднородной смеси кожуры, семян и пульпы, которые представляют собой около 20–40% от веса обработанных ягод, в зависимости от технологии, используемой в производстве [26]. В технологическом отношении жмых ягод является функциональным

ингредиентом, обладающим влагоудерживающей способностью, повышающим антиоксидантную активность продукта и придающим напиткам приятный вкус и аромат [28,29,30]. Однако вопрос рационального использования жмыха в пищевых технологиях изучен недостаточно и требует дальнейших исследований.

Учитывая востребованность черной смородины в производстве соков, морсов, сиропов, кондитерских изделий и другой продукции, перспективным направлением представляется исследование биотехнологического потенциала её вторичного сырья для создания оригинальных спиртных напитков.

Цель данной работы состояла в исследовании способов приготовления сула из зерна пшеницы и жмыха черной смородины для использования его в технологии зерно-фруктовых дистиллятов.

2. Объекты и методы

Объектами исследований служили:

- ягоды и жмых черной смородины;
- зерно пшеницы, измельченное до размера частиц 40–120 мкм с помощью мультифункциональной дробилки «Вилитек VLM-6» (ООО «Вилитек», Россия);
- ферментные препараты (ФП) — α -амилаза («Неозим АА 180», Hunan Hong Ying Xiang Biochemistry Industry Co., LTD, КНР) и глюкоамилаза («Биозим 800L», Shandong Longda Bio-products, КНР) — для декстринизации и осахаривания крахмала зерна;
- гемицеллюлазы («Висколаза 150L», Shandong Longda Bio-products, КНР) — для деструкции некрахмальных полисахаридов;
- комплекс протеаз (КФП, ВНИИПБТ, РФ) — для гидролиза белковых веществ;
- пектиназы («Пектофоедин», ООО «Сиббиофрам», РФ) — для гидролиза пектиновых веществ;
- целлюлазы — для гидролиза полисахаридов [31–33].

Определение активности ферментов проводили согласно существующим стандартизированным методикам [34]. За единицу амилитической активности (АС) принимали количество фермента, катализирующего гидролиз 1 г растворимого крахмала до декстринов различной молекулярной массы в стандартных условиях (30 °С, pH 6,0, 10 мин). За единицу глюкоамилазной активности (ГЛС) — количество фермента, катализирующего гидролиз крахмала при 30 °С и pH 4,7 с высвобождением 1 мкмоль глюкозы за 1 мин. За единицу ксиланазной активности (КС) принимали количество фермента, действующего на ксилан из березы с высвобождением 1 мкмоль восстанавливающих сахаров (в глюкозном эквиваленте) за 1 мин в стандартных условиях (50 °С и pH 5,0). За единицу общей протеолитической активности (ПС) — количество фермента, приводящего гемоглобин в неосаждаемое трихлоруксусной кислотой состояние, соответствующее 1 мкмоль тирозина, за 1 мин при 30 °С и pH 5,3. За единицу полигалактуроназной активности принимали количество фермента, катализирующего гидролиз 1 г пектина со снижением вязкости раствора на 30% за 10 мин при 30 °С в строго определенных условиях. За единицу целлюлитической активности — количество фермента, гидролизующего 1 мкмоль карбоксиметилцеллюлозы с высвобождением восстанавливающих сахаров при 50 °С и pH 5,0. Уровень активности основных ферментов в исследованных ФП приведен в Таблице 1.

Для предварительной ферментативной обработки ягод черносмородинового сырья на стадии получения ферментированных сока и жмыха использовали ФП: «Пектофоедин» (10 ед. ПгС/100г сырья) и «Целловиридин» (20 ед. ПС/100г сырья) [33]. Ферментативный гидролиз осуществляли в закрытой термостатируемой емкости при температуре 50,0 ± 1,0 °С при постоянном перемешивании в течение 120 мин. После этого проводили инактивацию ферментов путем термостатирования образца при температуре 65–70 °С 30 минут. По окончании процесса ферментированную мезгу смородины с помощью фильтр-пресса разделяли на твердую (жмых) и жидкую (сок) фракции, в которых исследовали содержание углеводов, экстрактивных и фенольных веществ [35,36].

Таблица 1. Характеристика ферментных препаратов по уровню активности основных ферментов

Table 1. Characteristics of the enzyme preparations by the level of activity of the main enzymes

Наименование ФП	Основной фермент	Ферментативная активность, ед./г(см ³)
«Неозим АА 180»	Термостабильная α -амилаза (АС)	1870,0 \pm 85,0
«Биозим 800L»	Глюкоамилаза (ГЛС)	13000,0 \pm 550,0
«Висколаза 150L»	Ксиланаза (КС)	6500,0 \pm 280,0
КФП	Протеазы (ПС)	650,0 \pm 31,0
«Пектофоетидин»	Полигалактуроназа (ПГС)	500,0 \pm 22,0
«Целловиридин»	Целлюлаза (ЦС)	3600,0 \pm 175,0

Примечание: значения представлены в виде средних \pm стандартное отклонение.

Биокаталитическую конверсию полимеров зернового сырья для приготовления сула проводили по схеме ферментативно-гидролитической обработки зерна в колбах Эрленмейера объемом 750 см³, содержащих измельченное зерно пшеницы (или ржи) и воду (гидромодуль 1:3 или 1:2 в зависимости от условий эксперимента) и помещенных в водяную баню ПЭ-4300 («Экрос», Россия). В водно-зерновой замес добавляли термостабильную α -амилазу (0,6 ед. АС/г крахмала) и ксиланазу (0,3 ед. КС/г сырья), выдерживали при температуре 60–65 °С в течение 30 мин для разжижения крахмала. В дальнейшем температуру замеса повышали до 86–92 °С и выдерживали в течение 180–240 мин при периодическом перемешивании [37,38]. Далее содержимое колб охлаждали до 58–60 °С, добавляли глюкоамилазу (10,0 ед. ГЛС/г крахмала), протеазы (0,3 ед. ПС/г сырья) и инкубировали в течение 60 мин для осахаривания частично расщепленного крахмала и гидролиза белковых веществ сула.

Степень биоконверсии белковых и углеводных полимеров в пшеничном суле оценивали по накоплению аминного азота (методом йодометрического титрования [39]), общих (ОРВ) и растворимых редуцирующих веществ (РВ) (колориметрическим методом [35]), а также по содержанию глюкозы и мальтозы (методом ВЭЖХ на хроматографе

LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) [40]. Вязкость подготовленного к сбразиванию сула измеряли на вискозиметре SV-10 (AND, Япония). Растворимые сухие вещества (РСВ) сула фиксировали на рефрактометре Rochet PAL-S (ATAGO, Япония). Значение pH сула измеряли на pH-метре/ионометре SevenCompact™, (Mettler-Toledo, Швейцария).

Эксперименты проводили в пяти повторностях, результаты выражали как средние значения пяти измерений \pm стандартное отклонение. Статистическую значимость различий данных определяли методом однофакторного дисперсионного анализа и теста Тьюки с использованием программного обеспечения в свободном доступе статистического калькулятора Statskingdom (<http://www.statskingdom.com>) при уровне значимости $p \leq 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

В работе использовали черносмородиновый жмых, полученный после ферментативной обработки ягодного сырья пектолитическими и целлюлолитическими ферментами, и отделения жидкой фазы (сока) [12,33]. Биокаталитическая деструкция полисахаридного комплекса способствовала образованию в соке аминного азота и растворимых углеводов, высвобождению фенольных веществ и удалению клетчатки (Таблица 1). При этом в жмых ферментированных ягод черной смородины перешло основное количество сухих веществ, в т. ч. и клетчатки, содержание которой составило 4,9 г/100 г. Жмых также характеризовался наличием аминного азота (315 мг%) и растворимых редуцирующих углеводов (6,8%), легкоусвояемых дрожжами, и полифенольных веществ (94,75 мг%), которые могут участвовать в формировании сенсорных показателей дистиллята (Таблица 2).

На первом этапе проведены сравнительные исследования различных способов приготовления зерно-фруктового сула с использованием жмыха черной смородины и широко применяемой в спиртовом производстве пшеницы, по технологии механико-ферментативной обработки сырья [37].

Исследования проводили в соответствии с разработанным алгоритмом комплексной переработки ягод черной смородины (Рисунок 1). При этом ферментированный сок предназначался для получения дополнительной продукции с функциональными свойствами, а жмых — для приготовления производственного сула в технологиях зерно-фруктовых дистиллятов (Рисунок 1).

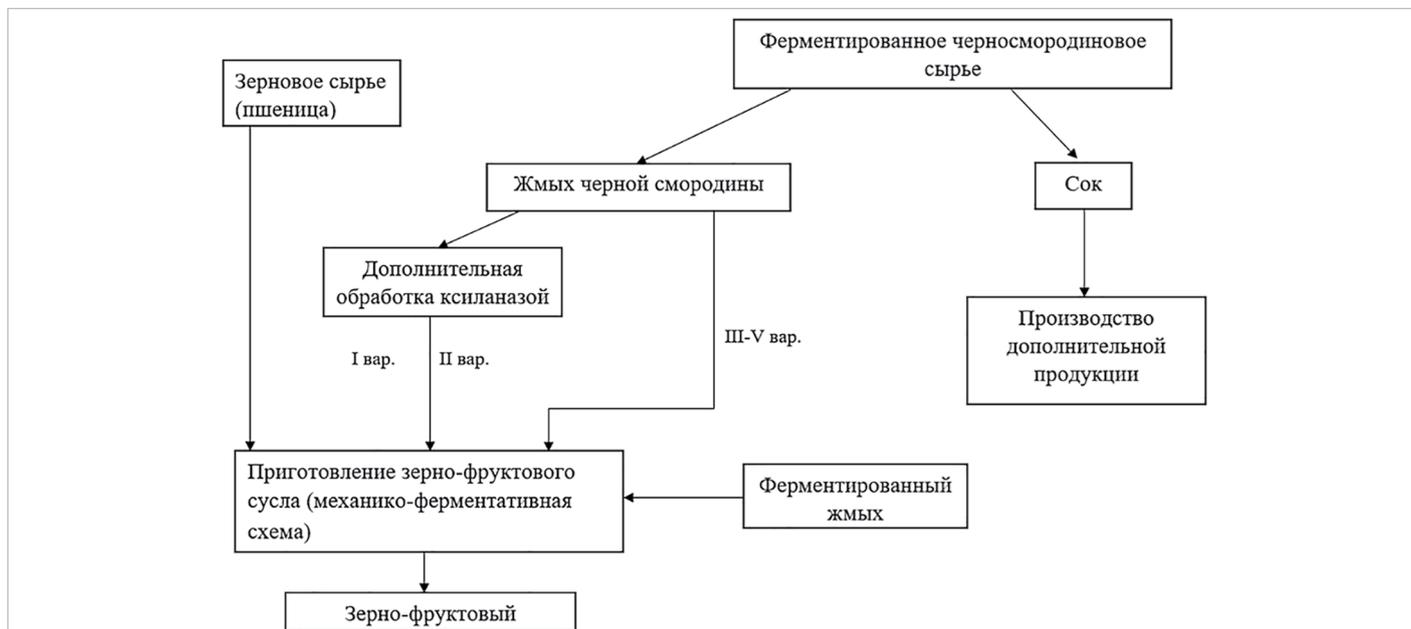


Рисунок 1. Алгоритм комплексной переработки ягод черной смородины в технологиях приготовления зерно-фруктового сула

Figure 1. Algorithm of the complex processing of blackcurrant berries in technologies for production of grain-fruit wort

Таблица 2. Биохимический состав сока и жмыха ягод черной смородины

Table 2. Biochemical composition of juice and cake of blackcurrant berries

Сырье	Сухие вещества, %	Аминный азот, мг%	Редуцирующие вещества, %		Фенольные вещества, мг%	Клетчатка, %	pH
			Общие	Растворимые			
Сок черной смородины	15,0 \pm 0,7	770 \pm 32	10,2 \pm 0,4	9,9 \pm 0,4	717,5 \pm 32,0	0	2,98 \pm 0,14 ^a
Жмых черной смородины	27,3 \pm 1,2	315 \pm 14	9,2 \pm 0,3	6,8 \pm 0,2	94,75 \pm 4,1	4,9 \pm 0,2	3,03 \pm 0,12 ^a

Примечание: значения представляют собой средние значения \pm 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 3. Характеристика суслу, приготовленного из пшеницы и жмыха черной смородины, обработанного различными способами

Table 3. Characteristics of wort made from wheat and blackcurrant cake processed by different methods

Состав сырья в сусле, %		Вариант обработки жмыха	РСВ, %	Редуцирующие вещества, %		NH ₂ ⁺ , мг%	Динамическая вязкость, мПа·с	рН
Пшеница	Жмых			Общ.	Раств.			
100	0	—	20,8±0,9	20,5±0,9 ^a	19,3±0,8 ^a	18,0±0,8	11,6±0,5 ^a	5,9±0,1

Примечание: Различие в средних значениях для образцов с одинаковой надстрочной буквой статистически не значимо при $p < 0,05$.

Приготовление зерно-фруктового суслу осуществляли способом совместной гидродинамической и ферментативной обработки зерна пшеницы и жмыха на всех этапах: от стадии замеса, на которой проходило разжижение и декстринизация крахмала, до стадии осахаривания. В вариантах опыта различались только способы обработки жмыха (Рисунок 1). В связи с тем, что установленное высокое содержание клетчатки в жмыхе может негативно сказаться на реологических свойствах зерно-фруктового суслу, I вариант включал стадию дополнительной обработки жмыха ферментами гемицеллюлазного действия («Висколаза»), в течение 40 мин при 70–75 °С. ФП «Висколаза» дозировали из расчета 0,3 ед. КС/г сырья (Таблица 3). В варианте II предусматривали предварительное подщелачивание жмыха до рН 5,0.

В III варианте жмых подвергали гидродинамической и ферментативной обработке совместно с пшеничным сырьем по принятым в спиртовом производстве технологии и нормам расхода ФП, в которых дозировка ферментов, катализирующих гидролиз некрахмальных полисахаридов, составляла 0,15 ед. КС/г сырья [37,38]. В варианте IV расход ферментов гемицеллюлазного действия увеличили в 1,5 раза (0,23 ед. КС/г), а в варианте V — в 2 раза (0,3 ед. КС/г).

Установлено, что введение в состав сырьевых компонентов суслу черносмородинового жмыха приводило к существенному ухудшению его биохимических и реологических показателей (Таблица 3). При аналогичных режимах приготовления суслу и нормативном расходе ферментов (0,15 ед. КС/г сырья как в контрольном варианте без жмыха) в варианте III вязкость увеличилась практически в 3 раза, а содержание растворимых углеводов снизилось на 20% по сравнению с аналогичными показателями в пшеничном сусле (Таблица 3).

Из приведенных данных следует, что варианты I и V, в которых использовали более высокую дозировку ферментов гемицеллюлазного комплекса, обеспечивали получение суслу с хорошими показателями (Таблица 3). По сравнению с пшеничным суслем, в зерно-фруктовом содержании аминного азота увеличилось более чем в 3 раза, однако концентрация общих и растворимых углеводов несколько снизилась.

Дальнейшие исследования процесса совместной гидродинамической и ферментативной обработки сырьевых ингредиентов при приготовлении зерно-фруктового суслу для установления рационального соотношения сырьевых ингредиентов проводили в соответствии с разработанным алгоритмом (вар. V — с увеличенной в 2 раза дозировкой ферментов, катализирующих гидролиз некрахмальных полисахаридов).

На Рисунке 2 и в Таблице 4 представлены результаты исследований влияния состава зерно-фруктового суслу на техникохимические

показатели комплексных сред. Суслу готовили с использованием жмыха черной смородины и пшеницы в различных соотношениях при гидромодуле 1:3 и 1:2. Как следует из полученных данных, введение в состав сырьевых ингредиентов черносмородинового жмыха несколько снижало содержание растворимых углеводов, но повышало концентрацию аминного азота и моносахаридов, хорошо ассимилируемых дрожжами и необходимых для их жизнедеятельности (Рисунок 2, Таблица 4). Увеличение содержания жмыха черной смородины в составе суслу до 50% оказало негативное воздействие на его реологические показатели; вязкость суслу повышалась практически в 1,5 раза, особенно при гидромодуле 1:2, что может приводить к технологическим проблемам в производстве (Рисунок 2, б). По-видимому, существенное влияние на ухудшение качества суслу при совместной гидродинамической и ферментативной обработке зерно-фруктового сырья оказывало не только повышенное содержание клетчатки, но и высокая кислотность жмыха (рН 3,0), что приводило к снижению концентрации ионов водорода в 1,4 раза при введении его в состав зернового суслу (Таблица 2). Особенно негативно это сказывалось на стадии разжижения и декстринизации крахмала в замесе, так как рН-оптимум действия бактериальных α -амилаз в основном находится в диапазоне рН от 5,0 до 6,5 [33].

Анализ технологических свойств зерно-фруктового суслу показал, что наиболее рациональным режимом его приготовления является гидромодуль 1:3. Рекомендуется увеличить дозировку ферментов гемицеллюлазного действия вдвое (до 0,3 ед. КС/г сырья) по сравнению с нормами для зернового суслу. Содержание жмыха черной смородины в сырье не должно превышать 30%.

Исследования биохимического состава и физико-химических свойств жмыха черной смородины, а также анализ свойств суслу (приготовленного совместной гидроферментативной обработкой пшеницы и жмыха) выявили основные технологические трудности. Они связаны с образованием густой малоподвижной массы, что требует подщелачивания жмыха и дополнительного внесения гемицеллюлазы для улучшения реологии суслу. Поэтому на следующем этапе был применен способ предварительной раздельной гидродинамической и ферментативной подготовки пшеницы и жмыха черной смородины. Пшеничный замес, обработанный α -амилазой и гемицеллюлазами для разжижения и декстринизации крахмала и гидролиза полисахаридов, соединяли с ферментированным гемицеллюлазами жмыхом черной смородины на стадии осахаривания. На этой стадии проводили обработку глюкоамилазой и протеазой. Используемый в работе жмых пастеризовали при температуре 75–80 °С в течение 25–30 минут, чтобы исключить развитие инфекции.

Для сравнительного исследования способов приготовления зерно-фруктового суслу использовали три варианта. В варианте II зерновое сырье и жмых черной смородины проходили совместную гидроферментативную обработку от замеса до осахаривания (Таблица 5). Вариант III предполагал раздельную подготовку: пшеничный замес готовили отдельно, а жмых ферментировали гемицеллюлазами (0,3 ед. КС/г сырья) с последующим соединением компонентов на стадии осахаривания. Контрольный вариант I включал только пшеничное сусло. Во всех вариантах гидромодуль составлял 1:3, а соотношение пшеницы и ферментированного жмыха черной смородины в вариантах II и III — 70:30. В варианте III разжиженный пшеничный замес и жмых объединяли для осахаривания и протеолиза с использованием стандартных для спиртового производства ферментных препаратов (Таблица 5).

Значения представляют собой средние значения \pm 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.

Установлено, что биохимические и физико-химические показатели пшенично-черносмородинового суслу, приготовленного способом совместной обработки сырьевых ингредиентов (вариант II, Таблица 5), значительно уступали показателям суслу, полученного в результате раздельной обработки составляющих (вариант III). Так,

Таблица 4. Углеводный профиль растворимых углеводов в пшенично-черносмородиновом сусле

Table 4. Carbohydrate profile of soluble carbohydrates in wheat- blackcurrant wort

Сырье, %		Растворимые углеводы, %	Моносахариды, %	
Пшеница	Жмых черной смородины		Глюкоза	Фруктоза
Гидромодуль 1:3				
100	—	19,8	6,21±0,31	0,11±0,005
70	30	17,6	8,37±0,42 ^a	0,48±0,02
80	20	18,4	9,03±0,42 ^a	0,35±0,02
Гидромодуль 1:2				
100	—	28,0	10,94±0,51	0,21±0,01
70	30	26,1	13,58±0,65	0,73±0,03
80	20	27,4	16,05±0,80	0,59±0,02

Примечание: значения представляют собой средние значения \pm 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.

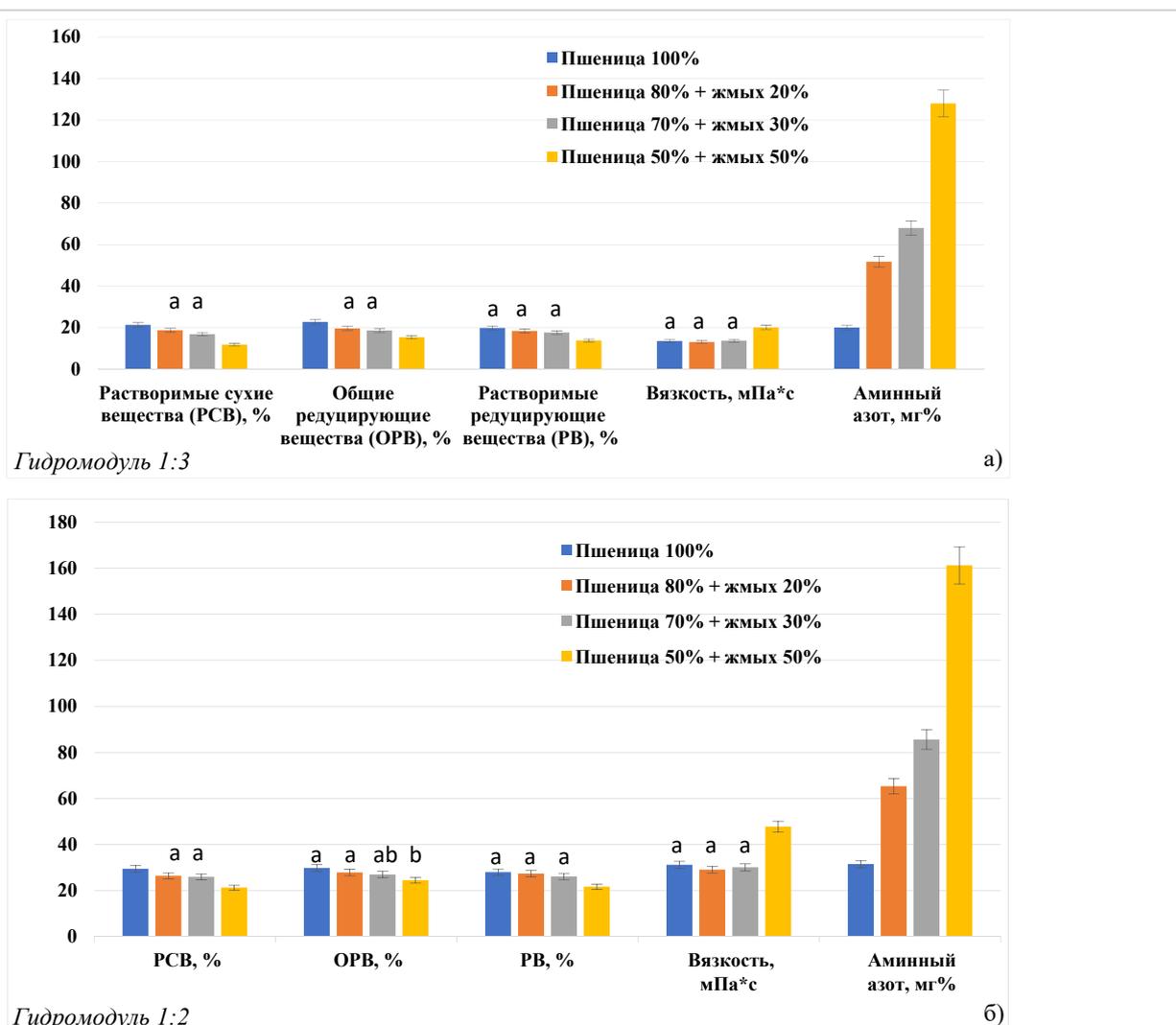


Рисунок 2. Технохимические показатели пшенично-фруктового сусле с различным содержанием черносмородинового жмыха (а – гидромодуль 1:3; б – гидромодуль 1:2)

Figure 2. Technochemical indicators of wheat-fruit wort with different content of blackcurrant cake (a – hydromodule 1:3; б – hydromodule 1:2)

Таблица 5. Сравнительная характеристика сусле, приготовленного при совместной и раздельной подготовке пшеницы и жмыха черной смородины

Table 5. Comparative characteristics of wort made upon combined and separate preparation of wheat and blackcurrant cake

Состав сырья в сусле, %		Способ подготовки сырьевых ингредиентов	РСВ, %	Редуцирующие вещества, %		NH ₂ ⁺ , мг%	Вязкость, мПа·с	рН
пшеница	жмых			общие	раств.			
100	0	Контроль (I)	22,0±1,0	17,2±0,9	16,7±0,8	14±0,7	12,5±0,6	5,8±0,2
70	30	Совместный (II)	18,5±0,9 ^a	13,1±0,7 ^a	11,5±0,5	48±1,2 ^a	15,2±0,9	4,3±0,1 ^a
70	30	Раздельный (III)	19,1±0,8 ^a	14,5±0,5 ^a	13,9±0,6	52±2,2 ^a	7,1±0,3	4,3±0,1 ^a

вязкость этого сусле (при раздельном приготовлении) снизилась в 2 раза (с 15,2 до 7,1 мПа·с); концентрация общих и растворимых углеводов увеличилась с 11,5 до 13,9% соответственно. Изменялся и углеводный профиль: в пшеничном сусле в составе моноуглеводов отмечено в основном присутствие глюкозы (8,10%); в зерно-фруктовом сусле при совместном приготовлении ингредиентов наблюдается преобладающее содержание глюкозы (7,03%) и небольшое – фруктозы (0,53%); при раздельной обработке – количество моноуглеводов несколько увеличилось и составило 9,8%, при этом глюкоза и фруктоза присутствовали практически в равном соотношении (Таблица 6).

С учетом установленных закономерностей при приготовлении зерно-фруктового сусле были проведены сравнительные исследования по совместной и раздельной подготовке ржано-черносмородинового сусле при гидромодуле 1:3 и соотношении ржи и жмыха 70:30 (Таблица 7). В отличие от пшеницы, рожь является сырьем с повышенным содержанием (в среднем в 2–3 раза) некрахмальных полисахаридов: гумми-веществ, гемицеллюлозы, β-глюканов

Таблица 6. Углеводный профиль сбраживаемых углеводов в пшенично-черносмородиновом сусле (гидромодуль 1:3)

Table 6. Carbohydrate profile of fermentable carbohydrates in wheat- blackcurrant wort (hydromodule 1:3)

Сырье, %		Способ подготовки сырьевых ингредиентов	Моноуглеводы, %	
пшеница	жмых черной смородины		глюкоза	фруктоза
100	0	Контроль	8,10±0,40	0
70	30	совместный	7,03±0,35	0,52±0,03
70	30	раздельный	4,96±0,25	4,84±0,24

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 7. Сравнительная характеристика сусла, приготовленного при совместной и раздельной подготовке ржи и жмыха черной смородины

Table 7. Comparative characteristics of wort made upon combined and separate preparation of rye and blackcurrant cake

Состав сырья в сусле, %		Способ подготовки сырьевых составляющих суслу	РСВ, %	Редуцирующие вещества, %		NH ₂ ⁺ , мг%	Вязкость, мПа·с	рН
Рожь	жмых			общие	раств.			
100	0	Контроль	21,0±1,0	15,6±0,7	15,1±0,6	43±4,5	31,5±1,5 ^a	5,4±0,2
70	30	совместный	17,2±0,7 ^a	12,3±0,6	11,8±0,5 ^a	83±4,5 ^a	109,5±5,1	4,2±0,1 ^a
70	30	раздельный	18,0±0,8 ^a	13,9±0,6	12,2±0,6 ^a	88±4,1 ^a	29,8±1,4 ^a	4,2±0,1 ^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.

и арабиноксиланов [41,42]. Поэтому для улучшения реологических свойств ржаного суслу дозировка гemicеллюлаз был увеличена и составила 0,3 ед.КС/г крахмала (при совместной обработке пшеницы с черносмородиновым жмыхом — 0,6 ед.КС/г сырья). Процесс приготовления ржано-черносмородинового суслу осуществляли в соответствии с разработанным алгоритмом.

Полученные результаты подтвердили возможность использования черносмородинового жмыха в составе зерно-фруктового суслу, в котором основным сырьевым составляющим являются различные зерновые культуры, применяемые в спиртовом производстве. При этом также отмечено преимущество раздельной гидродинамической и ферментативной обработки сырья (ржи и жмыха): вязкость снизилась в 3,7 раза: с 109,5 до 29,8 мПа·с; увеличилось содержание общих редуцирующих углеводов с 12,3 до 13,9%; аминный азот остался практически на одном уровне.

В результате разработана процессуальная схема приготовления зерно-фруктового суслу с раздельной подготовкой сырьевых компонентов (Рисунок 3).

4. Выводы

Использование в составе суслу фруктово-ягодного сырья придает конечному продукту оригинальные вкус и аромат, но влечет за собой определенные сложности, связанные с его высокой кислотностью, с содержанием клетчатки и пектиновых веществ. В настоящей работе показана возможность комплексной переработки ягод черной смородины с получением ферментированного сока как дополнительной продукции, и жмыха — для использования в составе производственного зерно-фруктового суслу. Установлено, что полученный ферментированный жмых характеризовался наличием аминного азота и редуцирующих углеводов, ассимилируемых дрожжами, и полифенольных веществ, которые могут участвовать в формировании сенсорных показателей дистиллята.

Исследованы различные способы приготовления пшенично-черносмородинового суслу. Показано, что высокое содержание клетчатки (4,9 г/100 г) и повышенная кислотность (рН 3,0) в черносмородиновом жмыхе негативно сказались на реологических свойствах зерно-фруктового суслу, приготовленного при совместной

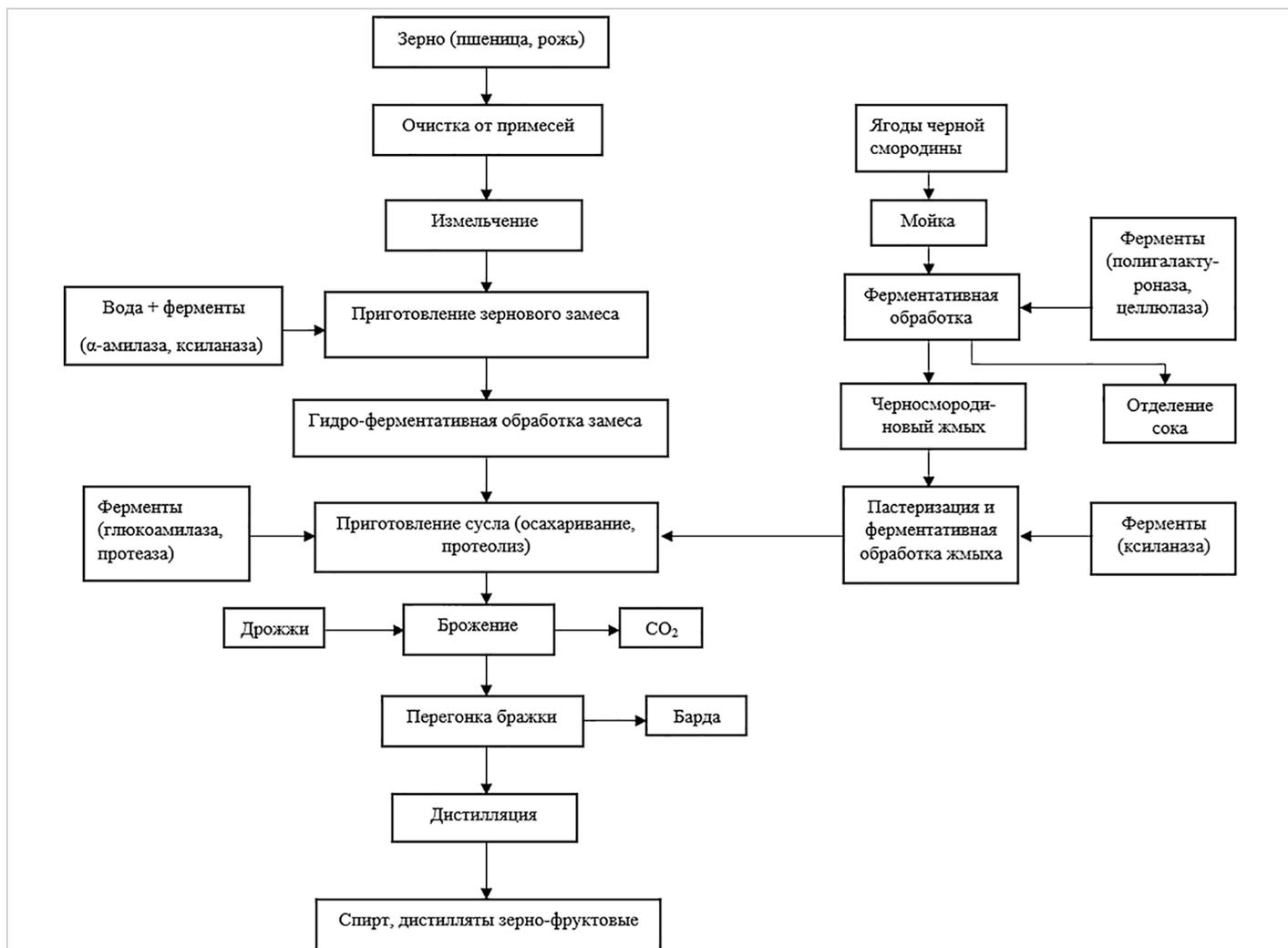


Рисунок 3. Схема приготовления зерно-фруктового суслу способом раздельной обработки зернового сырья и жмыха черной смородины на стадии замеса в технологии дистиллятов

Figure 3. Scheme of preparation of grain-fruit wort by the method of separate processing of grain raw materials and blackcurrant cake at the stage of batch in the technology of distillates

гидро-ферментативной обработке сырьевых компонентов. Введение черносмородинового жмыха на стадии приготовления замеса, разжижения и декстринизации крахмала привело к увеличению вязкости суслу практически в 3 раза и к снижению сбраживаемых углеводов по сравнению с аналогичными показателями в пшеничном сусле. Повышение дозировки ферментов гемицеллюлазного комплекса позволило снизить динамическую вязкость зерно-фруктового суслу с 30,6 до 13,0 мПа·с, но достичь показателей пшеничного суслу (11,6 мПа·с) не удалось. По сравнению с пшеничным сусликом, в зерно-фруктовом более чем в 3 раза повышалось содержание аминного азота, но при этом снижалась концентрация редуцирующих углеводов. Анализ технологических свойств зерно-фруктового суслу показал, что наиболее рациональным режимом его приготовления из смеси пшеничного сырья и жмыха черной смородины являются следующие параметры: гидромодуль 1:3, удвоенная дозировка ферментов гемицеллюлазного действия (0,3 ед.КС/г сырья) по сравнению с нормами для зернового суслу, а также содержание жмыха не более 30%.

В результате сравнительных исследований выявлено преимущество отдельного приготовления сырьевых составляющих суслу: пшеничного замеса и ферментированного жмыха с последующим соединением на стадии осахаривания и протеолиза. При этом способе существенно снижалась вязкость суслу; увеличивалась концентрация общих и растворимых углеводов, изменялся углеводный профиль: в пшеничном сусле в составе моноуглеводов отмечено в основном присутствие глюкозы (8,10%); в зерно-фруктовом сусле при отдельной обработке компонентов несколько увеличилось общее количество моноуглеводов, в составе которых присутствовали глюкоза и фруктоза практически в равном соотношении.

Подтверждена принципиальная возможность использования черносмородинового жмыха в составе зерно-фруктового суслу, в котором основным сырьевым составляющим может являться не только широко применяемая в спиртовом производстве пшеница, но и рожь, относящаяся к трудно сбраживаемым видам зернового сырья [42]. При подготовке ржано-черносмородинового суслу также отмечено преимущество отдельной гидродинамической и ферментативной обработки сырья (ржи и жмыха): вязкость снизилась в 3,7 раза (с 109,5 до 29,8 мПа·с); увеличилось содержание редуцирующих углеводов. Полученные новые экспериментальные данные позволяют расширить научные знания в области гидроферментативной обработки зернового сырья и жмыха черной смородины для приготовления зерно-фруктового суслу.

Таким образом, установлено, что головные этапы переработки зернового и фруктово-ягодного сырья (очистка, измельчение, гидродинамическая и ферментативная обработка) целесообразно осуществлять отдельно с последующим их соединением для совместного осахаривания и протеолиза, сбраживания и дистилляции. Для проведения процессов последовательной переработки сырья разработана структурная схема отдельной подготовки сырьевых компонентов (зерна и жмыха черной смородины) в технологии зерно-фруктовых дистиллятов.

Полученные результаты подтверждают перспективность использования фруктово-ягодного сырья в производстве спиртных напитков с оригинальными органолептическими характеристиками. Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение особенностей метаболизма и генерации дрожжей при сбраживании зерно-фруктового суслу, в частности, на образование этанола и побочных продуктов брожения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Волкова, С. В., Яковлева, О. В. (2019). Оценка качества дистиллятов для производства виски из некоторых видов зернового сырья местной селекции. *Вестник Могилевского Государственного университета продовольствия*, 1(26), 77–83. [Volkova, S. V., Yakovleva, O. V. (2019). Assessment of the quality of distillates for the production of whisky from certain types of grain raw materials of local selection. *Bulletin of Mogilev State University of Food Technologies*, 1(26), 77–83. (In Russian)]
2. Абрамова, И. М., Головачева, Н. Е., Морозова, С. С. (2020). Исследование физико-химических показателей импортных виски. *Пищевая промышленность*, 3, 42–46. [Abramova, I. M., Golovacheva, N. E., Morozova, S. S. (2020). Research of physical and chemical indicators of imported whiskeys. *Food Industry*, 3, 42–46. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10032>
3. Серба, Е. М., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Крючкова, Е. Р., Крыщенко, Ф. И. и др. (2023). Обоснование перспективы использования гречихи в производстве оригинальных спиртных напитков. *Пищевая промышленность*, 5, 45–47. [Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Kryuchkova, E. R., Kryshchenko, F. I. et al. (2023). Biotechnological aspects of the use of buckwheat in the production of original alcoholic beverages. *Food Industry*, 5, 45–47. (In Russian)] <https://doi.org/10.56304/S0234275823020114>
4. Oganesyants, L. A., Peschanskaya, V. A., Krikunova, L. N., Dubinina, E. V. (2019). Research of technological parameters and criteria for evaluating distillate production from dried Jerusalem artichoke. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 11(2), 185–196. <https://doi.org/10.34302/crpfjst/2019.11.2.15>
5. Римарева, Л. В., Крючкова, Е. Р., Серба, Е. М., Игнатова, Н. И., Погорельская, Н. С., Оверченко, М. Б. (2024). Биотехнологические аспекты переработки нетрадиционного зернового сырья для производства спиртных напитков. *Пищевая промышленность*, 4, 53–59. [Rimareva, L. V., Kryuchkova, E. R., Serba, E. M., Ignatova, N. I., Pogorzelskaya, N. S., Overchenko, M. B. (2024). Biotechnological aspects of processing non-traditional grain raw materials for the production of alcoholic beverages. *Food Industry*, 4, 53–59. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.4.4.010>
6. Абрамова, И. М., Туршатов, М. В., Соловьев, А. О., Никитенко, В. Д., Леденев, В. П., Кононенко, В. В. и др. (2023). О производстве этилового спирта и дистиллятов с использованием фруктового сырья совместно с зерновым. *Пищевая промышленность*, 5, 67–69. [Abramova, I. M., Turshatov, M. V., Solovuyov, A. O., Nikitenko, V. D., Ledenev, V. P., Kononenko, V. V. et al. (2023). On the production of ethyl alcohol and distillates using fruit raw materials together with grain. *Food Industry*, 5, 67–69. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.5.5.019>
7. Головачева, Н. Е., Абрамова, И. М., Морозова, С. С. (2023). О возможности получения спиртных напитков на основе зернового и плодового сырья. *Пищевая промышленность*, 7, 18–23. [Golovacheva, N. E., Abramova, I. M., Morozova, S. S. (2023). About the possibility of obtaining alcoholic beverages based on grain and fruit raw materials. *Food Industry*, 7, 18–23. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.7.7.004>
8. Римарева, Л. В., Серба, Е. М., Соколова, Е. Н., Игнатова, Н. И., Фурсова, Н. А. (2023). К вопросу целесообразности использования ягод черной смородины для получения оригинальных зерно-фруктовых дистиллятов. *Пищевая промышленность*, 5, 61–63. [Rimareva, L. V., Serba, E. M., Sokolova, E. N., Ignatova, N. I., Fursova, N. A. (2023). On the question of the expediency of using black currant berries to obtain original grain-fruit distillates. *Food Industry*, 5, 61–63. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.5.5.017>
9. Marsol-Vall, A., Kortensniemi, M., Karhu, S. T., Kallio, H., Yang, B. (2018). Profiles of volatile compounds in blackcurrant (*Ribes nigrum*) cultivars with a special focus on the influence of growth latitude and weather conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(28), 7485–7495. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02070>
10. Djordjević, B., Djurović, D., Zec, G., Dabić Zagorac, D., Natić, M., Meland, M. et al. (2022). Does shoot age influence biological and chemical properties in black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars? *Plants*, 11(7), Article 866. <https://doi.org/10.3390/plants11070866>
11. Kowalski, R., Gustafson, E., Carroll, M., Gonzalez de Mejia, E. (2020). Enhancement of biological properties of blackcurrants by lactic acid fermentation and incorporation into yogurt: A review. *Antioxidant*, 9(12), Article 1194. <https://doi.org/10.3390/antiox9121194>
12. Соколова, Е. Н., Курбатова, Е. И., Римарева, Л. В., Давыдкина, В. Е., Борщева, Ю. А. (2016). Биотехнологические аспекты направленной ферментативной деградации клеточных стенок растительного сырья для получения экстрактов с повышенным содержанием биологически ценных веществ в качестве компонентов функциональных напитков. *Вопросы питания*, 85(S2), 151. [Sokolova, E. N., Kurbatova, E. I., Rimareva, L. V., Davydkina, V. E., Borshcheva, Yu. A. (2016). Biotechnological aspects of targeted enzymatic destruction of cell walls of plant raw materials to obtain extracts with increased content of biologically valuable substances as components of functional drinks. *Problems of Nutrition*, 85(S2), 151. (In Russian)]
13. Paunović, S. M., Mašković, P., Nikolić, M., Miletić, R. (2017). Bioactive compounds and antimicrobial activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) berries and leaves extract obtained by different soil management system. *Scientia Horticulturae*, 222, 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.015>
14. Тихонова, О. А., Шеленга, Т. В. (2019). Биологически активные вещества ягод черной смородины в условиях северо-запада России. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*, 180(3), 50–58. [Tikhonova, O. A., Shelenga, T. V. (2019). Bioactive substances of black currant berries in the conditions of northwestern Russia. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*, 180(3), 50–58. (In Russian)] <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-3-50-58>
15. Причко, Т. Г., Дрофичева, Н. В. (2019). Использование перспективных сортов смородины черной в формировании продуктов лечебно-профилактического назначения. *Инновации и продовольственная безопасность*, 4(26), 109–116. [Prichko, T. G., Droficheva, N. V. (2019). Use of perspective varieties of black currant in the formation of products of medicinal and preventive purpose. *Innovations and Food Safety*, 4(26), 109–116. (In Russian)] <https://doi.org/10.31677/2311-0651-2019-26-4-109-116>
16. Alba, K., MacNaughtan, W., Laws, A. P., Foster, T. J., Campbell, G. M., Kontogiorgos, V. (2018). Fractionation and characterisation of dietary fibre from blackcurrant pomace. *Food Hydrocolloids*, 81, 398–408. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.023>
17. Тимушева, О. К., Сорокопудов, В. Н. (2023). Сравнительная оценка сортов смородины черной в условиях средней подзоны тайги Республики Коми. *Овощи России*, 3, 73–78. [Timusheva, O. K., Sorokopudov, V. N. (2023). Comparative evaluation of black currant subzone of the taiga of the Komi Republic. *Vegetable Crops of Russia*, 3, 73–78. (In Russian)] <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2023-3-73-78>
18. Ejaz, A., Waliat, S., Afzaal, M., Saeed, F., Ahmad, A., Din, A. et al. (2023). Biological activities, therapeutic potential, and pharmacological aspects of blackcurrants (*Ribes nigrum* L.): A comprehensive review. *Food Science and Nutrition*, 11(10), 5799–5817. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3592>

19. Tian, Y., Laaksonen, O., Haikonen, H., Vanag, A., Ejaz, H., Linderborg, K. et al. (2019). Compositional diversity among blackcurrant (*Ribes nigrum*) cultivars originating from European countries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(19), 5621–5635. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00033>
20. Акимов, М. Ю., Бессонов, В. В., Коденцова, В. М., Эллер, К. И., Вржесинская, О. А., Бекетова, Н. А. и др. (2020). Биологическая ценность плодов и ягод российского производства. *Вопросы питания*, 89(4), 220–232. [Акимов, М. Ю., Bessonov, V. V., Kodentsova, V. M., Eller, K. I., Vrzhesinskaya, O. A., Beketova, N. A. et al. (2020). Biological value of fruits and berries of Russian production. *Problems of Nutrition*, 89(4), 220–232. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055>
21. Cosmulescu, S., Trandafir, I., Nour, V. (2015). Mineral composition of fruit in black and red currant. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*, 6(1), 43–51.
22. Оганесянц, Л. А., Песчанская, В. А., Дубинина, Е. В., Трофимченко, В. А. (2017). Подбор рас дрожжей для сбраживания фруктовой мезги, предназначенной для дистилляции. *Пиво и напитки*, 6, 26–30. [Oganesyants, L. A., Peschanskaya, V. A., Dubinina, E. V., Trofimchenko, V. A. (2017). Yeast selection for fruit pulp fermentation for further distillation. *Beer and Beverages*, 6, 26–30. (In Russian)]
23. Kelanne, N., Yang, B., Liljenbäck, L., Laaksonen, O. (2020). Phenolic compound profiles in alcoholic black currant beverages produced by fermentation with saccharomyces and non-saccharomyces yeasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(37), 10128–10141. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03554>
24. Kelanne, N. M., Siegmund, B., Metz, T., Yang, B., Laaksonen, O. (2022). Comparison of volatile compounds and sensory profiles of alcoholic black currant (*Ribes nigrum*) beverages produced with *Saccharomyces*, *Torulasporea*, and *Metschnikowia* yeasts. *Food Chemistry*, 370, Article 131049. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131049>
25. Дрофичева, Н. В., Причко, Т. Г. (2018). Функциональные продукты питания с использованием компонентов вторичного сырья сокового производства. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 80(3), 134–139. [Droficheva, N. V., Prichko, T. G. (2018). Functional food products with components of secondary raw materials of juice production. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 80(3), 134–139. (In Russian)] <http://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-5-134-139>
26. Бакин, И. А., Мустафина, А. С., Вечтомова, Е. А., Колбина, А. Ю. (2017). Использование вторичных ресурсов ягодного сырья в технологии кондитерских и хлебобулочных изделий. *Техника и технология пищевых производств*, 45(2), 5–12. [Bakin, I. A., Mustafina, A. S., Vechtomova, E. A., Kolbina, A. Yu. (2017). The use of secondary resources of fruit raw material in technology of confectionery and bakery products. *Food Processing: Techniques and Technology*, 45(2), 5–12. (In Russian)] <https://doi.org/10.21179/2074-9414-2017-2-5-12>
27. Cho, J., Kim, H.-J., Kwon, J.-S., Kim, H.-J., Jang, A. (2021). Effect of marination with black currant juice on the formation of biogenic amines in pork belly during refrigerated storage. *Food Science of Animal Resources*, 41(5), 763–778. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2021.e34>
28. Апак, Р. (2019). Current issues in antioxidant measurement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(33), 9187–9202. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03657>
29. Chitarrini, G., Debiasi, L., Stuffer, M., Ueberegger, E., Zehetner, E., Jaeger, H. et al. (2020). Volatile profile of mead fermenting blossom honey and honeydew honey with or without *ribes nigrum*. *Molecules*, 25(8), Article 1818. <https://doi.org/10.3390/molecules25081818>
30. Sommer, S., Hoffmann, J. L., Fraatz, M. A., Zorn, H. (2023). Upcycling of black currant pomace for the production of a fermented beverage with *Wolfiporia cocos*. *Journal of Food Science and Technology*, 60(4), 1313–1322. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05677-4>
31. Rimareva, L., Serba, E., Overchenko, M., Shelekhova, N., Ignatova, N., Pavlova, A. (2022). Enzyme complexes for activating yeast generation and ethanol fermentation. *Foods and Raw Materials*, 10(1), 127–136. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-1-127-136>
32. Серба, Е. М., Крючкова, Е. Р., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Павленко, С. В. (2024). Исследование процессов метаболизма спиртовых дрожжей при сбраживании гречишно-кукурузного суслу. *Пищевые системы*, 7(1), 77–83. [Serba, E. M., Kryuchkova, E. R., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Pavlenko, S. V. (2024). Investigation of metabolic processes of alcohol yeast during the fermentation of buckwheat-corn wort. *Food Systems*, 7(1), 77–83. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-1-77-83>
33. Серба, Е. М., Соколова, Е. Н., Курбатова, Е. И., Волкова, Г. С., Борщева, Ю. А., Римарева, Л. В. (2018). Ферментативный катализ как эффективный способ извлечения биологически ценных веществ из облепихового сырья. *Вопросы питания*, 87(S5), 236–237. [Serba, E. M., Sokolova, E. N., Kurbatova, E. I., Volkova, G. S., Borshcheva, Yu. A., Rimareva, L. V. (2018). Enzymatic catalysis as an effective way to extract biologically valuable substances from sea buckthorn raw materials. *Problems of Nutrition*, 87(S5), 236–237. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10347>
34. Серба, Е. М., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Соколова, Е. Н., Курбатова, Е. И. (2013). Разработка национальных стандартов по методам определения активности ферментных препаратов. *Пищевая промышленность*, 7, 40–44. [Serba, E. M., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Sokolova, E. N., Kurbatova, E. I. (2013). Development of national standards on methods for determining the activity of enzyme preparations. *Food Industry*, 7, 40–44. (In Russian)]
35. Поляков, В. А., Абрамова, И. М., Полягина, Г. В., Римарева, Л. В., Корчагина, Г. Т., Пискарева, Е. Н. (2007). Инструкция по техно-химическому и микробиологическому контролю спиртового производства. М.: ДеЛи Принт, 2007. [Polyakov, V. A., Abramova, I. M., Polygalina, G. V., Rimareva, L. V., Korchagina, G. T., Piskareva, E. N. Instruction on techno-chemical and microbiological control of alcohol production. Moscow: DeLi Print, 2007 (In Russian)]
36. Денисенко, Т. А., Вишниккин, А. Б., Цыганок, Л. П. (2015). Спектрофотометрическое определение суммы фенольных соединений в растительных объектах с использованием хлорида алюминия. 18-молибдодифосфата и реактива Фолина-Чокальгеу. *Аналитика и контроль*, 19(4), 373–380. [Denisenko, T. A., Vishnikin, A. B., Tsyganok, L. P. (2015). Spectrophotometric determination of sum of phenolic compounds in plants using aluminum chloride, 18-molybdo-diphosphate and Folin-Ciocalteu reagents. *Analytics and Control*, 19(4), 373–380. (In Russian)] <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.4.012>
37. Серба, Е. М., Оверченко, М. Б., Римарева, Л. В., Игнатова, Н. И., Орехова, А. Е., Павлова, А. А. (2020). Способы ферментативно-гидролитической подготовки зернового суслу для спиртового брожения. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*, 5, 52–56. [Serba, E. M., Overchenko, M. B., Rimareva, L. V., Ignatova, N. I., Orekhova, A. E., Pavlova, A. A. (2020). Fermentative hydrolytic preparation methods of cereal wort for alcohol fermentation. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*, 5, 52–56. (In Russian)] <https://doi.org/10.30850/vrsn/2020/5/52-56>
38. Серба, Е. М., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Медриш, М. Э., Павлова, А. А. и др. (2021). Подбор мультиэнзимной композиции и условий подготовки концентрированного зернового суслу. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 11(3), 384–392. [Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Medrish, M. E., Pavlova, A. A. et al. (2021). Selecting multi-enzyme composition and preparation conditions for strong wort. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 11(3), 384–392. (In Russian)] <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392>
39. Общая фармакопейная статья: ОФС.1.2.3.0022.15 Определение аминокислот азота методами формольного и йодометрического титрования. Электронный ресурс <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia-projects/izdanie-13/1/1-2/1-2-3/1-2-3-22/?vers=778> Дата доступа: 24.04.2024. [General Pharmacopoeial Article: OFS.1.2.3.0022.15 Determination of amine nitrogen by formal and iodometric titration methods. Retrieved from <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia-projects/izdanie-13/1/1-2/1-2-3/1-2-3-22/?vers=778> Accessed April 24, 2024 (In Russian)]
40. Поляков, В. А., Абрамова, И. М., Медриш, М. Э., Гаврилова, Д. А., Павленко, С. В. (2017). Применение жидкостной хроматографии для исследования органических кислот и углеводов в сусле и бражке. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 9, 20–23. [Polyakov, V. A., Abramova, I. M., Medrish, M. E., Gavrilova, D. A., Pavlenko, S. V. (2017). Application of high-performance liquid chromatography for research organic acids and carbohydrates in the wort and mash. *Storage and Processing of Farm Products*, 9, 20–23. (In Russian)]
41. Серба, Е. М., Абрамова, И. М., Римарева, Л. В., Оверченко, М. Б., Игнатова, Н. И., Грунин, Е. А. (2018). Влияние ферментных препаратов на технологические показатели зернового суслу и качество спирта. *Пиво и напитки*, 1, 50–54. [Serba, E. M., Abramova, I. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Grunin, E. A. (2018). Influence of enzymatic preparations on technological parameters of grain wort and quality of alcohol. *Beer and Beverages*, 1, 50–54. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2018-00002>
42. Абрамова, И. М., Римарева, Л. В., Туршатов, М. А. (2019) Исходные требования к качеству зернового сырья, обеспечивающие высокие показатели эффективности производства спирта. М.: Библио-Глобус, 2019. [Abramova, I. M., Rimareva, L. V., Turshatov, M. A. (2019). Initial requirements to the quality of grain raw materials ensuring high efficiency indicators of alcohol production. Moscow: Biblio-Globus, 2019. (In Russian)] <https://doi.org/10.18334/9785907063556>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Серба Елена Михайловна — доктор биологических наук, доцент, профессор РАН, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-916-515-92-73 E-mail: serbae@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-1660-2634 * автор для контактов</p>	<p>Elena M. Serba, Doctor of Biological Sciences, Docent, Professor of the Russian Academy of Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Research, Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4B, Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-916-515-92-73 E-mail: serbae@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-1660-2634 * corresponding author</p>
<p>Соколова Елена Николаевна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-467-8 E-mail: elenaniksokolova@inbox.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6084-7786</p>	<p>Elena N. Sokolova, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4B, Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-46-78 Email address: elenaniksokolova@inbox.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6084-7786</p>
<p>Римарева Любовь Вячеславовна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-46-78 E-mail: lrimareva@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3097-0836</p>	<p>Lyubov V. Rimareva, Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4B, Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-46-78 E-mail: lrimareva@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3097-0836</p>
<p>Ионов Владислав Виталиевич — инженер-технолог, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-46-78 E-mail: ionow.vlad2014@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7383-8707</p>	<p>Vladislav V. Ionov, Process Engineer, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4B, Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-467-8 E-mail: ionow.vlad2014@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7383-8707</p>
<p>Игнатова Надежда Иосифовна — научный сотрудник, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-467-8 E-mail: ignatova59@list.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8416-7478</p>	<p>Nadezhda I. Ignatova, Research Assistant, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4B, Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-3624678 E-mail: ignatova59@list.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8416-7478</p>
<p>Оверченко Марина Борисовна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, отдел биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи 111033, Москва, Самокатная ул. 4-Б Тел.: +7-495-362-46-78 E-mail: mb_over@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0191-5897</p>	<p>Marina B. Overchenko, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids and Dietary Supplements, Russian Research Institute of Food Biotechnology — Branch of Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety 4B, Samokatnaya str., 111033, Moscow, Russia Tel.: +7-495-362-46-78 E-mail: mb_over@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0191-5897</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-560-567>



Поступила 04.10.2024

Поступила после рецензирования 25.11.2024

Принята в печать 29.11.2024

© Лепилкина О. В., Григорьева А. И., 2024

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

Обзорная статья

Open access

ПРОТЕОМНЫЕ МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БЕЛКОВ МОЛОКА

Лепилкина О. В.*, Григорьева А. И.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

молочные белки, пептиды, электрофорез, хроматография, вестерн-блоттинг, масс-спектрометрия

В обзоре представлены наиболее распространенные методы протеомики, основанные на разделении и идентификации белков, с примерами их использования для исследования белковой системы молока и молочных продуктов. Описана сущность электрофоретических и хроматографических методов разделения белков и пептидов и их идентификации с помощью вестерн-блоттинга и масс-спектрометрии. Приведены основные разновидности методов электрофореза (нативный, двумерный, в полиакриламидном геле с мочевиной, иммуноэлектрофорез, капиллярный) и методов хроматографии (газовая, жидкостная, ионообменная, гель-фильтрация, аффинная). Отмечено, что основным направлением исследований с применением указанных методов, имеющим как научное, так и прикладное значение, является выявление фальсификаций состава молока и молочных продуктов. Такие фальсификации связаны с преднамеренным добавлением сухого молока и подсырной сыворотки, а также с подменой молока-сырья на молоко других животных, что недопустимо при производстве сыров с защищенным наименованием места происхождения (PDO) или с защищенным географическим указанием (PGI). Другим важным направлением исследований является изучение протеолитических процессов, протекающих при созревании сыров. На основании этих процессов можно устанавливать степень зрелости сыра и его видовую принадлежность, которая зависит от технологии изготовления. Учитывая многообразный ассортимент сыров разных стран, таких исследований явно недостаточно.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена по государственному заданию № FGUS-2024-0007 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН.

Received 04.10.2024

Accepted in revised 25.11.2024

Accepted for publication 29.11.2024

© Lepilkina O. V., Grigorieva A. I., 2024

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

Review article

Open access

PROTEOMIC METHODS FOR SEPARATION AND IDENTIFICATION OF MILK PROTEINS

Olga V. Lepilkina*, Anastasia I. Grigorieva

All-Russian Research Institute of Butter and Cheese Making, Uglich, Yaroslavl Region, Russia

KEY WORDS:

milk proteins, peptides, electrophoresis, chromatography, western blotting, mass spectrometry

ABSTRACT

The review presents the most common proteomics methods based on separation and identification of proteins, with examples of their use for studying the protein system of milk and dairy products. The essence of electrophoretic and chromatographic methods for separating proteins and peptides and their identification using Western blotting and mass spectrometry is described. The main types of electrophoresis methods (native, two-dimensional, in polyacrylamide gel with urea, immunoelectrophoresis, capillary) and chromatography methods (gas, liquid, ion exchange, gel filtration, affinity) are given. It is noted that the main direction of research using these methods, which has both scientific and applied significance, is the detection of falsifications in the composition of milk and dairy products. Such falsifications are associated with the deliberate addition of dry milk and cheese whey, as well as with the replacement of raw milk by milk from other animals, which is unacceptable in the production of cheeses with a protected designation of origin (PDO) or a protected geographical indication (PGI). Another area is research into the proteolytic processes that occur during the maturation of cheeses, on the basis of which their degree of maturity and species can be determined depending on the manufacturing technology. Given the wide range of cheeses from different countries, such research is clearly insufficient.

FUNDING: The work was performed according to the state task No. FGUS-2024-0007 of the V. M. Gorbатов Federal Scientific Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

1. Введение

Протеом коровьего молока представляет собой комплекс белков, состоящий из казеинов (α -, β - и κ -казеин), сывороточных белков (β -лактоглобулин, α -лактальбумин, лактоферрин, бычий сывороточный альбумин, иммуноглобулины) и белков оболочки жировых глобул [1]. Этот перечень лишь частично отражает сложность молочного протеома, которая обусловлена наличием многочисленных генетических вариантов [2,3] и посттрансляционных модификаций [4,5], происходящих на протяжении всего цикла жизни белков: от синтеза в вымени лактирующего животного до процесса пищеварения в желудочно-кишечном тракте человека [6,7,8]. На протеом молока существенное влияние оказывают вид и порода животных [9], особенности их кормления [10], стадия лактации и условия содержа-

ния [11]. Посттрансляционные модификации белков с нарушением функциональных свойств возникают из-за заболеваний животных, в частности, маститом [12,13].

Структура и форма белков молока динамична и изменчива, так как они обладают способностью к разнообразным внутри- и межмолекулярным взаимодействиям. В процессе преобразования молока в тот или иной молочный продукт белки подвержены влиянию многих факторов, под действием которых происходит их изменение с приобретением новых свойств. Так, например, результатом термической обработки молока является гликозилирование белков вследствие взаимодействия аминокислоты лизина (как в казеинах, так и в сывороточных белках) с лактозой (ранняя реакция Майяра) [14]. Денатурация сывороточных белков при высокой температуре

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Лепилкина, О. В., Григорьева, А. И. (2024). Протеомные методы разделения и идентификации белков молока. *Пищевые системы*, 7(4), 560–567. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-560-567>

FOR CITATION: Lepilkina, O. V., Grigorieva, A. I. (2024). Proteomic methods for separation and identification of milk proteins. *Food Systems*, 7(4), 560–567. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-560-567>

приводит к образованию сложной смеси агрегатов сывороточного белка и покрытых сывороточным белком мицелл казеина [15]. Влияние высокой температуры проявляется также в изменении пептидного профиля с повышением числа выявляемых полипептидов из-за разрушения оболочек жировых шариков и выхода оболочечных белков в плазму молока [16,17]. Влияние pH среды выражается в изменении конформации и функциональной активности белков вследствие изменения заряда их молекул [18,19].

Протеолитические процессы, протекающие под действием ферментов (нативных, молокозвертывающих, продуцируемых молочнокислыми микроорганизмами), вызывают наиболее существенные изменения протеома молока, приводя к образованию пептидов с различной молекулярной массой, аминокислот и продуктов их дальнейшего распада [20,21]. Одним из недавних открытий является то, что все молочные белки содержат последовательности, которые обладают биологической/физиологической активностью при высвобождении в результате протеолиза. Наиболее изученными являются фосфопептиды, пептиды, ингибирующие ангиотензинпревращающий фермент, пептиды, модифицирующие тромбоциты, а также опиазные, иммуномодулирующие, антиаллергенные, антимикробные пептиды и казеиномакропептиды, обладающие многими биологическими свойствами [1,5,22,23].

Изменчивость протеома молока, структура, функции и взаимодействие белков в зависимости от множества факторов представляет интерес для исследователей на протяжении многих десятилетий [24]. Протеомные исследования начались задолго до появления термина «протеом», который впервые был предложен австралийским ученым M. R. Wilkins [25] и принят в 1994 г. на 2 Международном конгрессе по двумерному электрофорезу в г. Сиена, Италия. Интерес научного сообщества к этим исследованиям не только не исчезает, но и усиливается из-за появления новых методических возможностей разделения и идентификации белков.

В этой статье представлен обзор наиболее распространенных в настоящее время методов протеомики, в основу которых положены процедуры разделения и идентификации белков, с примерами их использования при исследовании белковой системы молока и молочных продуктов.

2. Объекты и методы

Методология проведенного исследования заключалась в поиске, чтении, анализе и систематизации литературных источников, освещающих признанные в мировой практике методы изучения белков. Поиск публикаций проводили в библиографических базах Google Scholar, Scopus, Web of Science, Elsevier, eLIBRARY.RU, RSCI. С целью оценки ретроспективных изменений методов протеомики поиск охватывал временной период 1980–2024 гг. Из многообразия используемых методов протеомики отбирались методы, основанные на разделении и идентификации белков. Учитывая их широкую область применения, основным критерием при отборе статей для последующего анализа была их причастность к исследованиям белков молока и молочных продуктов.

3. Методы разделения белков

Разделение белков — это первая стадия протеомных исследований, необходимая для их последующей идентификации. Для этого чаще всего используются электрофоретические и хроматографические методы в различных вариациях.

3.1. Электрофорез

Электрофорез — это процесс разделения макромолекул, присутствующих в геле или жидкости, на основе их связывающей способности, размера и заряда под действием электрического поля.

Электрофоретические методы разделения белков послужили началом развития протеомики. Принцип их работы заключается в движении заряженных молекул под действием электрического поля. Разделение белков происходит вследствие их различной подвижности, зависящей от суммарного заряда молекул, от их молекулярных масс и от конфигурации молекул.

Электроразаряженность белковых молекул обусловлена наличием на их поверхности функциональных групп, способных к электрической диссоциации. В белковых молекулах одновременно присутствуют как положительно, так и отрицательно заряженные группы. По этой причине суммарные заряды разных белков могут значительно отличаться друг от друга. Величина суммарного заряда молекулы определяется количеством заряженных групп, их природой, а также кислотностью (pH) окружающей среды. Суммарный заряд макромолекулы может изменяться при ее взаимодействии с низкомолекулярными ионами и другими заряженными молекулами [26].

Электрофорез проводят с использованием гелей (крахмальных, полиакриламидных, агарозных, полиакриламидно-агарозных). В настоящее время наиболее распространенным и широко применяемым является полиакриламидный гель. Он позволяет не только разделять смеси белков, содержащих большое число разных молекул, но и характеризовать их по заряду и молекулярной массе. В отличие от других гелей, полиакриламидный гель имеет ряд преимуществ: он прозрачен, химически стабилен, инертен, устойчив к изменению pH и температуры. Используя различную концентрацию полимера, можно получать гели с широким диапазоном размеров пор, что обеспечивает его высокую разрешающую способность. Можно также изменять электрический заряд макромолекул путем изменения pH буферного раствора, а введением в буферный раствор денатурирующих агентов или детергентов — изменять их конформацию [1]. Таким образом, вариации условий осуществления электрофореза позволяют решать различные задачи протеомики.

3.1.1. Нативный гель-электрофорез

Нативный гель-электрофорез (PAGE от англ. Polyacrylamide Gel Electrophoresis) является самым простым методом электрофоретического разделения белков. Этот метод сохраняет белки в их нативной конформации. Разделение белков в данном случае основано только на заряде и трении при движении молекул белка через гель. Скорость движения белка через матрицу геля — электрофоретическая подвижность — будет зависеть от размера и формы молекулы, от вязкости буфера и от размера пор гелевой сетки. Маленькие белки будут мигрировать через гель быстрее, чем более крупные белки, которые испытывают большее сопротивление миграции [1,27].

Поскольку различные фракции казеина имеют близкие значения изоэлектрических точек (pI), нативный электрофорез не подходит для разделения фракций казеина. Однако этот метод позволяет идентифицировать сывороточные белки и может быть полезен для обнаружения любых изменений нативной конформации в заданных условиях [27].

Интересен опыт применения нативного электрофореза для обнаружения межвидовой фальсификации молока. Авторы M. Pesic, M. Barac, M. Vrvic et al. [28] использовали этот метод для одновременного качественного и количественного определения присутствия коровьего молока в козьем и овечьем молоке. Количественная оценка была основана на измерении интенсивности полос β -лактоглобулина и α -лактальбумина коровьего молока в смесях с козьим и овечьим молоком. Установлены линейные зависимости интенсивности полос β -лактоглобулина и α -лактальбумина от объемного процента добавленного коровьего молока (коэффициент корреляции от 0,9950 до 0,9998), по которым можно определить количество коровьего молока в широком диапазоне (от 3–5% до 90%) в смесях козьего/коровьего и овечьего/коровьего молока.

Нативный электрофорез в сочетании с другими электрофоретическими методами позволяет выявить влияние различных физических воздействий на белки молока, вызывающие конформационные изменения их молекул. Например, взаимодействие казеина и сывороточных белков, индуцированное нагреванием, можно оценить путем сравнения электрофоретических профилей, полученных методами нативного PAGE и SDS-PAGE. Результаты таких исследований представлены в работе [29], где изучены тепловые взаимодействия между сывороточными белками и казеинами в козьем и коровьем молоке. Было установлено, что после нагревания молока (90 °C 10 мин) менее 3% общего количества β -лактоглобулина оставались стабильными как в козьем, так и в коровьем молоке. В коровьем молоке α -лактальбумин был более термостабилен, чем его аналог в козьем молоке (29,6% против 3,82%). Практически все денатурированные сывороточные белки козьего молока (> 95%) были связаны с мицеллами казеина, образования растворимых комплексов не наблюдалось. Результаты данных исследований могут быть полезны для понимания различий в технологическо-функциональных свойствах козьего и коровьего молока.

3.1.2. Двумерный гель-электрофорез

Метод разделения белков двумерным электрофорезом в полиакриламидном геле (2D-GE) был разработан в 1975 г. и положил начало протеомики как науки. С момента первого описания в научной литературе [30] двумерный гель-электрофорез претерпел некоторые модификации, но до настоящего времени является предпочтительным методом разделения белков [31,32,33,34].

Разделение белков в 2D-GE происходит по двум свойствам: по изоэлектрической точке (в первом измерении) и по молекулярной массе (во втором измерении, перпендикулярном к первому).

Для разделения по изоэлектрической точке (метод изоэлектрического фокусирования [1]) используют полиакриламидный гель с большими порами, через которые свободно проникают даже самые крупные макромолекулы. Гель содержит ковалентно пришитые амфолиты, создающие градиент pH. Под действием постоянного электрического поля молекулы белков перемещаются в область pH, соответствующую по величине изоэлектрической точке (pI) данного белка. Изоэлектрическое фокусирование заканчивается при достижении равновесного состояния, когда все протеоформы достигли областей pH, соответствующих их pI.

Разделение белков по массе (во втором измерении) обеспечивается добавлением в гель натрия додецилсульфата (SDS), который представляет собой анионное поверхностно-активное вещество — детергент. При его взаимодействии с белком происходит солиubilизация белка детергентом, в результате которой вся поверхность белковой молекулы покрывается множеством отрицательных зарядов. Совместное использование полиакриламидного геля и натрия додецилсульфата (метод SDS-PAGE) устраняет влияние структуры и заряда, вследствие чего белки разделяются по молекулярной массе. В результате все белки, во-первых, сохраняют только свою первичную структуру и, во-вторых, имеют большой отрицательный заряд. При загрузке в гелевую матрицу и помещении в электрическое поле отрицательно заряженные молекулы белка мигрируют к аноду и разделяются за счет эффекта молекулярного просеивания [1,35].

Двумерный гель-электрофорез является весьма эффективным методом при разделении белков, имеющих схожие молекулярные массы или изоэлектрические точки. К недостаткам этого метода можно отнести сравнительно узкий диапазон молекулярных масс разделяемых белков: от 8 до 150 кДа. Кроме того, данный метод ограничен в обнаружении минорных и экстремальных белков, что требует предварительной подготовки образцов [1]. Низкая эффективность отмечается и при анализе гидрофобных белков [31].

Voehmer с соавторами [36] применили двумерный гель-электрофорез (2D-GE) в сочетании с масс-спектрометрией MALDI-TOF для анализа белкового состава сыворотки коровьего молока. Исследование было направлено на сравнение здорового молока и молока, инфицированного бактерией *Escherichia coli*. Анализ образцов сыворотки, взятых до и после заражения (спустя 18 часов), выявил существенные различия в белковых профилях. В маститной сыворотке по сравнению с обычной сывороткой наблюдалось большее количество дифференциально экспрессируемых белков. Профили 2D-GE молочной сыворотки от здоровых коров демонстрировали обилие белков казеина, включая варианты α_{s1} -казеина, β -казеина и κ -казеина, а также сывороточных белков, сывороточного альбумина, β -лактоглобулина и α -лактальбумина. Также через 18 часов после заражения были обнаружены антимикробные пептиды кателицидин, индолицидин и бактенецин 5 и 7, а также белки β -фибриноген, α -2-HS-гликопротеин, S100-A12 и α -1-антипротеиназа. Наиболее примечательным было обнаружение в образцах маститной сыворотки белка острой фазы α -1-кислого гликопротеина. На основании результатов исследований авторы считают, что применение метода двумерного гель-электрофореза с последующей времяпролетной масс-спектрометрией позволяет быстро изучить изменения содержания белка в молоке при колиформном мастите и помочь в идентификации биомаркеров этого заболевания.

3.1.3. Электрофорез в полиакриламидном геле с мочевиной (Urea PAGE).

Мочевина, как и натрий додецилсульфат, является известным денатурантом белков. Ее целесообразно использовать при разделении белков, прежде всего, казеинов, склонных к агрегации и осаждению, а также для разделения белков, которые мало различаются по изоэлектрической точке и по молекулярной массе [1,27].

Денатурация белка в полиакриламидном геле в присутствии мочевины происходит вследствие взаимодействия мочевины с белком через водородные связи с участием пептидов основной цепи. Она может выступать как донором, так и акцептором водорода, что делает мочевиной предпочтительной молекулой для образования водородных связей. Пептидные связи также могут выступать в качестве донора и акцептора водорода. В результате мочевина разрушает внутримолекулярные водородные связи, участвующие в образовании вторичной, третичной и четвертичной структуры белка, что приводит к его денатурации. Мочевина также может удалять упорядоченные молекулы воды из карманов белковых молекул и нарушать гидрофобные взаимодействия. Связывание мочевины с белком не меняет суммарный заряд белка, так как мочевина имеет нейтральный суммарный заряд [27].

Urea PAGE изначально хорошо зарекомендовал себя при исследовании белковой системы сыров: электрофоретические характеристики молочных белков, выделенных из различных образцов сыра, существенно различались [37]. И до настоящего времени он успешно используется не только для выявления видовых различий сыров, но и для исследования протеолитических процессов, протекающих при их созревании. Так, авторы Mane и Sweeney [38] применили электрофорез в полиакриламидном геле с мочевиной для исследования протеолиза в ирландском фермерском сыре Камамбер с целью выявления особенностей процесса его созревания. Наблюдения в течение 10 недель показали деградацию казеинов: первоначально из-за действия химозина и плазмина, а позже — из-за протеиназ *Penicillium camemberti*. Были определены протеолитические особенности протеиназ *Penicillium camemberti* в отношении казеинов в гидролизатах молока и идентифицированы 64, 6, 28 и 2 сайта расщепления в α_{s1} -, α_{s2} -, β - и κ -казеине соответственно. Получена новая информация о пептидах, образующихся во время созревания, и установлены фрагменты молекул, наиболее восприимчивые к протеолизу: для α_{s1} -казеина — 1–40, 79–114 и 168–199; для α_{s2} -казеина — 42–79 и 97–116; для β -казеина — 40–57, 101–125, 143–189 и 165–209; для κ -казеина — 31–81 и 124–137.

Для изучения изменений конформации и четвертичной структуры белков широко используется электрофорез в полиакриламидном геле с поперечным градиентом мочевины. Методически это осуществляется сравнением структур, полученных для нативной субъединицы и для денатурированного белка в гелях с градиентным изменением концентрации мочевины [39]. При электрофорезе в градиентном геле мочевины эффективный размер молекулы белка из-за разворачивания значительно изменяется вдоль поперечного линейного градиента концентрации мочевины, а суммарный заряд молекулы не меняется. Развернутый белок мигрирует медленнее, чем нативный белок. Это позволяет отслеживать конформационные переходы, стимулируемые мочевиной, путем измерения относительной подвижности белка в зависимости от концентрации мочевины. Благодаря разделению структурно различных молекул в геле, электрофорез в градиенте мочевины потенциально способен обнаруживать и идентифицировать количественно переходные кинетические промежуточные продукты, заселяемые во время разворачивания и рефолдинга белка, которые не обнаруживаются в равновесных экспериментах [40].

3.1.4. Иммуноэлектрофорез

Под общим термином «иммуноэлектрофорез» подразумевается ряд методов разделения и характеристики белков, основанных на электрофорезе и на реакции с антителами. В качестве антигенов во всех вариантах иммуноэлектрофореза используются иммуноглобулины — защитные белки, которые иммунная система производит для борьбы с вирусами, бактериями, паразитами и аллергенами. Этот тип электрофореза превосходит остальные по чувствительности и разрешающей способности.

Иммуноэлектрофоретические методы были разработаны и широко использовались во второй половине XX века, в том числе для исследования молочных белков. В хронологической последовательности появились такие варианты метода: иммуноэлектрофоретический анализ (одномерный иммуноэлектрофорез), перекрестный иммуноэлектрофорез (двумерный количественный иммуноэлектрофорез), ракетно-иммуноэлектрофорез (одномерный количественный иммуноэлектрофорез), реактивный иммуноэлектрофорез с плавлением, аффинный иммуноэлектрофорез.

С помощью одномерного иммуноэлектрофореза было изучено влияние нагревания на белки молока [41], проведена идентификация белков коровьего молока [42]. Методом перекрестного иммуноэлектрофореза был проведен сравнительный анализ мембранных белков различных видов млекопитающих [43] и исследован белковый состав оболочек жировых глобул коровьего молока [44,45].

В настоящее время иммуноэлектрофорез в исследованиях белков молока (также, как и в исследованиях белков мяса) широко не распространен, что может быть связано со сложной подготовкой геля и процедур иммуноокрашивания, а также из-за необходимости использования специфических антител [46].

3.1.5. Капиллярный электрофорез

Метод капиллярного электрофореза основан на разделении заряженных компонентов сложной смеси в кварцевом капилляре под действием приложенного электрического поля за счет подачи высокого напряжения к концам капилляра [47].

Метод капиллярного электрофореза с момента своего возникновения в 80-е годы XX века постоянно совершенствуется. За последние

10 лет он превратился в мощный и эффективный инструмент анализа пищевых продуктов. Его аналитические возможности существенно расширены, а именно: понижены пределы обнаружения искоемых веществ вследствие применения новых подходов к внутрикапиллярному концентрированию, а также повышена эффективность разделения за счет использования ковалентно связанных и динамических покрытий стенок кварцевого капилляра с применением наночастиц и наноструктурированных полимеров [48].

С момента своего возникновения метод подвергался постоянным доработкам с целью повышения эффективности разделения за счет модификации внутреннего покрытия капилляра и состава подвижной фазы. Так, например, авторами / исследователями De Jong и др. [49] было предложено использовать капилляр с гидрофильным покрытием, снижающим адсорбцию разделяемых веществ на его стенках, а в качестве подвижной фазы использовать водный раствор, содержащий 6 М мочевины и метилгидроксиэтилцеллюлозу, с низким значением pH (2,5–3,0). При этих условиях проходило полное разделение сывороточных белков и казеинов в коровьем, козьем, овечьем молоке, а также термически поврежденного казеина.

Разделение молочных белков капиллярным электрофорезом позволило осуществить его практическое применение в части обнаружения фальсификаций молока и молочных продуктов. Cartoni с соавторами [50] описано использование капиллярного электрофореза для идентификации и количественного определения коровьего молока в продуктах из козьего молока по присутствию определенных сывороточных белков. Chen и Zang [51] установили возможность использования этого метода для выявления фальсификации натурального молока сухим молоком по соотношению β -казеина к α -лактальбумину.

Капиллярный электрофорез позволяет проводить анализ белков и крупных пептидов с высоким разрешением и может быть успешно применен для оценки степени первичного протеолиза в различных видах сыра [52,53,54].

Как известно, первоначальное расщепление казеина в сыре происходит из-за совместного действия молокосвертывающего фермента и плазмينا [55]. При этом соотношение α ₁-I-казеин/ α ₁-казеин можно рассматривать как показатель протеолитической активности химозина, а соотношение γ -казеин/ β -казеин — как показатель протеолитической активности плазмина. Такой подход применили итальянские исследователи [56] для оценки подлинности национального сыра Fontina с защищенным обозначением происхождения (PDO) из сырого молока в сравнении с аналогом — сыром Fontal. Разложение фракций казеина они проводили с использованием капиллярной колонки с гидрофильным покрытием, методом капиллярного зонного электрофореза. Установленные различия объяснялись отклонениями параметров технологических процессов при изготовлении сыра Fontal от строго установленных для сыра Fontina. В первую очередь это касалось температуры второго нагревания и типа применяемого молокосвертывающего фермента.

На капиллярном электрофорезе обычно основаны рутинные методы профилирования белков коровьего молока, которые не позволяют однозначно подтвердить идентичность разделенных белков. Поэтому максимальная эффективность применения капиллярного электрофореза предусматривает его сочетание с масс-спектрометрией — наиболее распространенным методом идентификации белков. Ghafoori и др. [57] предложили новый метод капиллярного электрофореза-масс-спектрометрии в режиме положительной ионизации электрораспылением. В оптимизированных условиях этот метод позволил разделить и идентифицировать на интактном уровне основные белки коровьей молочной сыворотки и казеина менее чем за 15 минут.

3.2. Хроматография

Хроматография — процесс разделения веществ, находящихся в смеси или в растворе, на составляющие компоненты в системе двух фаз, одна из которых неподвижна, а другая перемещается относительно первой. Перемещение способствует миграции веществ, при этом неподвижная фаза не изменяется, а каждый компонент движется независимо от других с собственной скоростью.

По агрегатному состоянию системы, в которой происходит разделение веществ, хроматография разделяется на газовую и жидкостную. По механизму разделения — на распределительную, адсорбционную, ионообменную, гель-хроматографию, аффинную. Возможно сочетание нескольких одновременно протекающих процессов с различными механизмами разделения, но один из них всегда является доминирующим.

3.2.1. Газовая хроматография

В газовой хроматографии подвижной фазой является газ. В зависимости от состояния неподвижной фазы газовая хроматография подразделяется на газо-адсорбционную (когда неподвижной фазой является твердый адсорбент) и газо-жидкостную (когда неподвижной фазой является жидкость или, точнее, пленка жидкости на поверхности частиц твердого адсорбента).

Газовая хроматография в основном используется для исследования летучих ароматических соединений, присутствующих в молоке и в молочных продуктах, в первую очередь в сыре [58]. Образующиеся в результате протеолиза пептиды разного размера и свободные аминокислоты способствуют образованию вкуса, общего для большинства сыров, а свободные аминокислоты являются важными предшественниками широкого спектра катаболических реакций, которые производят летучие соединения, формирующие вкус и аромат сыров [59].

3.2.2. Жидкостная хроматография

В основе этого метода лежит адсорбция определяемых компонентов, находящихся в растворенном состоянии, твердым веществом, играющим роль неподвижной фазы. В качестве адсорбентов в адсорбционно-жидкостной хроматографии применяются органические и неорганические вещества: сахароза, крахмал, оксид алюминия, силикагель, активированный уголь и др. Разделение компонентов смеси происходит вследствие различия их физических свойств (электрического заряда, молекулярной массы, гидрофобности), обуславливающих их сродство к каждой фазе. Чем лучше вещество растворимо в жидкой подвижной фазе, тем дальше оно продвинется по направлению тока растворителя, демонстрируя низкое сродство к неподвижной фазе. Вещества, плохо растворимые в подвижной фазе, расположатся ближе к точке нанесения. Таким образом, сначала из колонки элюируются соединения с низким сродством к неподвижной фазе, за которыми следуют более прочно удерживаемые соединения [60].

К методам жидкостной хроматографии относятся ионообменная хроматография, гель-фильтрация, аффинная хроматография. Особое место в этом ряду занимает высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), называемая также жидкостной хроматографией высокого давления. Это наиболее перспективный и широко используемый аналитический вариант классической колоночной хроматографии в современном приборном исполнении.

3.2.3. Ионообменная хроматография

Основана на способности некоторых твердых веществ (ионитов) обмениваться ионами с подложными разделению веществами. Применяемые в ионообменной хроматографии иониты могут быть как органическими, так и неорганическими. Способность к ионному обмену определяется строением ионита, представляющего собой каркас, на котором закреплены активные группы ($-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{NH}_2\text{Cl}$, $-\text{NH}_2\text{Cl}$ и др.). В зависимости от обмена катионов или анионов иониты делят на катиониты, аниониты и амфолиты. На принципах ионообменной хроматографии основано разделение аминокислот в аминокислотных анализаторах [61,62].

3.2.4. Гель-фильтрация (гельпроницающая хроматография)

Гельпроницающая хроматография основана на различии в размерах, форме и молекулярных массах белков и пептидов. Этот метод предполагает отсутствие взаимодействия между неподвижной фазой (гелем) и растворенным веществом. Разделение происходит в хроматографических колонках, заполненных сферическими частицами набухшего геля (размером 10–500 мкм) из полимерных материалов. Частицы геля проницаемы благодаря внутренним каналам, которые характеризуются определенным средним диаметром. При прохождении раствора образца через гранулы пористого геля разделение молекул происходит исключительно по их размеру. Чем меньше молекулы, тем легче они проникают сквозь поры внутрь гранул геля и поэтому дольше задерживаются там. Путь их прохождения через колонку получается длиннее, чем у более крупных молекул белков и пептидов, которые не способны проникать внутрь пористых гранул геля.

Известно применение метода гель-фильтрации для оценки процесса созревания сыров путем анализа так называемых пептидных профилей [63]. Различия в качественном составе пептидных фракций и их количественные соотношения позволяют изучить особенности протекания протеолитических процессов при созревании сыров, а также выявить видовые различия зрелых сыров, изготавливаемые по разным технологиям.

3.2.5. Аффинная хроматография

Сущность метода аффинной хроматографии заключается в специфическом взаимодействии белков с особыми веществами — лигандами, закрепленными на неподвижной фазе. Используемые

молекулы лигандов не должны вызывать неестественные взаимодействия и изменять конформацию присоединяемого к ним белка. Распространенным вариантом аффинной хроматографии является иммуноаффинная хроматография с использованием антител в качестве лигандов.

При пропуске смеси белков через колонку все молекулы, которые не обладают сродством к лиганду, закрепленному на носителе, пройдут не задерживаясь. А белок, имеющий сродство к аффинному лиганду, будет адсорбироваться на колонке. После этого адсорбированный белок с колонки вымывают буферными смесями с измененной величиной pH, ионной силой, а также введением в состав элюента веществ, ослабляющих связи между белками и лигандами.

Применительно к молочным белкам аффинная хроматография была применена для выделения β -лактоглобулина из молочной сыворотки, а также для извлечения мелких белков из изолятов сывороточного белка. Этот метод может быть использован также для концентрирования, выделения и идентификации второстепенных катионных белков, таких как лактоферрин и другие факторы роста [64,65], меламина [66].

Вышеописанные методы разделения белков необходимы и обязательны для их последующей идентификации и потому в протеомном анализе они используются в комбинации с методами, позволяющими обнаружить и распознать отдельные белки.

4. Методы идентификации белков

К наиболее популярным методам идентификации белков после их разделения электрофоретическими или хроматографическими методами относятся вестерн-блоттинг и масс-спектрометрический анализ.

4.1. Вестерн-блоттинг

Вестерн-блоттинг представляет собой процедуру, целью которой является обнаружение определенного (специфического) белка в исследуемом объекте. Белки обычно анализируются после разделения с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE) в соответствии с их массой или с помощью двумерного электрофореза в геле (2-DE) в соответствии с их pI и массой. Затем разделенные белки переносятся на мембраны, где конкретные интересующие белки могут быть обнаружены с помощью антител, распознающих цель [67,68,69].

Количественный вестерн-блоттинг состоит из четырех основных этапов: 1 — разделение белков по размеру; 2 — перенос белка на твердую подложку (мембрану); 3 — маркировка целевого белка с использованием соответствующих первичных и вторичных антител для визуализации; 4 — полуколичественный анализ [70].

С момента своего возникновения в 1979 г. [71,72] блоттинг белков постоянно развивался. В настоящее время существуют различные способы и средства его осуществления. Перенос белков может осуществляться методами, основанными на принципах простой диффузии, вакуумного потока растворителя, электрофоретического элюирования и др. Один из последних вариантов осуществления этого метода представлен в протоколе, разработанном колумбийскими учеными [73].

В публикациях, освещающих использование вестерн-блоттинга при изучении молочных белков, преобладают направления, связанные с обнаружением фальсификации состава молока и молочных продуктов. Среди них следует отметить работу Chávez и др. [74] о применении вестерн-блоттинга с использованием поликлональных антител для обнаружения гликомакропептида в молоке и в других пищевых системах, содержащих подсырную сыворотку. Это может быть полезно при установлении фальсификации молока подсырной сывороткой, присутствие которой можно обнаружить идентификацией гликомакропептида. В данном случае гликомакропептид является специфическим маркером, т. к. он отсутствует в молоке, но присутствует в сыворотке, образующейся при производстве сыра. Это является результатом свертывания молока сычужным ферментом под действием химозина, когда молочный белок (κ -казеин) распадается на два пептида. Более крупный пептид, называемый пара- κ -казеином (остатки 1–105), остается в структуре образующегося геля, а меньший — гликомакропептид (остатки 106–169) — переходит в сыворотку. Он представляет собой гликозилированный растворимый пептид с молекулярной массой 6,8 кДа без гликозидной части. Гликомакропептид является специфическим компонентом подсырной сыворотки и должен отсутствовать в нефальсифицированном молоке. Авторы сообщают, что с помощью вестерн-блоттинга можно обнаружить в молоке 0,001% гликомакропептида, 0,5% жидкой и 0,001% сухой подсырной сыворотки.

Следует отметить, что гликомакропептид, выделяемый из подсырной сыворотки, обладает высокими питательными свойствами и относится к функциональным ингредиентам. Некоторые компании по производству молочных продуктов уже коммерциализируют его, чтобы воспользоваться его потенциалом в качестве пищевой добавки. Вместе с тем он является маркером фальсификации молока подсырной сывороткой, который использовался в различных методах анализа, в том числе ВЭЖХ [75].

В работе Molina и соавторов [76] сывороточные белки молока α -лактальбумин и β -лактоглобулин рассматриваются как фальсифицирующие агенты в соевом молоке. Для их обнаружения был применен метод вестерн-блоттинга после разделения соевых и молочных белков с помощью SDS-PAGE. После электрофоретического разделения была проведена иммунодетекция с антисыворотками против α -лактальбумина и β -лактоглобулина. Авторы утверждают о возможности обнаружения фальсификации сывороточными белками молока в различных видах соевого молока (в сухом соевом молоке и соевых детских смесях) на минимальном уровне 0,1%.

В работе этих же ученых [77] представлены результаты исследований по обнаружению пастеризованного и ультрапастеризованного коровьего молока, а также термически денатурированных сывороточных белков коровьего молока в сырах, изготовленных из молока других животных (овечьего, козьего и буйволиного). Для этого использовался вестерн-блоттинг β -лактоглобулина, выделенного из казеиновой фракции, с иммунодетекцией антисывороткой. Изучалась селективность антисывороток в реакции с нативным и денатурированным β -лактоглобулином. Установлено, что иммуноблоттинг нативных пластинок PAGE сывороточных белков из сыра позволяет обнаруживать денатурированные под действием тепла сывороточные белки коровьего молока или пастеризованное коровье молоко, добавленные в сыр даже в количестве менее 1%.

В публикации турецких ученых [78] приведены результаты сравнительных исследований электрофоретических профилей фракций казеина в коровьем и буйволином молоке. Образцы молока были проанализированы на предмет молекулярной массы их фракций казеина с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE) и вестерн-блоттинга. Установлено, что казеиновые фракции α_s , β и κ в буйволином молоке имеют более высокие молекулярные массы, чем те же фракции в коровьем молоке. Это может быть использовано для идентификации молока коров и буйволиц. Кроме того, был сделан вывод о том, что буйволиное молоко может положительно влиять на реологические свойства и выход изготавливаемых из него молочных продуктов.

4.2. Масс-спектрометрия

В основе метода лежит ионизация молекул белков и пептидов с последующим разделением ионов в вакууме электрическим или магнитным полем в зависимости от их массы и заряда, влияющих на скорость перемещения. Метод реализуется в приборах — масс-спектрометрах.

Сначала осуществляется ионизация молекул, затем — перевод ионов в газовую фазу в вакуумной части масс-спектрометра. Глубокий вакуум необходим для обеспечения беспрепятственного движения ионов, т. к. при его отсутствии ионы рассеиваются и теряют заряд. На заряженную частицу, движущуюся в магнитном или электрическом поле, действует сила Лоренца, искажающая ее траекторию. Определяется разница траекторий ионизированных молекул, по которой рассчитываются соотношения их масс и зарядов (m/z). Подсчет доли каждого компонента осуществляется путем измерения интенсивности ионного потока. Масс-спектр вещества представляет собой совокупность значений отношения массы к заряду (m/z) всех ионизированных молекул, представленных в зависимости от интенсивности ионного тока.

Существует множество модификаций масс-спектрометрического анализа, отличающихся как методами ионизации молекул белков и пептидов, так и методами их идентификации. Способами ионизации могут быть: бомбардировка быстрыми атомами (FAB — fast atom bombardment); матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI — matrix assisted desorption/ionization); ионизация электрораспылением (ESI — electrospray ionization). Наиболее распространенными из них являются ионизация электрораспылением (ESI) и матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI). Эти методы считаются щадящими, т. к. не вызывают разрушения относительно хрупких пептидных молекул во время ионизации [79].

В методе ионизации электрораспылением (ESI) образец в форме раствора распыляется через небольшой игольчатый излучатель под высоким напряжением на вход масс-спектрометра. Поскольку это

непрерывное распыление, его можно легко соединить с элюатом из жидкостной хроматографии (ЖХ), что позволяет проводить онлайн ЖХ-ESI-масс-спектрометрию.

Метод лазерной десорбции-ионизации с матрицей (MALDI) включает смешивание образца с матрицей, сушку его на стальной мишени, а затем облучение высушенного пятна образца лазером. MALDI довольно сложно взаимодействует в тандеме с жидкостной хроматографией, но может обеспечить быстрый анализ очень небольших количеств анализируемого вещества. Обычно он комбинируется с времяпролетным масс-анализатором. Используемый при этом времяпролетный метод (ToF — *Time of Flight*) позволяет определять скорость движения частицы по времени пролета от мишени до детектора [79].

Масс-спектрометрия предусматривает два подхода к идентификации белков: методом «сверху вниз» (top-down) и методом «снизу вверх» (bottom-up).

Метод top-down основывается на масс-спектрометрическом анализе неповрежденных белковых молекул. В методе bottom-up применяется предварительное энзиматическое расщепление белка для получения набора пептидных фрагментов. Расшифровка полученных спектров пептидов осуществляется путем сопоставления с пептидными базами данных и по совокупности пептидов дается характеристика и идентификация исходного белка [80].

Следует отметить, что расшифровка масс-спектров и интерпретация полученной информации является важнейшим этапом масс-спектрометрического анализа. Эта процедура требует проведения компьютерной обработки результатов и обращения к базам масс-спектральных данных, таким как NIST (США), MassBank (Япония).

В настоящее время масс-спектрометрия признана основным методом анализа белков, благодаря информативности, чувствительности и экспрессности. Этот метод позволяет не только быстро и надежно определять первичную структуру белков, но и изучать структуры более сложного порядка, а также устанавливать тип и место посттрансляционных модификаций [81].

Масс-спектрометрия высокого разрешения подтвердила свою важность для надежной характеристики протеоформ белков коровьего молока, особенно протеоформ с небольшими различиями в молекулярной массе, таких как β -казеин A1 и A2, отличающихся всего одной аминокислотой. Такая точность необходима для точной и однозначной идентификации молока со специфическим составом β -казеина (например, молока A2A2, которое широко известно как молоко A2) [57]. Тандемная масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением (ESI-MS/MS) успешно применяется для иденти-

фикации биоактивных пептидов в пищевых матрицах, в том числе в сырах [82].

Масс-спектрометрия как высокоточный аналитический метод нашла широкое применение в контроле качества молочных продуктов. С ее помощью ученые могут обнаруживать различные загрязнения, такие как токсичные металлы (свинец и кадмий [83]), оценивать жизнеспособность полезных бактерий (бифидобактерий [84]), контролировать гормональный фон (определяя уровень эстрогенов [85]), а также выявлять фальсификацию путем обнаружения добавок сухого молока в натуральном коровьем [86]. Присутствие сухого молока в натуральном молоке в работе [86] обнаруживалось с помощью MALDI-TOF MS по наличию специфических пептидов, модифицированных под воздействием высоких температур, применяемых при сушке молока.

Чаще всего масс-спектрометрия используется в сочетании с жидкостной (ЖХ-МС) и газовой хроматографией (ГХ-МС). Комбинация двух селективных методов позволяет разделять и измерять количество интересующих белков и пептидов в сложных смесях и обнаруживать определенные соединения в соответствии с их элементными и структурными характеристиками.

5. Выводы

Для исследования белковой системы молока и молочных продуктов применяются различные методы протеомики. Наиболее распространенными являются методы, основанные на разделении и идентификации белков и пептидов. Для разделения белковых фракций используются различные варианты электрофореза и хроматографии, а для идентификации — спектрометрия и вестерн-блоттинг.

Помимо научной ценности, эти методы имеют важное практическое значение. Прежде всего, оно выражается в выявлении различного рода фальсификаций состава молока и молочных продуктов. Это может быть добавление в молоко и молочные продукты сухого молока или подсырной сыворотки, а также подмена молочного сырья молоком других животных, что недопустимо, например, при производстве сыров с защищенным наименованием места происхождения (PDO) или с защищенным географическим указанием (PGI).

К перспективным направлениям использования протеомных методов следует отнести исследования протеолитических процессов, протекающих при созревании сыров, а также установление их видовых различий в зависимости от технологии изготовления. Несмотря на большой потенциал протеомных методов, особенно методов разделения и идентификации белков, требуется проведение дополнительных исследований в данной области.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Goulding, D. A., Fox, P. F., O'Mahony, J. A. (2020). Milk proteins: An overview. Chapter in a book: *Milk Proteins* (Third Edition). Academic Press, 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815251-5.00002-5>
- Buzás, H., Székelyhidi, R., Szafner, G., Szabó, K., Süle, J., Bukovics, S. et al. (2022). Developed rapid and simple RP-HPLC method for simultaneous separation and quantification of bovine milk protein fractions and their genetic variants. *Analytical Biochemistry*, 658, Article 114939. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2022.114939>
- Caroli, A. M., Savino, S., Bulgari, O., Monti, E. (2016). Detecting β -casein variation in bovine milk. *Molecules*, 21(2), Article 141. <https://doi.org/10.3390/molecules21020141>
- Xiao, J., Wang, J., Gan, R., Wu, D., Xu, Y., Peng, L. et al. (2022). Quantitative N-glycoproteome analysis of bovine milk and yogurt. *Current Research in Food Science*, 5, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.01.003>
- Stastna, M. (2024). Advances in separation and identification of biologically important milk proteins and peptides. *Electrophoresis*, 45(1–2), 101–119. <https://doi.org/10.1002/elps.202300084>
- Baptista, D. P., Gigante, M. L. (2021). Bioactive peptides in ripened cheeses: Release during technological processes and resistance to the gastrointestinal tract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), 4010–4017. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11143>
- Lorieau, L., Halabi, A., Ligneul, A., Hazart, E., Dupont, D., Floury, J. (2018). Impact of the dairy product structure and protein nature on the proteolysis and amino acid bioaccessibility during in vitro digestion. *Food Hydrocolloids*, 82, 399–411. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.019>
- Beil, E., Holland J. W., Boland, M. (2020). Post-translational modifications of caseins. Chapter in a book: *Milk Proteins* (Third Edition). Academic Press, 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815251-5.00005-0>
- Rout, P. K., Verma, M. (2021). Post translational modifications of milk proteins in geographically diverse goat breeds. *Scientific Reports*, 11(1), Article 5619. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85094-9>
- Leduc, A., Le Guillou, S., Bianchi, L., Correia, L. O., Gelé, M., Pires, J. et al. (2022). Milk proteins as a feed restriction signature indicating the metabolic adaptation of dairy cows. *Scientific Reports*, 12(1), Article 18886. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21804-1>
- Lu, J., Antunes Fernandes, E., Páez Cano, A. E., Vinitwatanakhun, J., Boeren, S., van Hooijdonk, T. et al. (2013). Changes in milk proteome and metabolome associated with dry period length, energy balance, and lactation stage in postparturient dairy cows. *Journal of Proteome Research*, 12(7), 3288–3296. <https://doi.org/10.1021/pr4001306>
- Olumee-Shabon, Z., Boehmer, J. L. (2018). Proteomic analysis of goat milk. Chapter in a book: *Goat Science*. InTech, 2018. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70082>
- Ceciliani, F., Eckersall, D., Burchmore, R., Lecchi, C. (2014). Proteomics in veterinary medicine: Applications and trends in disease pathogenesis and diagnostics. *Veterinary Pathology*, 51(2), 351–362. <https://doi.org/10.1177/0300985813502819>
- Aalaei, K., Rayner, M., Sjöholm, I. (2019). Chemical methods and techniques to monitor early Maillard reaction in milk products; A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(12), 1829–1839. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1431202>
- Башаева, Д. В., Хаертдинов, Р. Р. (2008). Изменение белков молока при тепловой обработке. *Молочная промышленность*, 7, 74–75. [Bashaeva, D. V., Khaerdinov, R. R. (2008). Changes in milk proteins at heat treatment. *Dairy Industry*, 7, 74–75. (In Russian)]
- Балакирева, Ю. В., Зайцев, С. Ю., Каримова, Ф. Г., Акулов, А. Н., Ахмадулина, Ф. Ю. (2012). Влияние режима пастеризации на полипептидный состав молока. *Фундаментальные исследования*, 2–1, 170–173. [Balakireva J. V., Zaitsev C. Y., Karimova F. G., Akulov A. N., Akhmadullina, F. Y., Karimova, F. G. (2012). Influence of treatment pasteurization to polypeptide composition of milk. *Fundamental Research*, 2–1, 170–173. (In Russian)]
- Щербаклова, Ю. В., Акулов, А. Н., Ахмадулина, Ф. Ю., Каримова, Ф. Г. (2015). Электрофоретические исследования влияния тепловой обработки на полипептидный состав молока. *Фундаментальные исследования*, 2–16, 3544–3548. [Shcherbakova, Y. V., Akulov, A. N., Akhmadullina, F. Y., Karimova, F. G. (2015). Electrophoretic research of influence heat treatment to cow milk's polypeptides. *Fundamental Research*, 2–16, 3544–3548. (In Russian)]
- Vasbinder, A. J., de Kruijff, C. G. (2003). Casein-whey protein interactions in heated milk: The influence of pH. *International Dairy Journal*, 13(8), 669–677. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(03\)00120-1](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(03)00120-1)
- Ванникова, А. В., Евдокимов, И. А. (2015). Функционально-технологические свойства сыровоточных белковых продуктов: влияние изменений условий

- среды и вида обработки. *Молочная промышленность*, 2, 42–44. [Bannikova, A. V., Evdokimov, I. A. (2015). Functional and technological properties of whey protein products: Effects of the changes of environmental conditions and type of treatment. *Dairy Industry*, 2, 42–44. (In Russian)]
20. Лепилкина, О. В., Григорьева, А. И. (2023). Ферментативный протеолиз при преобразовании молока в сыр. *Пищевые системы*, 6(1), 36–45. [Lepilkina, O. V., Grigorieva, A. I. (2023). Enzymatic proteolysis during the conversion of milk into cheese. *Food Systems*, 6(1), 36–45. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45>
 21. Ardö, Y. (2021). Enzymes in cheese ripening. Chapter in a book: *Agents of Change. Food Engineering Series*. Springer, Cham, 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_15
 22. Кручинин, А. Г., Агаркова, Е. Ю. (2020). Биологически активные пептиды молока: обзор. *Пищевая промышленность*, 12, 92–96. [Kruchinin A. G., Agarkova E. Yu. (2020). Biologically active peptides of milk: A review. *Food Industry*, 12, 92–96. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10151>
 23. Миленцева, И. С., Давыденко, Н. И., Расщепкин, А. Н. (2020). Подбор рабочих параметров для проведения направленного протеолиза казеина с целью получения биопептидов. *Техника и технология пищевых производств*, 50(4), 726–735. [Milentseva, I. S., Davydenko, N. I., Rasshchepkin, A. N. (2020). Casein proteolysis in bioactive peptide production: Optimal operating parameters. *Food Processing: Techniques and Technology*, 50(4), 726–735. (In Russian)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-726-735>
 24. Patterson, S. D., Aebersold, R. H. (2003). Proteomics: The first decade and beyond. *Nature Genetics*, 33(S5), 311–323. <https://doi.org/10.1038/ng1106>
 25. Anderson, N. L., Anderson, N. G. (1998). Proteome and proteomics: New technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis*, 19(11), 1853–1861. <https://doi.org/10.1002/elps.1150191103>
 26. Lund, M., Jönsson, B. (2005). On the charge regulation of proteins. *Biochemistry*, 44(15), 5722–5727. <https://doi.org/10.1021/bi047630o>
 27. Sharma, N., Sharma, R., Rajput, Y. S., Mann, B., Singh, R., Gandhi, K. (2021). Separation methods for milk proteins on polyacrylamide gel electrophoresis: Critical analysis and options for better resolution. *International Dairy Journal*, 114, Article 104920. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104920>
 28. Pesic, M., Barac, M., Vrvic, M., Ristic, N., Macej, O., Stanojevic, S. (2011). Qualitative and quantitative analysis of bovine milk adulteration in caprine and ovine milks using native-PAGE. *Food Chemistry*, 125(4), 1443–1449. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.045>
 29. Pesic, M. B., Barac, M. B., Stanojevic, S. P., Ristic, N. M., Macej, O. D., Vrvic, M. M. (2012). Heat induced casein–whey protein interactions at natural pH of milk: A comparison between caprine and bovine milk. *Small Ruminant Research*, 108(1–3), 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.06.013>
 30. O'Farrell, P. H. (1975). High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 250(10), 4007–4021. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)41496-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)41496-8)
 31. Rabilloud, T., Chevallet, M., Luche, S., Lelong, C. (2010). Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: Past, present and future. *Journal of Proteomics*, 73(11), 2064–2077. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2010.05.016>
 32. Wilkins, M. R., Sanchez, J.-C., Gooley, A. A., Appel, R. D., Humphery-Smith, I., Hochstrasser, D. F. et al. (1996). Progress with proteome projects: Why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13(1), 19–50. <https://doi.org/10.1080/02648725.1996.10647923>
 33. Klose, J., Kobalz, U. (1995). Two-dimensional electrophoresis of proteins: An updated protocol and implications for a functional analysis of the genome. *Electrophoresis*, 16(1), 1034–1059. <https://doi.org/10.1002/elps.11501601175>
 34. Westermeier, R. (2014). Looking at proteins from two dimensions: A review on five decades of 2D electrophoresis. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 120(5), 168–172. <https://doi.org/10.3109/13813455.2014.945188>
 35. Roy, S., Kumar, V. (2014). A practical approach on SDS PAGE for separation of protein. *International Journal of Science and Research*, 3(8), 955–960.
 36. Boehmer, J. L., Bannerman, D. D., Shefcheck, K., Ward, J. L. (2008). Proteomic analysis of differentially expressed proteins in bovine milk during experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4206–4218. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1297>
 37. Van Hekken, D. L., Thompson, M. P. (1992). Application of PhastSystem® to the resolution of bovine milk proteins on urea-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 75(5), 1204–1210. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77868-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77868-0)
 38. Mane, A., McSweeney, P. L. H. (2019). Proteolysis in Irish farmhouse Camembert cheese during ripening. *Journal of Food Biochemistry*, 44(1), Article e13101. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13101>
 39. Gentile, F., Veneziani, B. M., Sellitto, C. (1997). Polyacrylamide gel electrophoresis in discontinuous transverse urea-gradient gels. *Analytical Biochemistry*, 244(2), 228–232. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.9863>
 40. Kalnine, N. N., Schachman, H. K. (2002). Quantitative urea gradient gel electrophoresis for studies of dissociation and unfolding of oligomeric proteins. *Biophysical Chemistry*, 101–102, 135–144. [https://doi.org/10.1016/S0301-4622\(02\)00154-0](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(02)00154-0)
 41. Aurand, L. W., Brown, J. W., Lecce, J. G. (1963). Effect of heat on the proteins of milk as revealed by gel and immunoelectrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 46(11), 1177–1182. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(63\)89241-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(63)89241-3)
 42. Martinez-Resa, P., Alvarez-Moreno, C., Hermida, F., Chordi, A. (1969). Identification by immunoelectrophoresis of bovine milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 52(1), 1–7. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(69\)86490-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86490-8)
 43. Bjerrum, O. J. (1975). Quantitative immunoelectrophoresis for comparative analysis of membrane proteins from various mammalian species. *International Journal of Biochemistry*, 6(7), 513–519. [https://doi.org/10.1016/0020-711x\(75\)90032-4](https://doi.org/10.1016/0020-711x(75)90032-4)
 44. Nielsen, C. S., Bjerrum, O. J. (1977). Crossed immunoelectrophoresis of bovine milk fat globule membrane protein solubilized with non-ionic detergent. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 466(3), 496–509. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(77\)90342-x](https://doi.org/10.1016/0005-2736(77)90342-x)
 45. Mather, I. H., Tamplin, C. B., Irving, M. G. (1980). Separation of the proteins of bovine milk-fat-globule membrane by electrofocusing with retention of enzymatic and immunological activity. *European Journal of Biochemistry*, 110(2), 327–336. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1980.tb04871.x>
 46. Крюченко, Е. В., Замула, В. С., Кузлякина, Ю. А., Чернуха, И. М. (2020). Обзор современных методов обнаружения аллергенов в пищевой продукции. *Все о мясе*, 5S, 169–172. [Kryuchenko, E. V., Zamula, V. S., Kuzlyakina, Yu. A., Chernukha, I. M. (2020). Overview of modern methods for detecting allergens in food. *Vsyo o Myase*, 5S, 169–172. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2020-5S-169-172>
 47. Зипаев, Д. В., Тулина, А. А., Кожухов, А. Н. (2020). Использование метода капиллярного электрофореза в оценке пищевых продуктов и напитков. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 82(1), 82–87. [Zipaev, D. V., Tulina, A. A., Kozhukhov, A. N. (2020). The use of capillary electrophoresis in the evaluation of food and beverages. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 82(1), 82–87. (In Russian)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-1-82-87>
 48. Карцова, Л. А., Makeeva, D. V., Bessonova, E. A. (2020). Современное состояние метода капиллярного электрофореза. *Журнал аналитической химии*, 75(12), 1059–1079. [Kartsova, L. A., Makeeva, D. V., Bessonova, E. A. (2020). Current status of capillary electrophoresis. *Journal of Analytical Chemistry*, 75(12), 1497–1513. (In Russian)] <https://doi.org/10.31857/S004450220120087>
 49. De Jong, N., Visser, S., Olieman, C. (1993). Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 652(1), 207–213. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80661-q](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)80661-q)
 50. Cartoni, G., Coccioli, F., Jasonowska, R., Masci, M. (1999). Determination of cows' milk in goats' milk and cheese by capillary electrophoresis of the whey protein fractions. *Journal of Chromatography A*, 846(1–2), 135–141. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)01032-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)01032-2)
 51. Chen, F.-T. A., Zang, J.-H. (1992). Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *Journal of AOAC International*, 75(5), 905–909. <https://doi.org/10.1093/jaoac/75.5.905>
 52. D'Incecco, P., Limbo, S., Hogenboom, J., Rosi, V., Gobbi, S., Pellegrino, L. (2020). Impact of extending hard-cheese ripening: A multiparameter characterization of parmigiano reggiano cheese ripened up to 50 months. *Foods*, 9(3), Article 268. <https://doi.org/10.3390/foods9030268>
 53. Masotti, F., De Noni, I., Cattaneo, S., Brasca, M., Rosi, V., Stuknyte, M. et al. (2013). Occurrence, origin and fate of pyroglutamyl- γ_5 -casein in cheese. *International Dairy Journal*, 35(2), 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.06.006>
 54. Alves, L. S., Merheb-Dini, C., Gomes, E., da Silva, R., Gigante, M. L. (2015). Yield, changes in proteolysis, and sensory quality of Prato cheese produced with different coagulants. *Journal of Dairy Science*, 96(12), 7490–7499. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7119>
 55. Ardö, Y., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., Upadhyay, V. K., Fox, P. F. (2017). Biochemistry of cheese ripening: Proteolysis. Chapter in a book: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-417012-4.00018-1>
 56. Pellegrino, L., Hogenboom, J. A., Rosi, V., D'Incecco, P. (2021). Evaluating the authenticity of the raw-milk cheese fontina (PDO) with respect to similar cheeses. *Foods*, 10(2), Article 350. <https://doi.org/10.3390/foods10020350>
 57. Ghafoori, Z., Tehrani, T., Pont, L., Benavente, F. (2022). Separation and characterization of bovine milk proteins by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 45(18), 3614–3623. <https://doi.org/10.1002/jssc.202200423>
 58. Maslov, B. L. (2023). Biochemistry of aroma compounds in cheese. *Mljekarstvo*, 73(4), 211–224. <https://doi.org/10.15567/Mljekarstvo.2023.0401>
 59. McSweeney, P. L. H., Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), 293–324. <https://doi.org/10.1051/Lait:2000127>
 60. Henke, H. (1999). *Liquid Chromatography*. Vogel Business Media, 1999. (In German)
 61. Рудаков, О. Б., Рудакова, Л. В. (2019). Аминокислотный анализ белков молока. *Переработка молока*, 12(242), 32–35. [Rudakov, O. B., Rudakova, L. V. (2019). Amino acid analysis of milk proteins. *Milk Processing*, 12(242), 32–35. (In Russian)] <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2019-12-32-35>
 62. Волнин, А. А., Шералиев, Ф. Д., Шапошников, М. Н., Зайцев, С. Ю., Багиров, В. А. (2017). Применение ионообменной хроматографии при оценке биологической ценности белков молока овец. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2(1), 494–498. [Volnin, A. A., Sheraliev, F. D., Shaposhnikov, M. N., Zaitsev, S. Yu., Bagirov, V. A. (2017). Application of ion-exchange chromatography in assessing the biological value of sheep milk proteins. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2(1), 494–498. (In Russian)]
 63. Мягконов, Д. С., Мордвинова, В. А., Абрамов, Д. В., Делицкая, И. Н. (2014). Особенности протеолиза у сыров различных видовых групп. *Сырделие и маслоделие*, 2, 24–27. [Myagkonosov, D. S., Mordvinova, V. A., Abramov, D. V., Delitskaya, I. N. (2014). Special features of proteolysis in different groups of cheese types. *Cheese- and Buttermaking*, 2, 24–27. (In Russian)]
 64. Метель, В. С., Куликова, И. К., Анисимов, Г. С. (2018). Анализ современных методов фракционирования молочного сыра. *Вестник Северо-Кавказского федерального университета*, 2(65), 27–32. [Metel', V., Kulikova, I., Anisimov, G. (2018). Analysis of modern methods of milk protein fractionation. *Newsletter of North-Caucasus Federal University*, 2(65), 27–32. (In Russian)]
 65. Насибулин, Р. Р., Николаев, А. А. (2021). Разработка способа выделения лактоферрина верблюда. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*, 6, 11–16. [Nasibulin, R. R., Nikolaev, A. A. (2021). Development of a method for isolation of camel lactoferrin. *International Journal of Applied and Fundamental Research*, 6, 11–16. (In Russian)]
 66. Öztürk, S., Demir, N. (2021). Development of a novel IMAC sorbent for the identification of melamine in dairy products by HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 100, Article 105931. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.105931>

67. Moritz, C. P. (2020). 40 years Western blotting: A scientific birthday toast. *Journal of Proteomics*, 212, Article 103575. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103575>
68. Naryzhny, S. N. (2009). Blue Dry Western: Simple, economic, informative, and fast way of immunodetection. *Analytical Biochemistry*, 392(1), 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.05.037>
69. Kurien B. T., Scofield, R. H. (2006). Western blotting. *Methods*, 38(4), 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.jymeth.2005.11.007>
70. Omondi, C., Chou, A., Fond, K. A., Morioka, K., Joseph, N. R., Sacramento, J. A. et al. (2024). Improving rigor and reproducibility in western blot experiments with the blotRig analysis. *Scientific Reports*, 14(1), Article 21644. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70096-0>
71. Towbin, H., Staehelin, T., Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(9), 4350–4354. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.9.4350>
72. Burnette, W. N. (1981). «Western blotting»: Electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Analytical Biochemistry*, 112(2), 195–203. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90281-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90281-5)
73. Recalde-Reyes, D. P., Calderon, J. L. (2023). Electroforesis de proteínas y Western blot DENV. protocols.io. <https://doi.org/10.17504/protocols.io.kxygx963dg8j/v1>
74. Chávez, N. A., Salinas, E., Jauregui, J., Palomares, L. A., Macías, K. (2008). Detection of bovine milk adulterated with cheese whey by western blot immunoassay. *Food and Agricultural Immunology*, 19(4), 265–272. <https://doi.org/10.1080/09540100802381042>
75. Vera-Bravo, R., Hernández, A. V., Peña, S., Alarcón, C., Loaiza, A. E., Celis, C. A. (2022). Cheese whey milk adulteration determination using casein glycomacropptide as an indicator by HPLC. *Foods*, 11(20), Article 3201. <https://doi.org/10.3390/foods11203201>
76. Molina, E., Amigo, L., Ramos, M. (1998). Detection of bovine milk proteins in soymilk by western blotting. *Journal of Food Protection*, 61(12), 1691–1694. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.12.1691>
77. Molina, E., Fernández-Fournier, A., De Frutos, M., Ramos, M. (1996). Western blotting of native and denatured bovine β -lactoglobulin to detect addition of bovine milk in cheese. *Journal of Dairy Science*, 79(2), 191–197. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76350-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76350-6)
78. Dişhan, A., Gönülalan, Z., Alparslan, Y. (2019). Comparative analysis of cow and water buffalo milk casein fractions by Western Blotting. *Firat University Veterinary Journal of Health Sciences*, 33(2), 77–82.
79. Merkle, E. D., Kaiser, B. L. D., Kreuzer, H. (2019). A proteomics tutorial. Chapter in a Book: Applications in Forensic Proteomics: Protein Identification and Profiling. American Chemical Society, 2019. <https://doi.org/10.1021/bk-2019-1339.ch002>
80. Gross, J. H. (2019). Massenspektrometrie: Spektroskopiekurs kompakt. Springer Spektrum, 2019.
81. Лебедев, А. Т., Артеменко, К. А., Самгина, Т. Ю. (2012). Основы масс-спектрометрии белков и пептидов. М.: Техносфера, 2012. [Lebedev, A. T., Artemenko, K. A., Samgina, T. Yu., (2012). Fundamentals of mass spectrometry of proteins and peptides. Moscow: Tekhnosfera, 2012. (In Russian)]
82. Bouroutzika, E., Proikakis, S., Anagnostopoulos, A. K., Katsafadou, A. I., Fthenakis, G. C., Tsangaris, G. Th. (2021). Proteomics analysis in dairy products: Cheese, a review. *Applied Sciences*, 11(16), Article 7622. <https://doi.org/10.3390/app11167622>
83. Mehrasbi, M. R., Peyda, M., Feizolahi, R., Taromi, A., Homayuni, P., Fathi, S. et al. (2023). Comparison of three digestion methods for determination of lead and cadmium in milk and dairy products. *Environmental Health Engineering and Management*, 10(2), 191–196. <https://doi.org/10.34172/ehem.2023.21>
84. Sibanda, T., Marole, T. A., Thomashoff, U., Thantsha, M., Buys, E. (2024). Bifidobacterium species viability in dairy-based probiotic foods: Challenges and innovative approaches for accurate viability determination and monitoring of probiotic functionality. *Frontiers in Microbiology*, 15, Article 1327010. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1327010>
85. Chang, J., Zhou, J., Gao, M., Zhang, H., Wang, T. (2022). Research advances in the analysis of estrogenic endocrine disrupting compounds in milk and dairy products. *Foods*, 11(19), Article 3057. <https://doi.org/10.3390/Foods11193057>
86. Calvano, C. D., Monopoli, A., Loizzo, P., Faccia, M., Zamboni, C. (2013). Proteomic approach based on MALDI-TOF MS to detect powdered milk in fresh cow's milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1609–1617. <https://doi.org/10.1021/jf302999s>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Лепилкина Ольга Валентиновна — доктор технических наук, главный научный сотрудник, отдел физической химии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Tel.: +7-910-965-51-61 E-mail: ov.lepilkina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2375-3959 * автор для контактов</p> <p>Григорьева Анастасия Игоревна — младший научный сотрудник, отдел физической химии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Tel.: +7-901-051-62-46 E-mail: a.grigoriyeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4364-0342</p>	<p>Olga V. Lepilkina, Doctor of Technical Sciences, Leading Scientific Worker, Department of Physical Chemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Russia Tel.: +7-910-965-51-61 E-mail: ov.lepilkina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2375-3959 * corresponding author</p> <p>Anastasija I. Grigorieva, Junior Researcher, Department of Physical Chemistry, All-Russian Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Russia Tel.: +7-901-051-62-46, E-mail: a.grigoriyeva@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4364-0342</p>
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/10.21323/2618-9771-2024-7-4-568-574>



Поступила 15.07.2024

Поступила после рецензирования 06.12.2024

Принята в печать 09.12.2024

© Горбачев В. В., Никитин И. А., Тихонов С. Л., Балашова М. С.,
Тефикова С. Н., Зиборов Д. М., Велина Д. А., Клейн Е. Э., 2024

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

Научная статья

Open access

ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХЕЛАТНЫХ ФОРМ Zn ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ВИДОВ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Горбачев В. В.^{1,*}, Никитин И. А.¹, Тихонов С. Л.^{3,4}, Балашова М. С.²,
Тефикова С. Н.¹, Зиборов Д. М.¹, Велина Д. А.¹, Клейн Е. Э.¹

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

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия

³ Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

⁴ Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

хелаты Zn,
диглицинат Zn,
ИК-спектрометрия,
металлохромная
детекция,
фотоколориметрия,
пищевые системы,
сохранность
соединений,
ультразвуковая
обработка

В работе обосновывается перспективность применения некоторых хелатных форм Zn для создания новых обогащенных продуктов питания. Приводится краткое описание синтеза хелатных двойных форм: диглицинат Zn, пантотенат-глицинат Zn, тиаминат-глицинат Zn, цитрат Zn, цистеинат-глицинат Zn. Синтез хелатов включал стадии обработки соединений Zn аминокислотами и витаминами с частичным нагревом, а также ультразвуковую обработку на частоте 25 кГц для создания микро-наночастиц и с целью ускорения образования хелатов. Аутентичность получаемых соединений была установлена с применением ИК-спектроскопии путем сравнения с эталонными базами данных. Способность хелатов не образовывать нерастворимые соединения при добавлении в пищевые системы проверялась на нескольких продуктовых группах: на хлебобулочных изделиях, на мультифруктовых сокосодержащих напитках, на кисломолочных продуктах (на кефире и напитках, содержащих сыворотку), на продуктах переработки мяса и на сахаристых кондитерских изделиях. Сохраняемость растворимых форм Zn определялась методом прямого экстракционного титрования с использованием металлохромного индикатора дитизона, с последующей фотоколориметрией в видимом спектре (530–550 нм) в среде четыреххлористого углерода или гексана. Способность экстрагироваться из пищевой системы для хелатных соединений Zn увеличивалась в следующем порядке: напитки на основе молочной сыворотки < хлеб и продукты, содержащие фитиновые кислоты < сокосодержащий напиток < йогурт, в т. ч. с фруктовым наполнителем < мармелад на основе агар-агара и другие сахаристые кондитерские изделия похожей консистенции < продукты из мясного сырья. Полученные данные указывают на значительную перспективность разработки пищевых продуктов, обогащенных хелатными соединениями Zn, с целью обеспечения потребности некоторых групп населения в этом микроэлементе.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00237, <https://rscf.ru/project/24-26-00237/>.

Received 15.07.2024

Accepted in revised 06.12.2024

Accepted for publication 09.12.2024

© Gorbachev V. V., Nikitin I. A., Tikhonov S. L., Balashova M. S.,
Tefikova S. N., Ziborov D. M., Velina D. A., Kleyn E. V., 2024

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

Original scientific article

Open access

ASSESSMENT OF THE PROSPECTS OF USING CHELATED FORMS OF ZINC TO CREATE NEW TYPES OF FOOD PRODUCTS

Victor V. Gorbachev^{1,*}, Igor A. Nikitin¹, Sergey L. Tikhonov^{3,4}, Maria S. Balashova²,
Svetlana N. Tefikova¹, Dmitrii M. Ziborov¹, Daria A. Velina¹, Evgeniya E. Kleyn¹

¹ Plekhanov Russian University of Economics, Moscow, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenovskiy University), Moscow, Russia

³ Ural State Agricultural University, Yekaterinburg, Russia

⁴ Ural State Forestry University, Yekaterinburg, Russia

KEY WORDS:

Zn chelates,
Zn diglycinate, IR
spectrometry,
metallochromic
detection,
photocolorimetry, food
systems, preservation
of compounds,
ultrasonic treatment

ABSTRACT

The prospects of using some chelated forms of zinc to develop new enriched food products are substantiated in the work. The authors give a brief description of the synthesis of chelated double forms: Zn diglycinate, Zn pantothenate-glycinate, Zn thiaminate-glycinate, Zn citrate, Zn cysteine-glycinate. Synthesis of chelates included the stages of treatment of Zn compounds with amino acids and vitamins with partial heating, as well as ultrasound treatment at a frequency of 25 kHz to create micro-nanoparticles and to accelerate formation of chelates. Authenticity of obtained compounds was determined using IR spectroscopy by comparison with reference databases. The ability of chelates not to form insoluble compounds when adding to food systems was examined on several food groups: bakery products, multi-fruit juice-containing beverages, fermented food products (kefir and whey-containing beverages), products of meat processing and sugary confectionary products. Preservation of the soluble forms of Zn was determined by the method of direct extractive titration with the use of metallochromic indicator dithizone with the following photocolorimetry in the visible spectrum (530–550 nm) in the medium of carbon tetrachloride or hexane. The ability to be extracted from a food system for chelated compounds of Zn increased in the following order: whey-based beverages < bread and products containing phytic acids < juice-containing beverage < yogurt, including yogurt with fruit filling < marmalade based on agar-agar and other sugary confectionery products with the similar consistency < products from meat raw materials. The data obtained indicate significant prospects of developing food products enriched with chelated compounds of Zn to satisfy the needs of some groups of the population in this microelement.

FUNDING: The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation № 24-26-00237, <https://rscf.ru/project/24-26-00237/>.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Горбачев, В. В., Никитин, И. А., Тихонов, С. Л., Балашова, М. С., Тефикова, С. Н., Зиборов, Д. М., Велина, Д. А., Клейн, Е. Э. (2024). Оценка перспективности применения хелатных форм Zn для создания новых видов продуктов питания. *Пищевые системы*, 7(4), 568–574. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-568-574>

FOR CITATION: Gorbachev, V. V., Nikitin, I. A., Tikhonov, S. L., Balashova, M. S., Tefikova, S. N., Ziborov, D. M., Velina, D. A., Kleyn, E. V. (2024). Assessment of the prospects of using chelated forms of zinc to create new types of food products. *Food Systems*, 7(4), 568–574. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-568-574>

1. Введение

Согласно действующей в России доктрине «Продовольственной безопасности»¹ и «Нормам физиологических потребностей в пищевых веществах»², совокупность и структура потребляемых населением продуктов питания должны быть физиологически и научно обоснованными. Исследования в области эпидемиологии питания показывают, что в настоящее время особую актуальность приобрели работы, направленные, в том числе, на понимание роли питания в возникновении таких патологий, как ожирение и сахарный диабет (СД) [1,2].

Так, например, компаративные исследования популяций Великобритании и Китая выявили повышение риска кардиометаболических и микрососудистых заболеваний, сердечно-сосудистой смертности, нефро- и ретинопатии у пациентов с различными формами ожирения по сравнению с лицами, не имеющими лишнего веса [3]. На основе результатов исследования популяции Испании были выявлены, например, метаболиты, коррелирующие с СД второго типа (СД2) и ожирением. При этом повышенное потребление трех групп продуктов, таких как высококалорийная еда на вынос, молочные продукты и напитки с сахаром, было связано с повышением концентрации 13 метаболитов и с риском развития СД2 [4].

За последние десятилетия неоднократно проводились системные исследования о влиянии рациона на риск возникновения перечисленных патологий, при этом параллельно накапливались данные о механизме воздействия свободных радикалов, генерируемых при чрезмерном потреблении углеводов, и их деструктивной физиологической роли [5]. Например, при патофизиологических состояниях при СД, связанных с обменом и чрезмерным потреблением глюкозы, происходит генерация свободных радикалов [6]. Свободные радикалы, в свою очередь, оказывают повреждающее воздействие на органы и ткани, вызывая оксидативный стресс [7]. При этом способность органов и тканей противостоять окислительному воздействию этим частицам увеличивается за счет активности ферментов, содержащих Zn^{+2} , что отчасти и определяет его протекторный и антиоксидантный эффект, подчеркивая важную роль металлопротеинов в биохимии человека [8].

Накоплены данные, связывающие повышение вероятности возникновения диабета 2 типа с недостатком некоторых алиментарных факторов, а именно ионов Zn^{+2} [9]. Данный микроэлемент является одним из ключевых, необходимых для поддержания ряда биологических процессов организма человека, в первую очередь по причине того, что цинк входит в качестве кофактора в более 300 металлопротеинов и ферментов [10]. Адекватное потребление цинка важно для ограничения перепроизводства воспалительных цитокинов [11]. Цинк проявляет мембраностабилизирующие и антиоксидантные свойства (является кофактором супероксиддисмутазы), регулирует важные этапы каскадов воспалительных реакций, апоптоза и развития тканей [12]. Недавно также было обращено внимание на тот факт, что цинк проявляет воздействие на гормональный фон, овуляцию и регуляцию менструального цикла, контролируя эстрогензависимые процессы [13]. Более того, катионы Zn^{+2} участвуют в процессинге и метаболизме инсулина. Было продемонстрировано, что при некоторых генетических мутациях в генах транспортеров Zn вероятность возникновения СД возрастает [14].

При этом показана широкая распространенность дефицита цинка в различных популяциях, в том числе в развивающихся странах [15]. Рекомендованное суточное потребление цинка варьируется в различных странах и регионах, средние оцененные значения колеблются от 6,8 до 9,4 мг на человека (для 50% популяции) и от 8 до 11 мг на человека (для 98% популяции). Рекомендованные верхние значения при различных заболеваниях достигают 15 мг, а верхний допустимый уровень потребления цинка оценивают в 40 мг. Токсичная доза при этом достигается в диапазоне 50–150 мг в день [16]. Учитывая, что биодоступность цинка связана с характером диеты и с содержанием в ней фитатов, в настоящее время рассчитаны нормы потребления цинка в зависимости от уровня фитатов в пищевых системах. Для мужчин с низким потреблением фитатов рекомендуется ежедневно получать 11 мг, со средним уровнем — 14 мг, с высо-

ким уровнем — 16 мг цинка. Для женщин соответствующие уровни составляют 7 мг, 8 мг и 10 мг [17].

Исследования, оценившие сбалансированность рациона россиян, показали, что от 16% до ≈ 27% населения России имеют недостаток цинка [18]. Хотя российские потребители имеют достаточный доступ к продуктам питания, они не всегда могут восполнить потребность в микронутриентах с их помощью, попадая в своеобразную «ловушку среднего рациона» [18]. Все вышесказанное актуализирует исследование по разработке новых обогащенных цинком продуктов питания.

При этом само по себе обогащение не может считаться в ряде случаев удовлетворительной мерой, так как накоплены свидетельства, указывающие, что цинк способен вступать с некоторыми компонентами пищевых систем в малорастворимые комплексные соединения (например, фитаты цинка) [19], что сильно сказывается на их всасываемости в ЖКТ человека.

Эффективной альтернативой фортификации минеральными солями цинка в настоящее время признаются различные хелатные формы этого металла, в ряде случаев продемонстрировано лучшее усвоение этих соединений в ЖКТ у человека [20]. Однако пригодность тех или иных хелатных форм цинка исследована недостаточно.

Помимо синтеза хелатных соединений и создания рецептур продуктов на их основе требуется проверка экстрагируемости катионов Zn из продукта питания *in vitro*, которая по сути выступает как аналог процесса всасывания искомого нутриента из пищевого комка. Необходимо также оценить возможность сохранности (химической стабильности) хелатных соединений во времени. Для этого существует ряд методов, в том числе связанных с применением дорогостоящего оборудования и компьютерного моделирования [21], но доступным решением все еще остается применение селективных металлохромных детекторов [22]. Металлохромные детекторы — это особый класс химических индикаторов, дающих избирательное окрашивание с катионами металлов [23]. Это позволяет проводить количественные оценки их содержания в пищевых продуктах, используя неразрушающие методы анализа (фотометрия) по аналогии с тем, как это делалось ранее [24].

Исторически одним из наиболее подходящих для этой роли веществ является дитизон, который был введен в практику в первой половине прошлого столетия [25], однако до сих пор не утратил своей актуальности [26]. Пики поглощения растворов чистого дитизона и его комплексов с катионами различных металлов приходятся на разные части видимого спектра, что делает его весьма удобным инструментом [27]. Дитизон нашел свое применение, например, в междисциплинарных генетико-гистологических исследованиях, эксперименты в которых сопряжены с наличием мешающего сигнала от других ионов [28]. При этом дитизон показал себя как индикатор с высокой избирательной точностью. Как было показано, соединения дитизона с катионами окрашены по-разному. Наличие сопутствующих ионов в большинстве случаев не оказывает «мешающего» воздействия на оценку итоговых значений в широком диапазоне их концентраций, при этом возможна регулировка сигнала в зависимости от pH раствора [29].

Несмотря на перспективность применения хелатных форм цинка и проведения анализа продуктов с применением металлохромных индикаторов, в настоящее время в России подобные исследования недостаточно распространены.

Таким образом, цель нашего исследования — провести оценку перспективности применения хелатов Zn посредством многостадийного исследования, предполагающего их синтез, проверку аутентичности, а также стабильности и доступности (экстрагируемости) этих соединений для обогащения ими продуктов питания.

2. Материалы и методы

Синтез хелатных соединений проводился по аналогии с опубликованным в литературе [30] синтезом глицината-рибофлавината Zn. Но в нашем случае витамин рибофлавин был заменен на аминокислоту лизин, пантотеновую кислоту или другой витамин группы В — тиамин (производство NowFoods, USA). Сонохимическая обработка смеси веществ (водной суспензии) проводилась в ультразвуковой ванне SP-3,8–25 (НПП «Спецмаш», Россия) и продолжалась не менее 5 минут при частоте 25 кГц. Всего было синтезировано 5 хелатных форм: диглицинат Zn, пантотенат-глицинат Zn, тиаминат-глицинат Zn, цитрат Zn, цистеинат-глицинат Zn.

Получаемые хелаты выкристаллизовывали при комнатной температуре из водного раствора в течение 3–7 дней в зависимости от скорости высыхания основного раствора в чашках Петри. Кристаллы

¹ Указ Президента РФ от 21 января 2020 г. № 20 «Об Утверждении Доктрины Продовольственной Безопасности Российской Федерации» Электронный ресурс <https://docs.cntd.ru/document/564161398> Дата доступа 10.06.2024

² МР 2.3.1.0253–21 «Нормы Физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации». Методические рекомендации, утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 22 июля 2021 г. // Официальное издание. М.: Роспотребнадзор. 2021



Рисунок 1. Кюветы слева направо: с нативным дитизином, с калибровочным раствором минимальной и максимальной концентрации

Figure 1. Cuvettes from left to right: with native dithizone, with calibration solution of minimum and maximum concentration

хелата (если такие имелись) перетирались в ступке для получения однородной массы. Затем проводился анализ на аутентичность вещества посредством сравнения сигнала среднего диапазона в ИК-спектре (от 400 до 4000 cm^{-1}) с имеющимися базами данных. ИК-фурье спектрофотометрию делали на ИК-фурье микроскопе с макромодулем (Lumos, Bruker, Германия) с применением программного обеспечения Opus.

После подтверждения аутентичности синтезируемой субстанции проводилась оценка пригодности хелатных форм для внесения в следующие продукты питания: хлеб пшеничный из муки высшего сорта, напиток молочный (на основе сыворожки) мультифруктовый — «Актуаль персик-маракуя», напиток сокодержательный, на основе яблочного сока — «Красная цена, яблоко», фарш мясной (*Sus domesticus*) термически обработанный, мармелад на агар-агаре, йогурт фруктовый с клубничным наполнителем — BioBalance.

После выдерживания продуктов питания с хелатами в течение суток проводилась оценка доступности в них содержания Zn. Анализ предполагал применение металлохромного индикатора дитизона, переходящего из темно-зеленой интактной формы в малиново-красную при образовании дитизоната Zn (Рисунок 1).

Для анализа готовился стабильный раствор дитизона чистого («Ленреактив», Россия) в четыреххлористом углероде (второй вариант в гексане — «Русхим», Россия) градации х. ч. («химически чистый») в количестве 10 мг (точная навеска) на 100 мл растворителя; раствор применялся для экстракционного титрования образцов продуктов питания с последующей фотоколориметрией на спектрофотометре КФК-3-01 (Загорский оптико-механический завод, Россия). Серия разведения семиводного ZnSO_4 химически чистого («Русхим», Россия) приготавливалась посредством внесения в 10 мл дистиллированной воды указанного реагента следующей массы в граммах: 0,006; 0,018; 0,027; 0,050. Навески производились с точностью до 1 мг (на высокоточных весах 2 класса Ohaus Adventurer, США).

Для определения концентрации Zn в продуктах питания строился калибровочный график зависимости между коэффициентом

экстинкции А (оптическая плотность) при $538 \pm 0,3$ нм и изменением окраски при внесении катионов Zn для серии калибровочных растворов с последующим вычитанием базового значения для контроля (холостой опыт). Уровень фотоколориметрического сигнала для небогатого продукта выступал в качестве «условного нуля». Все значения измерялись в трипликате.

Исходя из полученной зависимости, проводилась оценка доступной формы Zn в пересчете на массу вносимого вещества в продуктах питания с учетом контроля способом «введено-найдено». Расчет значения экстрагируемых соединений Zn производили по разнице фотоколориметрических сигналов между небогатенными продуктами и обогащенными их формами. В зависимости от агрегатного состояния и массы вырабатываемого продукта в каждый из образцов вводилось по 20–23 мг (для хлеба — 8 мг) хелатной формы Zn на 100 г продукта.

Стабильность хелатов, выбранных для фортификации продуктов питания, оценивалась путем сравнения их ИК-спектров в фортифицированном продукте и в нативном веществе после гидролиза при повышенной температуре. Для этих целей растворенный образец хелатов (навеску в 1 грамм в 100 мл воды) подвергали воздействию микроволнового излучения (микроволновая печь ВВК, Китай) мощностью в 700 Вт и циклически доводили до кипения в течение как минимум 2 часов. Время обработки было выбрано как потенциальное усредненное время технологической температурной обработки продуктов питания (например, выпекание, стерилизация или сушка).

После гидролитического воздействия образцы подвергали кристаллизации и сравнивали их ИК-спектры: нативного хелата и обработанного термически. Дополнительно анализировали изменение кривизны графиков с помощью коэффициента корреляции Пирсона.

Статистическая обработка проводилась в программе Excel и Statistica 10.0.

3. Результаты и обсуждение

В ходе анализа было выявлено, что некоторые хелатные формы не подходят для фортификации продуктов по ряду причин. Так, например, синтезируемые из пантотеновой кислоты и лизина соединения всегда получались тягучими, комковались и имели горько-вяжущий вкус, непригодный для внесения в продукты питания из-за негативного влияния на органолептические свойства продуктов. Способность к комкованию осталась от пантотеновой кислоты — прозрачной гигроскопической жидкости слабо — желтого цвета со специфическим неприятным привкусом, которая была получена из фармацевтической субстанции методом перерастворения и выпаривания. Это свойство (комковаться и липнуть к лабораторным шпателям) сделало невозможным также точное отмеривание этой хелатной формы.

Другие хелатные формы — цитрат и тиаминат-глицинат — также имели недостаточно пригодные технологические свойства. Так, например, тиаминат-глицинат оставлял послевкусие «витаминов» (характерный вкус витаминов группы В не всегда нравится потребителям), что отрицательно влияло на органолептические свойства

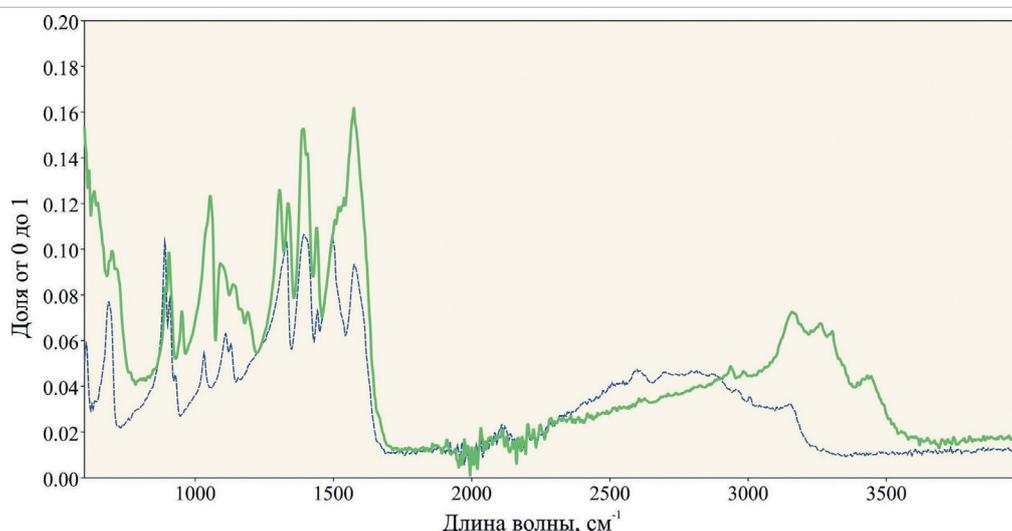


Рисунок 2. ИК-спектр бисглицината Zn и чистой аминокислоты глицин

Figure 2. IR spectrum of Zn bisglycinate and pure amino acid glycine

Примечание: зеленый — спектр поглощения бисглицината Zn, синий — спектр поглощения глицина.

Note: green — absorption spectrum of Zn bisglycinate, blue — absorption spectrum of glycine.

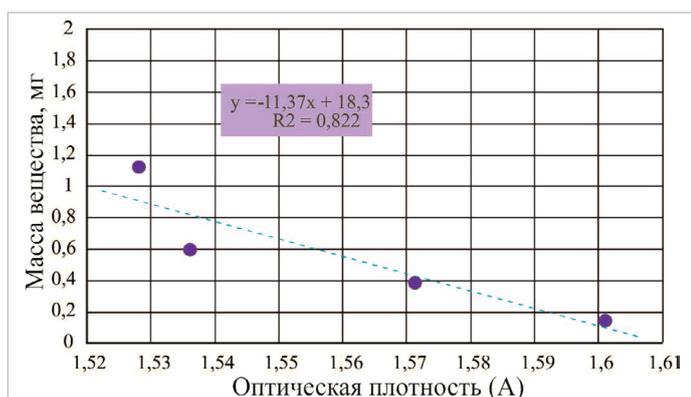


Рисунок 3. Калибровочный график изменения параметров оптической плотности при внесении в раствор дитизона катионов Zn

Figure 3. Calibration graph of changes in optical density parameters when adding Zn cations to a dithizone solution

вырабатываемых продуктов. Цитрат не подходил для молочных продуктов в связи с небольшим варьированием кислотности этого соединения (двухосновный катион и трехосновная кислота с отличающимися константами диссоциации для каждой из карбоксильных групп), что способствовало их створаживанию. Глицинат-цистеинат имел одновременно два перечисленных недостатка. При термической обработке он давал специфическую ароматическую ноту (сернистую, из-за частичного гидролиза цистеина) и изменял pH среды в более кислую сторону, что сделало его также непригодным. Тем не менее производные цистеина достаточно хорошо отбеливают хлебный мякиш, как это было показано нами ранее [31].

Диглицинат Zn оказался лишенным всех перечисленных недостатков, он имел сладковато-вязующий вкус, без специфического запаха, легко перетирался и дозировался, поэтому был выбран в качестве основной формы, на базе которой проводились все дальнейшие исследования.

На Рисунке 2 представлен ИК-спектр поглощения бисглицината Zn в сравнении с чистым препаратом глицина фармацевтической градации. Как можно заметить, основные области пиков на первом и втором графиках совпадают, сдвинута полоса от 2500 до 3000 cm^{-1} , что указывает на влияние обертонных O–H групп в структуре и на участие связанных гидроксильных групп (кристаллогидраты) в хелатном соединении [32].

Часть остаточных микрочастиц соединений Zn при сонохимической их обработке переходила в хелатную форму крайне медленно. По этой причине для синтеза хелатов глицин был взят в избытке, что потребовало дополнительную стадию проверки доли катионов цинка в итоговой смеси (см. ниже) при внесении его в продукт питания.

В качестве референтной группы для анализа были выбраны следующие продукты: хлеб, сахаристые кондитерские изделия, молоко и продукты его переработки, продукты переработки мяса (фарш), сокосодержащие напитки на основе яблочного сока и напитки на основе молочной сыворотки. На основании калибровочного графика (Рисунок 3) проводилась идентификация количества доступного Zn в продукте питания. Основные значения представлены в Таблице 1. Калибровочное уравнение также применялось для установления

доли катионов Zn в хелатном соединении (из-за избытка глицина, взятого для образования хелата): содержание Zn составило 20,6% (при идеальном стехиометрическом соотношении оно составляет 30,6%).

При анализе продуктов питания содержание катионов цинка сравнивалось с ожидаемыми величинами с использованием метода аналитической химии «введено-найденно». Данные представлены в Таблице 1.

По данным Таблицы 1, все продукты по их влиянию на доступность Zn располагаются в следующем порядке: напиток на основе молочной сыворотки < хлеб (и продукты, содержащие фитиновые кислоты) < сокосодержащий напиток < йогурт < мармелад и другие сахаристые кондитерские изделия похожей консистенции < продукты переработки мяса.

Это связано с рядом дополнительных свойств исследуемых пищевых систем. Во-первых, на сохраняемость растворимых форм Zn оказывает влияние кислотность пищевой системы, изменяющая химическую мобильность катионов металлов [29].

Во-вторых, значения фактической доступности соединений Zn при пищеварении у человека могут увеличиваться, так как при пищеварении часть соединений металлов может переходить в хлориды при контакте с соляной кислотой ЖКТ человека.

В целом фитиновые кислоты, как и повышенное количество фосфорных соединений, ухудшают экстрагируемость катионов Zn. Химические фосфатные группы, которые широко представлены в фитатах, ответственны за особенности взаимодействия с катионами металлов. Это, в свою очередь, указывает на сложности применения фортификации хелатами Zn в продуктах, содержащих фитаты. К таким продуктам относятся, например, продукты с отрубями, а также напитки на растительной основе, изготовленные из бобовых и зерновых культур [17,19].

Мясо и продукты его переработки изначально содержат значительное количество Zn, так как этот катион до 80% своей массы концентрируется в мышечных волокнах, как показано в Таблице 1 [26,33]. С учетом наших предыдущих данных по структуре обычного рациона россиян, на хлеб и мясные продукты приходится примерно 21% от общей массы потребляемой пищи [18]. Хотя это снижает охват населения, все еще возможно достаточно эффективно проводить обогащение хелатами Zn ряда других продуктов питания. Например, обогащать такие группы пищевых продуктов, как кондитерские изделия, молочные продукты и соки, газированные напитки, на которые приходится 22% суммарного потребления [18]. Мы также полагаем, что обогатить Zn-содержащими хелатами возможно и консервы, в том числе переработанные фрукты и овощи с низким содержанием фитиновых кислот. Добавление соединений Zn также перспективно при разработке соусов для сложных блюд (до 8,5% рациона россиян приходится на них).

Таким образом, мы полагаем, что хелаты этого металла ограничено пригодны для хлеба, зерновых и не всегда требуются при составлении рецептур из мяса, равным образом это относится и к рыбе и морепродуктам. Перспективными для обогащения мы считаем молочные продукты, сахаристые кондитерские изделия, соки, напитки и соусы. Также можно использовать компоненты для сложных блюд, например, сухие приправы для бульонов или смеси солей, добавляемых к хлористому натрию с учетом суточного потребления соли. Так как агар-агар и мармелад, вырабатываемый на его основе, показали высокую совместимость с катионами Zn, то возможно создание продуктов питания на основе компонентов морских растений

Таблица 1. Найденная доля массы хелатов Zn, рассчитанная по разнице фотоколориметрического сигнала в изначальном продукте питания (сырье) и после внесения хелатной формы

Table 1. Found fraction of the mass of Zn chelates, calculated from the difference in the photocolorimetric signal in the original food product (raw material) and after adding the chelate form

№	Продукт (сырье)	Найдено в обогащенном продукте (за вычетом базового значения фотоколориметрического сигнала для необогащенного продукта), мг	Средний % найденной массы соединения*
1	Хлеб (из муки пшеничной высшего сорта)	0,2 ± 0,03	30,4
2	Мармелад (на агар-агаре)	12,4 ± 1,8	59,3
3	Напиток молочный (на основе сыворотки) с мультифруктовым вкусом персик-маракуйя	4,9 ± 0,7	24,7
4	Фарш мясной (термически обработанный при 72 °C)	1,4 ± 0,2	79,4
5	Напиток сокосодержащий (яблочный) 10% углеводов	6,3 ± 0,9	31,4
6	Йогурт фруктовый (клубника) с сахаром 13,5% углеводов	10,7 ± 1,6	53,6

Примечание: *в пересчете на навеску продукта, взятого на анализ.

Note: * in terms of weight of the product taken for analysis.

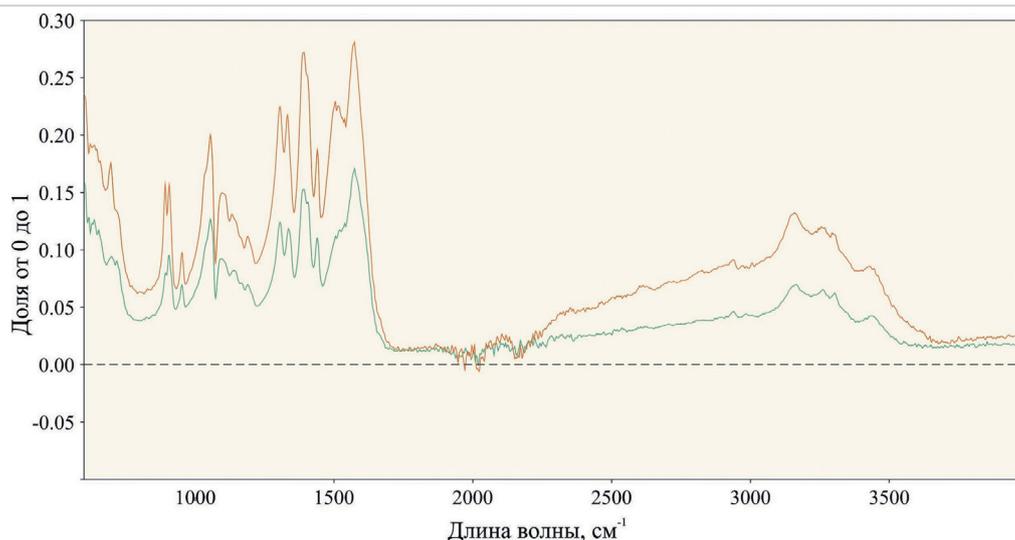


Рисунок 4. ИК-спектр бисглицината Zn, изначально полученного и обрабатываемого термически при кипячении на протяжении 2 часов

Figure 4. IR spectrum of Zn bisglycinate, initially obtained and thermally processed during boiling for 2 hours

Примечание: зеленый — спектр поглощения нативного бисглицината Zn, оранжевый — спектр термически обработанного образца.
Note: green — absorption spectrum of native Zn bisglycinate, orange — spectrum of a thermally treated sample.

и водорослей. С одной стороны, это приведет к увеличению разнообразия ассортимента продуктов, а с другой — позволит создать предпосылки для разработки новых подходов в общественном питании, что обозначалось нами ранее [18].

Исследования в этом направлении особенно актуальны, так как по данным, опубликованным ранее, примерно 17% мирового населения испытывает на себе риски, связанные с недостаточным потреблением цинка, по этой причине обогащение данным микроэлементом высказывается в качестве популярной меры улучшения рациона [34,35]. Для этих целей разными авторами предлагается целый диапазон соединений: хелаты, хлориды цинка, глюконат, оксид цинка и сульфат [20]. Первые (если речь идет о пищевых хелатах) из перечисленных соединений являются растворимыми комплексами цинка с аминокислотами или хелатирующими цинк пептидами, полученными из белковых гидролизатов, которые при этом являются хорошей альтернативой неорганическим солям цинка. Как было показано в лабораторных исследованиях, эти хелаты цинка способствуют поглощению данного металла как культивируемыми клетками, так и при изучении на животных моделях и людях [20].

Например, у добровольцев при применении хелатированных форм цинка концентрация последнего в сыворотке крови в течение шести часов после приема 20 мг хелата гистидина была выше, чем после приема такого же количества сульфата цинка [36]. Схожая физиологическая реакция была выявлена при потреблении 15 мг бисглицината цинка (основного хелатного соединения в нашем исследовании), и в течение 8 часов концентрация ионов последнего в крови была выше, чем даже при применении глюконата цинка [37].

Несмотря на выявляемые положительные качества хелатов, как показал метаанализ на основании 59 публикаций, основными фортифицируемыми в настоящее время формами цинка являются сульфат и оксид (в почти 74,5% исследований, если учесть также и двойные смеси соединений цинка) [35]. Что касается методов фортификации, то в настоящее время практикуется два подхода — биофортификация, когда обогащение производится в поле, и постоборочная фортификация продуктов при переработке сырья [20]. Как отмечено в литературе, выбор недостаточно пригодных форм цинка, таких как сульфат и хлорид, происходит по причине экономической целесообразности, даже в ущерб эффективности проводимых мероприятий, так как большинство стран (71% исследований), для которых производился анализ, — это страны третьего мира и развивающиеся страны [35].

Что касается стабильности синтезированных и применяемых нами хелатов, то после кристаллизации и оценки изменения ИК-спектров проводилась оценка изменения кривизны графиков посредством анализа скоррелированности данных по Пирсону. Графики представлены на Рисунке 4.

Статистический анализ не показал значимого отличия значений ИК друг от друга. Корреляция между значениями двух графиков по Пирсону составила $r = 0,98$ при $p < 0,0001$, что указывает на высокий уровень связанности данных, хотя интенсивность одного из графиков согласно базовой линии выросла.

Не исключено влияние воды, что подтверждается пиками и обертонами в области $2500\text{--}3500\text{ см}^{-1}$. Однако в целом результаты показывают, что за базовое время термической обработки, сопоставимое с 2 часами, с локальными перегревами, наблюдается лишь двухкратное увеличение медианы данных. У нативного образца медиана составляла 0,045, а у термически обработанного — 0,09. Аналогичное увеличение наблюдается и в стандартном отклонении: у нативного образца оно равно 0,034, у термически обработанного — 0,06. Эти изменения трактуются как признак относительной химической стабильности образцов, по крайней мере, при условиях обработки, сопоставимых с часто применяемыми в пищевой технологии. К таким условиям можно отнести хлебопечение, варку сиропа или приготовление мармелада и другие подобные процессы.

4. Выводы

В инженерии пищевых систем достаточно перспективными являются методы, основанные на сонохимической обработке и применении металлохромных индикаторов.

Проведенная оценка показала возможность применения хелатов на примере бисглицината Zn в качестве пригодного соединения для большинства рецептов при обогащении продуктов питания. Такие хелаты, как цитраты Zn, тиаминат-глицинат Zn и другие, могут применяться для создания различных продуктов, включая хлебобулочные и кондитерские изделия, мультифруктовые сокодержательные напитки, кисломолочные продукты и продукты переработки мяса. Кроме того, они подходят для использования в продуктах, где вкус можно «замаскировать» с помощью специальных добавок или ароматизаторов согласно рецептуре.

Продемонстрированная возможность изменения химического состава реагентов при синтезе хелатов открывает обширное поле для варьирования пищевыми компонентами и химическими прекурсорами при получении хелатов для производства обогащенных пищевых продуктов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Koliaki, C., Liatis, S., Kokkinos, A. (2019). Obesity and cardiovascular disease: Revisiting an old relationship. *Metabolism*, 92, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.10.011>
- López-Sobaler, A. M., Aparicio, A., Aranceta-Bartrina, J., Gil, Á., González-Gross, M., Serra-Majem, L. et al. (2016). Overweight and general and abdominal obesity in a representative sample of Spanish adults: Findings from the AN-IBES study. *BioMed Research International*, 2016, Article 8341487. <https://doi.org/10.1155/2016/8341487>
- Zhong, P., Tan, S., Zhu, Z., Liang, Y., Huang, W. et al. (2023). Normal-weight central obesity and risk of cardiovascular and microvascular events in adults with prediabetes or diabetes: Chinese and British cohorts. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 39(8), Article e3707. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3707>
- Parnell, L. D., Noel, S. E., Bhupathiraju, S. N., Smith, C. E., Haslam, D. E., Zhang, Z. et al. (2021). Metabolite patterns link diet, obesity, and type 2 diabetes in a Hispanic population. *Metabolomics*, 17(10), Article 88. <https://doi.org/10.1007/s11306-021-01835-x>
- Singh, R., Devi, S., Gollen, R. (2015). Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidaemia: Larger-than-life. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 31(2), 113–126. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2558>
- Darenskaya, M. A., Kolesnikova, L. I., Kolesnikov, S. I. (2021). Oxidative Stress: Pathogenetic role in diabetes mellitus and its complications and therapeutic approaches to correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 171(2), 179–189. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05191-7>
- Mladenovic-Djordjevic, A., Loncarevic-Vasiljkovic, N., Gonos, E. S. (2021). Dietary restriction and oxidative stress: Friends or enemies? *Antioxidants and Redox Signaling*, 34(5), 421–438. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7959>
- Hübner, C., Haase, H. (2021). Interactions of zinc- and redox-signaling pathways. *Redox Biology*, 41, Article 101916. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101916>
- Day, K. J., Adamski, M. M., Dordevic, A. L., Murgia, C. (2017). Genetic variations as modifying factors to dietary zinc requirements—a systematic review. *Nutrients*, 9(2), Article 148. <https://doi.org/10.3390/nu9020148>
- Grzeszczak, K., Kwiatkowski, S., Kosik-Bogacka, D. (2020). The Role of Fe, Zn, and Cu in pregnancy. *Biomolecules*, 10(8), Article 1176. <https://doi.org/10.3390/biom10081176>
- Pecora, F., Persico, F., Argentiero, A., Neglia, C., Esposito, S. (2020). The Role of micronutrients in support of the immune response against viral infections. *Nutrients*, 12(10), Article 3198. <https://doi.org/10.3390/nu12103198>
- Grüngreiff, K., Gottstein, T., Reinhold, D. (2020). Zinc Deficiency — An independent risk factor in the pathogenesis of Haemorrhagic stroke? *Nutrients*, 12(11), Article 3548. <https://doi.org/10.3390/nu12113548>
- Nasiadek, M., Stragierowicz, J., Klimczak, M., Kilanowicz, A. (2020). The role of Zinc in selected female reproductive system disorders. *Nutrients*, 12(8), Article 2464. <https://doi.org/10.3390/nu12082464>
- Шейбак, В. М. (2015). Синтез и секреция инсулина: роль катионов цинка. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*, 1(49), 5–8. [Sheibak, V. M. (2015). Synthesis and secretion of insulin: Role of zinc cations. *Journal of the Grodno State Medical University*, 1(49), 5–8. (In Russian)]
- Gibson, R. S. (2006). Zinc: The missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65(1), 51–60. <https://doi.org/10.1079/PNS2005474>
- Sriram, K., Lonchyna, V. A. (2009). Micronutrient supplementation in adult nutrition therapy: Practical considerations. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 33(5), 548–562. <https://doi.org/10.1177/0148607108328470>
- Haase, H., Ellinger, S., Linseisen, J., Neuhäuser-Berthold, M., Richter, M. (2020). Revised D-A-CH-reference values for the intake of zinc. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 61, Article 126536. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126536>
- Горбачев, В.В., Никитин, И.А., Велина, Д.А., Муталлибзода, Ш., Балашова, М.С. (2022). Оценка потребительских предпочтений Россиян: «ловушка среднего рациона». *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 6(390), 90–98. [Gorbachev, V.V., Nikitin, I.A., Velina, D.A., Mutallibzoda, S., Balashova, M.S. (2022). Assessment of consumer preferences of Russians: «Average ration trap». *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 6(390), 90–98. (In Russian)]
- Likuski, H. J., Forbes, R. M. (1964). Effect of phytic acid on the availability of zinc in amino acid and casein diets fed to chicks. *The Journal of Nutrition*, 84(2), 145–148. <https://doi.org/10.1093/jn/84.2.145>
- Hall, A. G., King, J. C. (2022). Zinc fortification: Current trends and strategies. *Nutrients*, 14(19), Article 3895. <https://doi.org/10.3390/nu14193895>
- Li, Y., Shi, P., Zheng, Y., Guo, M., Zhuang, Y., Huo, X. (2023). Millet bran protein hydrolysates derived peptides-zinc chelate: Structural characterization, security prediction in silico, zinc transport capacity and stability against different food processing conditions. *Journal of Food Science*, 88(1), 477–490. <https://doi.org/10.1111/1750-5841.16384>
- Chheang, L., Khachornsakul, K., Del-Rio-Ruiz, R., Zeng, W., Thongkon, N., Thanasupsin, S. P. et al. (2024). Simple distance-based thread analytical device integrated with ion imprinted polymer for Zn²⁺ quantification in human urine samples. *The Analyst*, 149(11), 3161–3168. <https://doi.org/10.1039/D4AN00076E>
- Low, S. C., Azmi, N. A. B., Ong, C. S., Lim, J. K. (2022). Environmental monitoring of trace metal pollutants using cellulose-paper incorporating color change of azo-chromophore. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(47), 71614–71631. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20706-z>
- Iwantschew, V. G. (1958). Das dithizon und seine anwendung in der mikro- und spurenanalyse. Verlag Chemie, Weinheim/ Bergstr., 450.
- Lu, J., Zhang, H., Cao, W., Jiang, S., Fang, H., Yu, D. et al. (2023). Study on the zinc nutritional status and risk factors of Chinese 6–18-year-old children. *Nutrients*, 15(7), Article 1685. <https://doi.org/10.3390/nu15071685>
- Sui, L., Du, Q., Romer, A., Su, Q., Chabosseau, P. L., Xin, Y. et al. (2023). ZnT8 loss of function mutation increases resistance of human embryonic stem cell-derived beta cells to apoptosis in low zinc condition. *Cells*, 12(6), Article 903. <https://doi.org/10.3390/cells12060903>
- Uddin, M. N., Kaczmarczyk, A., Vincze, E. (2014). Effects of Zn fertilization on hordein transcripts at early developmental stage of barley grain and correlation with increased Zn concentration in the mature grain. *PLoS ONE*, 9(9), Article e108546. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108546>
- Dionisio, G., Uddin, M. N., Vincze, E. (2018). Enrichment and identification of the most abundant zinc binding proteins in developing barley grains by Zinc-IMAC capture and nano LC-MS/MS. *Proteomes*, 6(1), Article 3. <https://doi.org/10.3390/proteomes6010003>
- Mou, L., Martini, P., Pupillo, G., Cieszykowska, I., Cutler, C. S., Mikołajczak, R. (2022). 67Cu production capabilities: A mini review. *Molecules*, 27(5), Article 1501. <https://doi.org/10.3390/molecules27051501>
- Блинов, А.В., Серов, А.В., Кравцов, А.А., Казначеев, Я.В. (2018). Строение коллоидных частиц лизинаторибофлавината цинка. *Современная наука и инновации*, 1, 67–72. [Blinov, A.V., Serov, A.V., Kravtsov, A.A., Kaznacheev, Ya.V. (2018). The structure of zinc lysinate — riboflavin colloid particles. *Modern Science and Innovations*, 1, 67–72. (In Russian)]
- Gorbachev, V., Nikitin, I., Velina, D., Klokonos, M., Mutallibzoda, S., Tefikova, S. et al. (2024). Rosebay willowherb (*Chamerion angustifolium*) in food products: Evaluation of the residual anti-radical activity of polyphenol compounds and N-acetylcystein. *Current Nutrition and Food Science*, 20(2), 220–226. <https://doi.org/10.2174/1573401319666230330095521>
- Lindon, J. C. (2000). *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. Academic Press, 2000.
- Miller, W. J. (1970). Zinc nutrition of cattle: A review. *Journal of Dairy Science*, 53(8), 1123–1135. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(70\)86355-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(70)86355-X)
- Saper, R. B., Rash, R. (2009). Zinc: An essential micronutrient. *American Family Physician*, 79(9), 768–772.
- Tsang, B. L., Holsted, E., McDonald, C. M., Brown, K. H., Black, R., Mbuya, M. N. N. et al. (2021). Effects of foods fortified with Zinc, alone or cofortified with multiple micronutrients, on health and functional outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Advances in Nutrition*, 12(5), 1821–1837. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab065>
- Udechukwu, M. C., Collins, S. A., Udenigwe, C. C. (2016). Prospects of enhancing dietary zinc bioavailability with food-derived zinc-chelating peptides. *Food Function*, 7(10), 4137–4144. <https://doi.org/10.1039/c6fo00706f>
- Gandia, P., Bour, D., Maurette, J.-M., Donazzolo, Y., Duchêne, P., Béjot, M. et al. (2007). A bioavailability study comparing two oral formulations containing zinc (Zn Bis-Glycinate vs. Zn Gluconate) after a single administration to twelve healthy female volunteers. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 77(4), 243–248. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.77.4.243>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Горбачев Виктор Валерьевич — младший научный сотрудник, научно-исследовательская лаборатория «Биотехнологии пищевых систем», Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова 115054, Москва, Стремянный пер, 36 Тел: +7-914-034-72-54 E-mail: genetic2@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2737-8604 * автор для контактов	Victor V. Gorbachev , Junior Researcher, Research Laboratory «Biotechnology of Food Systems», Plekhanov Russian University of Economics 36, Stremyanny lane, 115054, Moscow, Russia Tel: +7-914-034-72-54 E-mail: genetic2@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2737-8604 * corresponding author
Никитин Игорь Алексеевич — доктор технических наук, доцент, заведующий кафедрой пищевых технологий и биоинженерии, Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова 115054, Москва, Стремянный пер, 36 Тел: +7-929-644-36-26 E-mail: Nikitin.IA@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8988-5911	Igor A. Nikitin , Doctor of Technical Sciences, Docent, Head of the Department of Food Technology and Bioengineering, Plekhanov Russian University of Economics 36, Stremyanny lane, 115054, Moscow, Russia Tel: +7-929-644-36-26 E-mail: Nikitin.IA@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8988-5911
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	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
Балашова Мария Сергеевна — кандидат медицинских наук, доцент, кафедра медицинской генетики института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет) 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8/2 Тел: +7-917-522-67-86 E-mail: zimt@list.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5117-3580	Maria S. Balashova , Candidate of Medical Sciences, Docent, Department of Medical Genetics, N. V. Sklifosovsky ICM, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenovskiy University) 8/2, Trubetskaya str., 119991, Moscow, Russia Tel: +7-917-522-67-86 E-mail: zimt@list.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5117-3580
Тефикова Светлана Николаевна — кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры пищевых технологий и биоинженерии, Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова 115054, Москва, Стремянный пер, 36 Тел: +7-964-728-35-79 E-mail: Tefikova.SN@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9086-0781	Svetlana N. Tefikova , Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Food Technology and Bioengineering, Plekhanov Russian University of Economics 36, Stremyanny lane, 115054, Moscow, Russia Tel.: +7-964-728-35-79 E-mail: Tefikova.SN@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9086-0781
Зиборов Дмитрий Михайлович — кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры пищевых технологий и биоинженерии, Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова 115054, Москва, Стремянный пер, 36 Тел: +7-910-415-44-67 E-mail: Ziborov.DM@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0381-5945	Dmitrii M. Ziborov , Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Food Technology and Bioengineering, Plekhanov Russian University of Economics 36, Stremyanny lane, 115054, Moscow, Russia Tel.: +7-910-415-44-67 E-mail: Ziborov.DM@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0381-5945
Велина Дарья Александровна — младший научный сотрудник, научно-исследовательская лаборатория «Биотехнологии пищевых систем», Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова 115054, Москва, Стремянный пер, 36 Тел: +7-985-256-89-87 E-mail: Velina.DA@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2398-3375	Daria A. Velina , Junior Researcher, Research Laboratory «Biotechnology of Food Systems», Plekhanov Russian University of Economics 36, Stremyanny lane, 115054, Moscow, Russia Tel: +7-985-256-89-87 E-mail: Velina.DA@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2398-3375
Клейн Евгения Эдуардовна — ассистент, кафедра пищевых технологий и биоинженерии, Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова 115054, Москва, Стремянный пер, 36 Тел: +7-953-669-18-73 E-mail: Kleyn.EE@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0322-036X	Evgenia E. Kleyn , Laboratory Assistant, Department of Food Technology and Bioengineering, Plekhanov Russian University of Economics 36, Stremyanny lane, 115054, Moscow, Russia Tel: +7-953-669-18-73 E-mail: Kleyn.EE@rea.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0322-036X
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/10.21323/2618-9771-2024-7-4-575-584>

Поступила 15.07.2024

Поступила после рецензирования 13.12.2024

Принята в печать 17.12.2024

© Дыдыкин А. С., Зубарев Ю. Н., Логунова Е. И., Самойлова А. М., Калугина З. И., 2024

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ СРОКА ХРАНЕНИЯ НА КОЛИЧЕСТВО ЙОДА В ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТАХ

Дыдыкин А. С.¹, Зубарев Ю. Н.¹, Логунова Е. И.^{1,*}, Самойлова А. М.², Калугина З. И.²¹Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия²Всероссийский научный центр исследовательский институт технологии консервирования, Видное, Московская область, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

йодированная
соль, ламинария,
йодтирозины,
вольтамперметрия,
хроматография,
спектрофотометрия

Йод оказывает неоспоримое воздействие на жизненно важные системы человеческого организма, и его недостаток или переизбыток могут нести пагубные последствия. Мероприятия по массовому предотвращению йододефицитных заболеваний главным образом включают в себя обогащение общедоступных продуктов питания йодсодержащими пищевыми ингредиентами. Результаты исследования показали, что количество йода в таких ингредиентах, как йодированная соль и сушеная ламинария может снижаться в процессе хранения, даже при соблюдении условий хранения и сроков годности. Количественный анализ йода и йодтирозинов в БАД с органической формой йода показал хорошую устойчивость соединений на протяжении всего срока годности. Количественный анализ молекулярного йода в объектах выполнялся вольтамперметрическим методом, по результатам которого были составлены диаграммы вида «ящик с усами», отображающие погрешность измерения и тенденцию снижения количества йода в объектах исследования в процессе хранения. Количественный анализ органической формы йода — йодтирозинов — выполнялся методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрофотометрическим детектированием. На основе полученных результатов были составлены гистограммы, отражающие изменения соотношения монойодтирозинов и диодтирозинов, а также снижение концентрации йодтирозинов в зависимости от срока годности.

Received 15.07.2024

Accepted in revised 13.12.2024

Accepted for publication 17.12.2024

© Dydykin A. S., Zubarev Yu. N., Logunova E. I., Samoylova A. M., Kalugina Z. I., 2024

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

Original scientific article

Open access

INFLUENCE OF STORAGE DURATION ON THE AMOUNT OF IODINE IN FOOD INGREDIENTS

Andrey S. Dydykin¹, Yuri N. Zubarev¹, Evlaliya I. Logunova^{1,*}, Anastasiya M. Samoylova², Zoya I. Kalugina²¹V. M. Gorbatov Federal Research Center of Food System, Moscow, Russia²All-Russian Research Institute of Canning Technology, Vidnoe, Moscow region, Russia

KEY WORDS:

iodized salt, laminaria,
iodothyrosines,
voltampermetry,
chromatography,
spectrophotometry

ABSTRACT

Iodine has an undeniable effect on the vital systems of the human body, and its deficiency or excess can have harmful consequences. Measures for the mass prevention of iodine deficiency diseases mainly include the fortification of publicly available food products with iodine-containing food ingredients. The results of the study showed that the amount of iodine in ingredients such as iodized salt and dried kelp can decrease during storage, even if storage conditions and expiration dates are met. Quantitative analysis of iodine and iodotyrosines in dietary supplements containing the organic form of iodine showed good stability of the compounds throughout the shelf life. Quantitative analysis of molecular iodine in the objects was carried out using the voltammetric method, based on the results of which “box-and-whisker” diagrams were compiled, displaying the measurement error, with a tendency for iodine in the research objects to decrease during storage. Quantitative analysis of the organic form of iodine (iodotyrosines) was carried out by high-performance liquid chromatography with mass spectrophotometric detection. Based on the results obtained, histograms were compiled, reflecting changes in the ratio of monoiodotyrosines and diiodotyrosines and a decrease in the concentration of iodotyrosines depending on the shelf life.

1. Введение

Йод является важным микроэлементом, необходимым для синтеза гормонов щитовидной железы: тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3). Для обеспечения нормальной работы щитовидной железы и всех систем организма важно поддерживать адекватный уровень йода. Регулярное потребление йода выше допустимого верхнего уровня чревато развитием гипотиреоза и аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, в то время как хронический йододефицит может привести к развитию эндемического зоба и гипертиреозу [1]. В группу риска по данным заболеваниям входят беременные и кормящие женщины, дети, подростки, пожилые люди, а также лица, придерживающиеся различных диет, ввиду повышенных потребностей в эссенциальных нутриентах [2,3]. Кроме того, существует теория так называемой йод-центрированной модели, в соответствии с которой йод участвует в метаболизме других микронутриентов (витамины группы В, витамин А, цинк, селен, медь и железо), влияя на их усвоение организмом человека [4].

Профилактика йододефицитных заболеваний (далее — ЙДЗ) и эндемического зоба на территории РФ осуществляется в рамках Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года¹. К наиболее доступным способам массовой профилактики йододефицитных заболеваний сегодня можно отнести использование йодированной соли для обогащения пищевых продуктов промышленной переработки и досаливание готовых блюд на предприятиях общественного питания. Индивидуальная профилактика йододефицитных состояний осуществляется тремя способами: разработка рационов, включающих продукты с повышенным содержанием йода, досаливание готовых блюд йодированной солью, а также применение витаминно-минеральных комплексов (по рекомендации врача). Суточная потребность в йоде в соответ-

¹ Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года (утверждена Распоряжением Правительства РФ № 1364-р от 29.06.2016 г.). Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/420363999>. Дата доступа 15.06.2024

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Дыдыкин, А. С., Зубарев, Ю. Н., Логунова, Е. И., Самойлова, А. М., Калугина, З. И. (2024). Влияние срока хранения на количество йода в пищевых ингредиентах. *Пищевые системы*, 7(4), 575–584. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-575-584>

FOR CITATION: Dydykin, A. S., Zubarev, Yu. N., Logunova, E. I., Samoylova, A. M., Kalugina, Z. I. (2024). Influence of storage duration on the amount of iodine in food ingredients. *Food Systems*, 7(4), 575–584. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-575-584>

ствии с Методическими рекомендациями 2.3.1.0253–21² составляет 60–120 мкг для детей, 130–150 мкг для подростков, 150 мкг для взрослых и 220–290 мкг для беременных и кормящих женщин. Поскольку экскреция йода с мочой достигает 90%, уровень йода в организме оценивается с помощью показателя йодурии — количественного анализа йода в суточном объеме мочи [5]. Согласно литературным данным, применение данного метода эффективно в отношении гигиенической оценки массового потребления йода, в то время как при определении индивидуальных показателей должны учитываться особенности метаболизма конкретного организма [6,7,8].

Программы обязательного йодирования соли приняты в 126 странах мира, в то время как в Российской Федерации и еще в 20 странах йодирование соли является добровольным. В 2019 году Минздравом РФ была предпринята попытка законодательно³ обязать производителей обогащать соль йодом посредством добавления в пищевую соль йодида или йодата калия, а также обязать производителей переработанных пищевых продуктов использовать йодированную соль в рецептурах вместо обычной пищевой соли (если это не приводит к изменениям органолептических свойств готового продукта). Однако Комитет Государственной Думы по охране здоровья принял решение отклонить данный законопроект. Причинами отклонения законопроекта, согласно заключению, послужили ограничение конституционных прав граждан на свободный выбор товаров потребления, ограничение прав граждан на свободное осуществление предпринимательской деятельности, а также существование ряда заболеваний, при которых противопоказано поступление йода в организм человека [9].

Тем не менее йодированная соль повсеместно используется в качестве функционального пищевого продукта для профилактики йододефицитных состояний и сопутствующих заболеваний, несмотря на то что, Всемирная организация здравоохранения рекомендовала всем государствам-членам стремиться сократить потребление соли населением на 30% к 2025 году [10]. Вместе с тем с 2016 года распоряжением Правительства Российской Федерации утверждены Рекомендации по рациональным нормам потребления продуктов, отвечающие современным нормам здорового питания⁴. Согласно этим рекомендациям, количество соли, в том числе йодированной, не должно превышать 4 г в сутки, что затрудняет реализацию йодной профилактики через употребление йодированной соли.

Кроме потенциальной опасности употребления чрезмерного количества соли существует вероятность снижения содержания йода в йодированной соли до значений, не способных удовлетворить суточную потребность человека в йоде при употреблении соли в безопасных количествах. Многими авторами опубликованы исследования, доказывающие высокую летучесть соединений йодида и йодата калия [11,12,13]. Также показана их низкая устойчивость к термической обработке и продолжительному хранению в составе йодированной соли и продуктов, ее содержащих [14,15,16].

Для корректной оценки содержания йода и йодтирозинов в функциональных пищевых ингредиентах необходимы методы приемлемого и точного количественного определения. В зарубежной практике для определения йода в пищевых продуктах и биологически активных добавках используют пять методов анализа, которые включают спектрофотометрию, титрование, жидкостную хроматографию, ионселективный электрод и масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой [17]. Российские лаборатории проводят определение массовой доли йода в пищевых и биологически активных добавках стандартизированными методами количественного анализа йода: вольтамперометрическим методом⁵ и титриметрическим методом⁶, однако применение последнего метода для анализа

биологически активных добавок нецелесообразно вследствие высоких пределов обнаружения. Для определения массовой доли йодтирозинов в мясных продуктах сотрудниками ВНИИМП им. В. М. Горбатова был разработан метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором⁷, который применим и к другим пищевым продуктам, а также к йодированным молочным белкам и БАД на их основе, при условии соблюдения⁸

В предыдущей обзорной публикации авторами исследованы различные источники йода, приведена классификация йодсодержащих пищевых ингредиентов и сделаны выводы о перспективах в области обогащения переработанных продуктов йодом [18]. По мнению авторов, наиболее подходящим способом обогащения йодом пищевых продуктов является применение органических форм йода форм йода, входящих в состав йодсодержащих пищевых ингредиентов природного и синтетического происхождения. Доклинические исследования, проведенные на базе Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, подтвердили низкую токсичность йодказеинов по сравнению с йодидом калия [19,20], а также их высокую эффективность в профилактике и лечении гипотиреоза [21]. Целью данной работы являлось определение изменения количества йода и йодтирозина в йодсодержащих ингредиентах различной природы в процессе хранения.

2. Объекты и методы

Объектами исследования являлись йодсодержащие ингредиенты различной природы: йодированная соль, сушеная ламинария и биологически активная добавка на основе молочных белков. Для исследования объекты были заложены на хранение с целью изучения в них уровня йода на протяжении всего срока годности. Контрольные точки отбора проб были определены экспертным путем и составляли следующие сроки годности: в начале срока годности, 80%, 50%, 20% от установленного срока годности и дата окончания срока годности. Все объекты хранились с учетом рекомендаций изготовителя без нарушения целостности упаковок.

Йодированная соль представляет собой кристаллический сыпучий продукт бежевого цвета с вкраплениями частиц КИО₃ (йодат калия) белого цвета, вкус — соленый, без посторонних привкусов, запах со слабой примесью йода. Содержание влаги в продукте — не более 1,00%, гранулометрический состав: до 0,8 мм включительно — не менее 75%, от 0,8 до 1,2 мм включительно — не более 25%. Срок годности для йодированной соли до недавнего времени составлял 6 месяцев в связи с высокой летучестью йода. По истечении 6 месяцев йодированная соль использовалась до окончания срока годности, установленного для пищевой соли, как соль без добавок. Однако с 2018 года Техническим комитетом по стандартизации ТК 154 в обновленный стандарт ГОСТ Р 51574–2018⁹ на пищевую соль с некоторыми примечаниями включена йодированная соль, и тем самым установлен увеличенный срок годности для данного ингредиента вплоть до 18 месяцев.

Сушеная ламинария (морская капуста) является продуктом переработки слоевища бурых водорослей видов *Laminaria Japonica Aresch* и *Laminaria saccharina*, полученным путем высушивания и последующего измельчения. Данные растения широко распространены в северных водах Атлантического и Тихого океанов, а также выращиваются в условиях аквакультуры на водорослевых комбинатах. Готовый продукт представляет собой дробленые листья ламинарии средней фракции, без посторонних примесей, в том числе без плесени и признаков порчи, цвет от зеленого до бурого или коричневого цвета. Вкус горький, с ощущением слизистости, с характерным запахом йода. Содержание влаги не более 10%. Срок годности сушеной ламинарии в виде БАД составляет 36 месяцев.

Биологически активная добавка на основе молочных белков «Йодонорм» — органическая форма йода в виде йодтирозинов. В основе технологии получения БАД лежит ферментативное йодирование аминокислотных остатков сывороточных белков коровьего молока, с последующей очисткой от остатков неорганического йода

² 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.). Электронный ресурс: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/402716140/>. Дата доступа 15.06.2024

³ Проект федерального закона от 26 марта 2019 г. «О популяционной профилактике заболеваний, связанных с дефицитом йода». Электронный ресурс: <https://base.garant.ru/56813924/>. Дата доступа 15.06.2024

⁴ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 19 августа 2016 г. № 614 «Об утверждении Рекомендаций по рациональным нормам потребления пищевых продуктов, отвечающих современным требованиям здорового питания». Электронный ресурс: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71385784/>. Дата доступа 15.06.2024

⁵ МУК 4.1.1481–03 «Определение массовой концентрации йода в пищевых продуктах, продовольственном сырье, пищевых и биологически активных добавках вольтамперометрическим методом». Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/1200032528>. Дата доступа 15.06.2024

⁶ МУК 4.1.1106–02 «Определение массовой доли йода в пищевых продуктах и сырье титриметрическим методом». Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/1200030203>. Дата доступа 15.06.2024

⁷ ГОСТ 33422–2015 «Мясо и мясные продукты. Определение массовой доли йодтирозинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором». Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/1200127209?ysclid=m4chbil8u9904339296>. Дата доступа 15.06.2024

⁸ МИ 103.5–132–2012/01.00225–2011 «Определение содержания йодтирозинов в йодированных молочных белках и БАДах на их основе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии». Утверждена: 17.04.2011 г. Лисицыным А. Б., директором ВНИИМП им. В. М. Горбатова. Свидетельство об аттестации № 103.5–132–2012/01.00225–2011 от 6.04.2012.

⁹ ГОСТ Р 51574–2018 «Соль пищевая. Общие технические условия». М.: Стандартинформ, 2018. — 8 с.

методом ультрафильтрации или сублимационной/распылительной сушкой. Химический состав йодтирозинов представлен смесью моноидотиозина (3-йодтирозин, далее — МИТ) и дийодтиозина (3,5-дийодтирозин, далее — ДИТ). Йодтирозины являются порошкообразными веществами, хорошо растворимыми в щелочах и в метиловом спирте. Пищевая ценность БАД «Йодонорм» в соответствии с технической документацией составляет на 100 г: белки — 80 г, жиры — 2 г, углеводы — 5 г, ковалентно-связанный йод — 2,5 г. Срок годности — 24 месяца.

Количественное определение неорганического йода в опытных образцах соли и БАДов проводили по МУК 4.1.14281–03 на анализаторе TA-Lab (ООО НПФ «Томьаналит», Россия) с трехэлектродными ячейками. В качестве рабочего электрода использовали амальгамные электроды, на которые предварительно наносили тонкую пленку ртути электрохимическим способом. В качестве электродов сравнения и вспомогательных применяли хлорсеребряные электроды, которые предварительно заполняли электролитом. В качестве электролита готовили 1М водный раствор хлорида калия (Panreac, Испания).

Суть данного метода заключается в накоплении определяемого элемента на индикаторном электроде в течение заданного времени и при заданном потенциале. Затем происходит растворение этого элемента с регистрацией максимального тока, который прямо пропорционален его концентрации. Этот процесс можно наблюдать по виду вольтамперметрической кривой, на которой виден характерный пик для определяемого элемента [22]. Концентрация йода рассчитывается исходя из величины катодного тока электрохимического растворения йодсодержащих продуктов.

Кварцевые стаканчики объемом 20 мл предварительно протирали пищевой содой, промывали бидистиллированной водой и прокаливали в муфельной печи ПМ-16П-1200 («Электроприбор», Россия) при температуре 550 °С в течение 1 часа. Для исследований отбирали по 0,1–0,2 г образцов йодированной соли и БАДов. Далее в пробы добавляли по 1 см³ 10%-го раствора гидроксида калия (Merck, Германия) и выдерживали в течение получаса. После этого полученные растворы выпаривали на электрической плитке ES-NA3040 («ЭКРОСХИМ», Россия) при температуре 120 °С в течение 30 минут. В охлажденные кварцевые стаканчики добавляли по 1 см³ дистиллированной воды и 0,5 см³ 10%-го раствора цинка сернокислого («Ленреактив», ХЧ, Россия) и вновь проводили выпаривание при температуре 150 °С в течение 30 минут. Далее проводили озонение проб при 500 °С в муфельном шкафу в течение 20 минут. Полученные озоненные пробы растворяли в 10 мл бидистиллированной воды и отбирали аликваты в объемах 0,05–1 см³ на анализ.

Расчет концентрации йода проводили методом стандартной добавки. В качестве аттестационной смеси использовали готовый основной водный раствор ионов йода с концентрацией 1 мг/дм³ (ЭАА «Эко-аналитика»).

При определении искомого микронутриента сначала регистрировали вольтамперограмму фонового раствора, затем исследуемого раствора. После чего вносили добавку аттестационной смеси и регистрировали вольтамперограмму добавки.

Определение йодтирозинов в исследуемых опытных образцах БАД проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (далее — ВЭЖХ–МС) по МИ 103.5–132–2012/01.00225–2011 на системе ВЭЖХ Agilent 1200 series (Agilent Technologies, США) в режиме мониторинга множественных реакций на масс-спектрометре Agilent 6410 Triple Quadrupole (Agilent Technologies, США). После проведение дериватизации методом обращенно-фазной хроматографии проводили хроматографическое разделение гидролизата смеси на колонке с фазой C18 (Agilent Eclipse XDB C18, 4,6x50 мм, 1,8 мкм).

Суть данного метода заключается в многократном повторении процессов сорбции и десорбции, происходящих между подвижной фазой и растворенной в ней пробой. Далее проводится идентификация йодтирозинов на основе времени удерживания и отношения площадей пиков ионов-продуктов в сравнении со стандартными образцами [23,24,25].

Предварительно готовили градуировочные растворы следующим образом: взвешивали 20 мг 3-йод-L-тирозина (МИТ) и 20 мг 3,5-дийод-L-тирозина дигидрата (ДИТ) (Sigma Aldrich, США), переносили их в мерные колбы вместимостью 100 см³ и добавляли метанол (V&J Brand, Канада) до метки. Затем колбы помещали на 20–25 минут в ультразвуковую баню (Branson, США) до полного растворения, после чего дозатором переносили по 0,5 см³ каждого раствора в виалы из темного стекла объемом 2 см³. Подготовленную виалу со смесью градуировочных растворов переносили в автосамплер системы

ВЭЖХ Agilent 1200 series (Agilent Technologies, США) и записывали хроматограмму при длине волны 285 нм, при температуре колонки 25 °С и при объеме пробы 20 мкл в градиентном режиме. При получении трех последовательных измерений со стандартным отклонением времени удерживания йодтирозинов не более 5% и при коэффициенте асимметрии пика хроматограммы не более 2% градуировку аналитической системы считали завершенной.

Для исследований отбирали по 0,1–0,2 г сушеной ламинарии и БАД «Йодонорм» в соответствии с Р 4.1.1672–03¹⁰, с точностью до 0,0001 г, и помещали в стеклянные термоустойчивые флаконы. Пробу сушеной ламинарии высушивали обезжиривали на аппарате Сокслета Behr R106 S (Behr Labor-Technik, Германия). Навеску образца переносили в микроцентрифужные пробирки вместимостью 1,5 см³, растворяли в буферном растворе соляной кислоты молярной концентрацией 0,1 моль/дм³ («Ленреактив», ХЧ, Россия) до массовой концентрации 2 мг/см³, затем добавляли протеазу (CAS9036–06–0 протеаза из *Streptomyces griseus*, тип XIV, >3,5 Ед/мг, Китай) в количестве 0,01 г и инкубировали при 37 °С в течение 16 часов в температурном реакторе Reacti-Therm TS-18823 (Thermo Fisher Scientific, США). По прошествии заданного времени термостатирования осуществляли очистку целевых веществ методом центрифугирования в течение 5 мин при 4000 об/мин на центрифуге Supra R17 (Hanil, Республика Корея), пропускали через фильтр с порами Ø 0,45 мкм и хранили гидролизат при 4–6 °С.

Патрон твердофазной экстракции (далее — ТФЭ) предварительно кондиционировали последовательным пропуском 2 см³ элюента для ВЭЖХ и 2 см³ бидистиллированной воды. Отбирали 0,4 см³ гидролизата пробы, приливали 0,1 см³ ацетонитрила, наносили смесь на патрон. Экстракцию патрона проводили в две стадии, последовательно элюируя 1 см³ элюента для ВЭЖХ и 1,5 см³ смеси ацетонитрила с 0,1 М соляной кислотой («Ленреактив», ХЧ, Россия), собирая смывы. Элюент переносили в круглодонную колбу вместимостью 10 см³ и упаривали досуха в муфельной печи NABERTHERM L(T) 40/11 (Nabertherm, Германия) при 60 °С.

Сухой остаток гидролизованной пробы растворяли в 0,3 см³ смеси бутанол — хлористый ацетил (4:1) и термостатировали при 60 °С в течение 15 мин для дериватизации йодтирозинов. Растворитель упаривали досуха при 60 °С и растворяли остаток в 0,4 см³ ацетонитрила в воде. Перед анализом дериват пропускали через фильтр с порами Ø 0,45 мкм и хранили при 4–6 °С.

Для проведения хроматографического анализа использовали двухкомпонентную подвижную фазу: элюент А — ацетонитрил для ВЭЖХ (Pallav Chemicals, Индия) и элюент В — буферный раствор трифторуксусной кислоты, доведенный до метки дистиллированной водой в мерной колбе вместимостью 1000 см³.

Разделение на хроматографической колонке проводили с использованием параметров и условий ВЭЖХ, изложенных в Таблице 1, в режиме градиентного элюирования при объеме вводимой пробы 10 мкл.

Таблица 1. Параметры и условия ВЭЖХ

Table 1. Parameters and conditions of HPLC

Время, мин	Соотношение компонентов подвижной фазы		Скорость потока, см ³ /мин	Температура колонки, °С
	А, %	В, %		
0,0	20	80	0,6	30
2,0	90	10	0,6	30
5,0	90	10	0,6	30

Подготовленную пробу в количестве 10 мкл вносили в две виалы вместимостью 2 см³ и анализировали в системе ВЭЖХ–МС при заданных градуировочных условиях. Расчет содержания йодтирозинов в образцах и площадей пиков выполняли системой обработки данных (Masshunter Quantitative Analysis (Version Build 4.0.225.0) в автоматическом режиме в соответствии с данными, полученными при анализе градуировочных растворов.

Для осуществления анализа применяли следующие параметры масс-спектрометрического детектирования:

- Температура источника 100 °С;
- Температура газа десольвации 320 °С;
- Скорость потока газа десольвации 8 л/мин;
- Давление иглы распылителя — 30 psi (~2,07 Бар).

¹⁰ Р 4.1.1672–03 «Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище» Электронный ресурс: <https://docs.cntd.ru/document/1200034795>. Дата доступа 15.06.2024

Условия регистрации аналитических сигналов в режиме мониторинга множественных реакций (далее — МРМ) представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Параметры воздействия на ионы в режиме МРМ и условия ионизации распылением в электрическом поле с регистрацией положительных ионов

Table 2. Parameters of an impact on ions in the MRM mode and conditions of electrospray ionization with the registration of positive ions

Аналит	Ион предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Напряжение на фрагменторе (Frag), В	Энергия диссоциации (CE), В
3-йодтирозин (МИТ)	364,0 364,0	134,9 261,9	112 112	30 13
3,5-дийодтирозин (ДИТ)	489,9 489,9	387,8 260,9	116 116	17 30

Для обеспечения условий детектирования использовали градуировочные растворы с концентрацией 100, 10 и 1 нанограмм/см³.

Для каждой аминокислоты (МИТ и ДИТ) были получены четко определенные профили элюирования с использованием линейного градиента фаз от 20 до 80%, элюированных в течение 40 мин. Автоматическое детектирование и спектральный анализ проводили по значению площади хроматографического пика с использованием программы Spectrum Index с учетом времени удержания и спектральных характеристик. Этот метод позволил идентифицировать и количественно определить йодоаминокислоты МИТ и ДИТ из двух объектов в диапазоне от 0,012 до 12 мг/кг.

Эксперименты проводились в трехкратной повторности. Полученные данные выражали в виде среднего значения трех повторностей ± стандартное отклонение. Статистический анализ экспериментальных данных проводили методом вариационной статистики при использовании t-теста Стьюдента с применением программы Microsoft Excel 2010. Уровень значимости для всех статистических тестов составлял 5% ($p < 0,05$).

3. Результаты и обсуждение

3.1. Количественное определение молекулярного йода

На Рисунках 1–3 представлены хроматограммы, полученные при определении искомого нутриента в образцах «Соль йодированная», «Сушеная ламинария» и «БАД Йодонорм» в контрольных точках измерения «В начале срока годности» и «В конце срока годности». Значения, полученные в граничных и промежуточных контрольных точках, даны в Таблице 3.

На кривой 1 фоновый электролит отсутствуют пики токов окисления. Это говорит о том, что искомые элементы отсутствуют в фоне. На кривой 2 пробы присутствуют пики искомого элемента при потенциале (В) — 0,216, что свидетельствует о присутствии в растворе ионов йода. После введения аттестационной смеси в раствор на анодной кривой 3 максимальное значение силы тока увеличивается пропорционально концентрации добавки, достигая значения 5,3 мкА на Рисунке 1(а) и значения 2,8 мкА на Рисунке 1(б). Анализ графиков показал снижение концентрации йода пропорционально значению силы тока в образце от начала срока годности к его окончанию на 54%.

На кривой 1 фоновый электролит отсутствуют пики токов окисления. Это говорит о том, что искомые элементы отсутствуют в фоне. На кривой 2 пробы присутствуют пики искомого элемента при потенциале (В) — 0,262, что свидетельствует о присутствии в растворе ионов йода. После введения аттестационной смеси в раствор на анодной кривой 3 максимальное значение силы тока увеличивается пропорционально концентрации добавки, достигая значения 3,75 мкА на Рисунке 2(а) и значения 1,49 мкА на Рисунке 2(б). Анализ графиков показал снижение концентрации йода пропорционально значению силы тока в образце от начала срока годности к его окончанию на 60%.

На кривой 1 фоновый электролит отсутствуют пики токов окисления. Это говорит о том, что искомые элементы отсутствуют в фоне. На кривых 2 пробы присутствуют пики искомого элемента при потенциале (В) — 0,315, что свидетельствует о присутствии в растворе ионов йода. После введения аттестационной смеси в раствор на анодной кривой 3 максимальное значение силы тока увеличивается

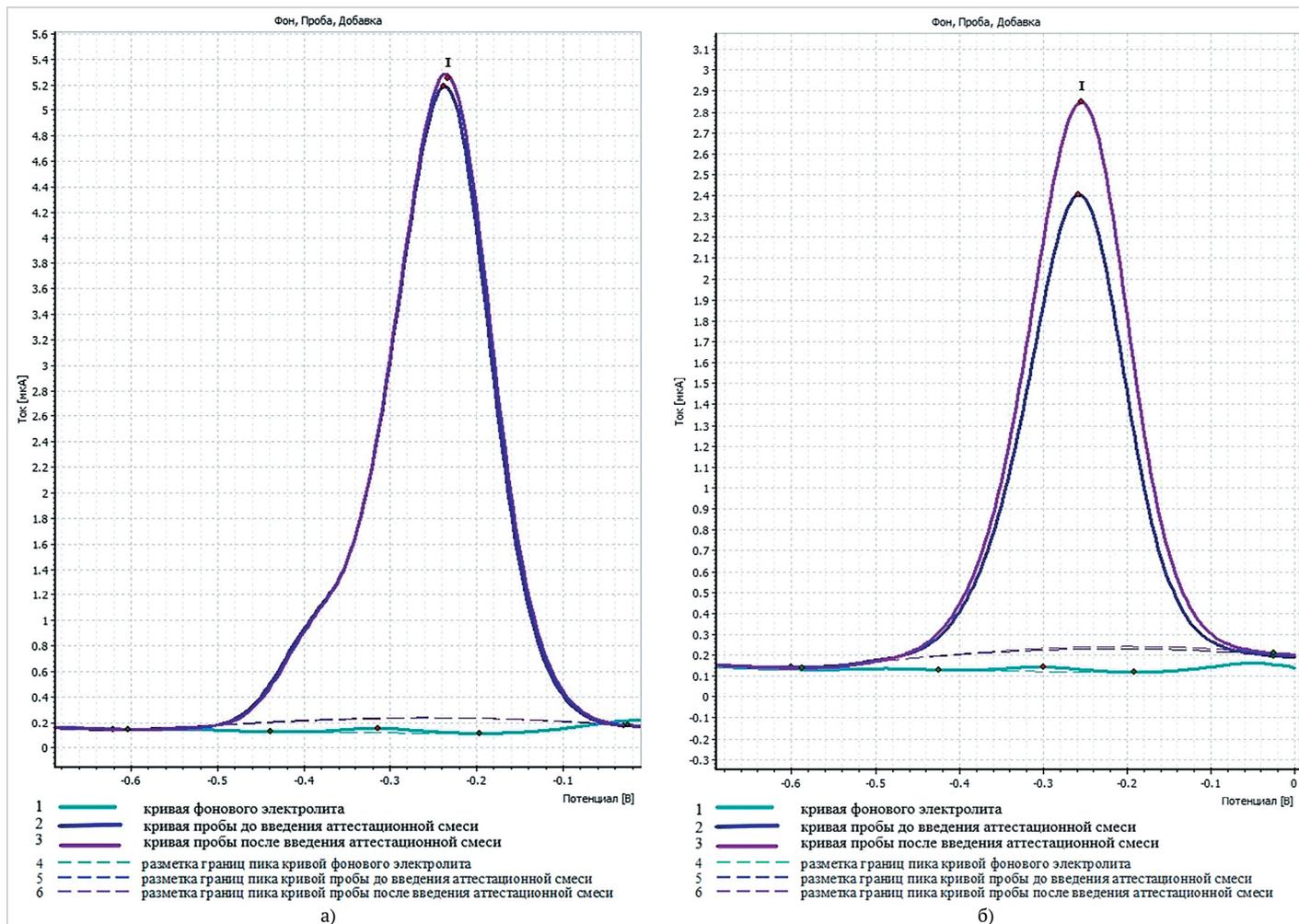


Рисунок 1. Вольтамперограммы образца «Йодированная соль» в контрольных точках измерения № 1 и № 5

Figure 1. Voltammograms of the sample "Iodized salt" in the control points of measurement No. 1 and No. 5

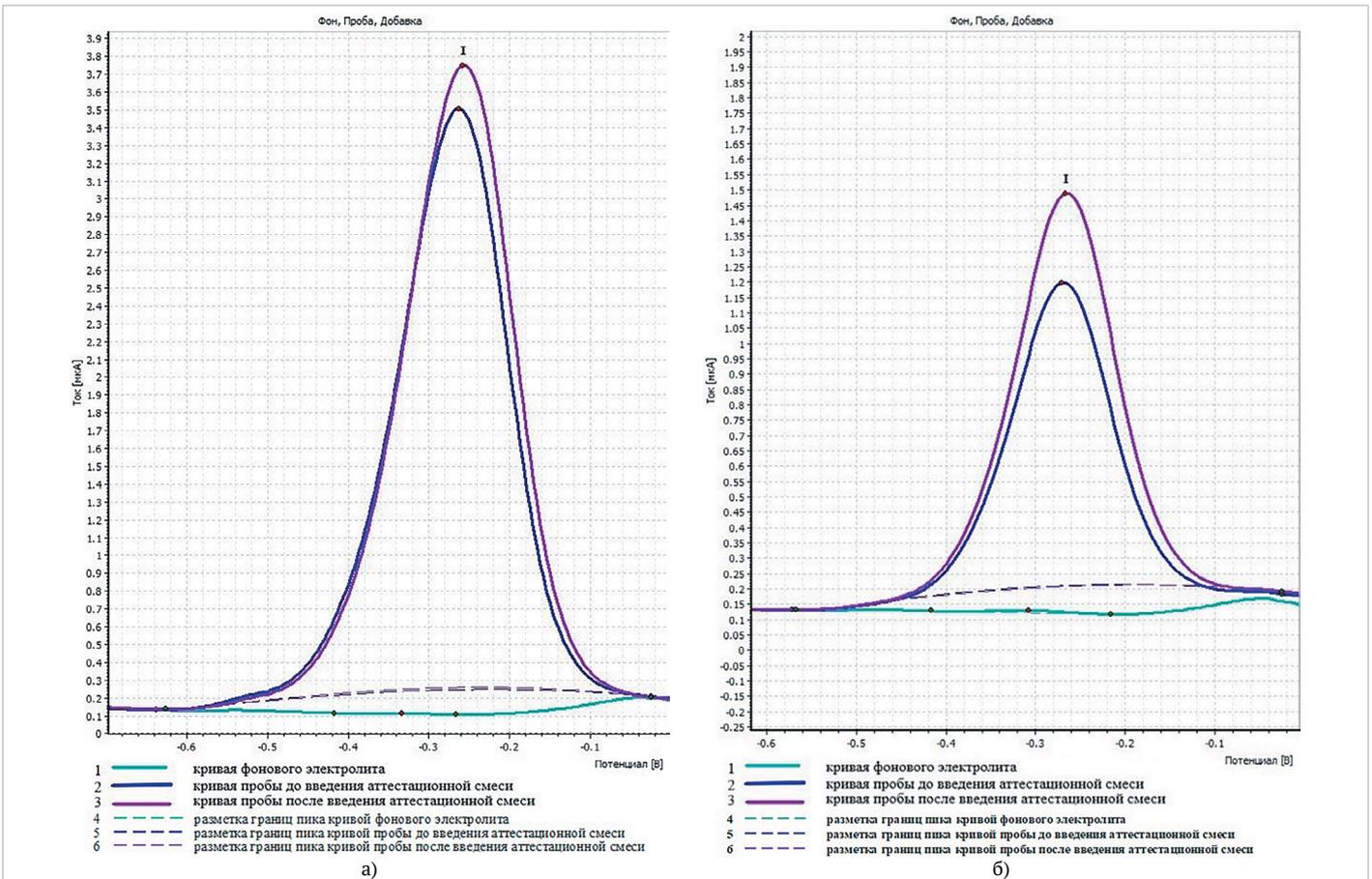


Рисунок 2. Вольтамперограммы образца «Сушеная ламинария» в контрольных точках измерения № 1 и № 5
 Figure 2. Voltammograms of the sample “Dried kelp” in the control points of measurement No. 1 and No. 5

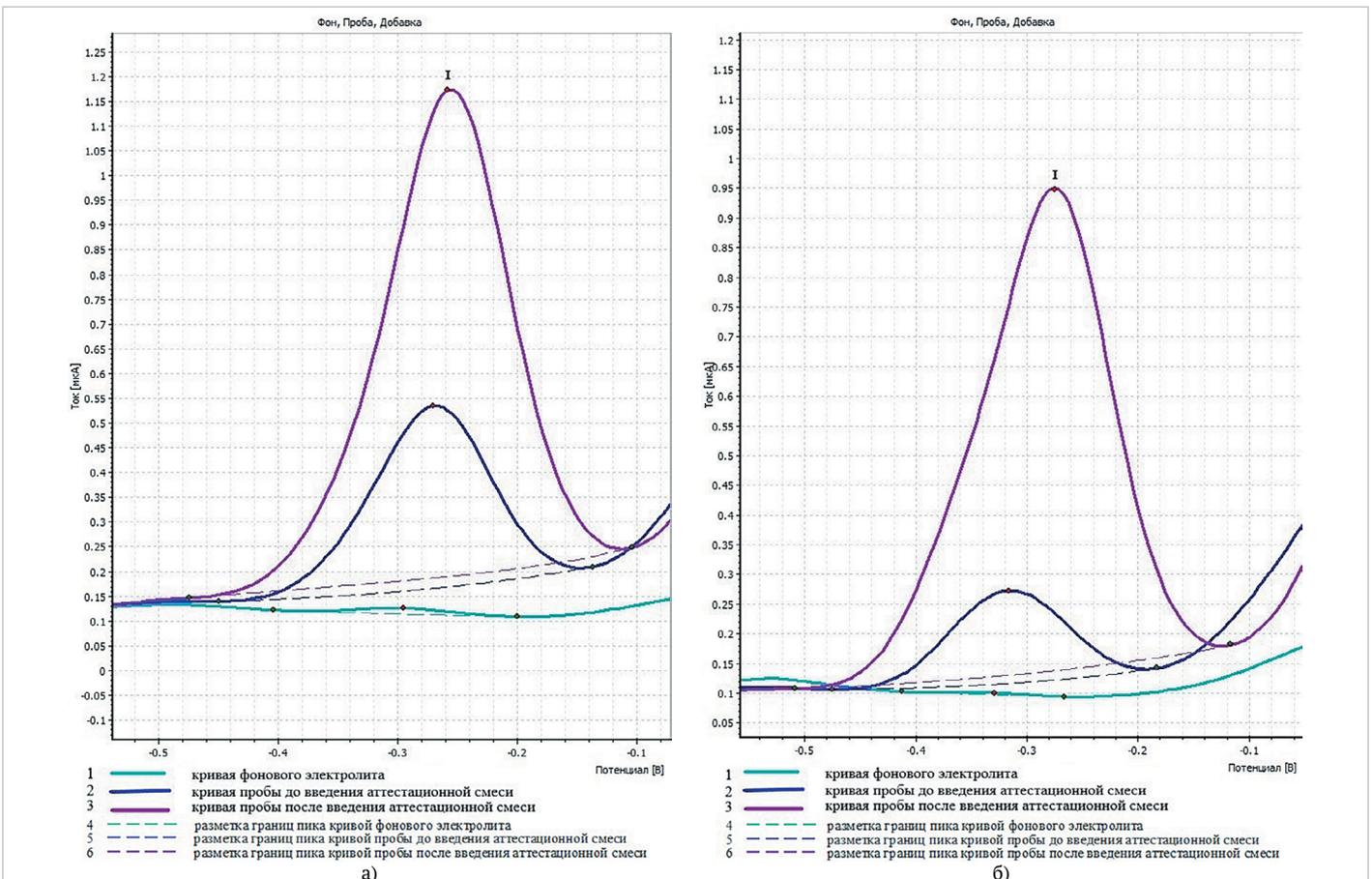


Рисунок 3. Вольтамперограммы образца «БАД “Йодонорм”» в контрольных точках измерения № 1 и № 5
 Figure 3. Voltammograms of the sample of dietary supplement “Iodonorm” in the control points of measurement No. 1 and No. 5

Таблица 3. Результаты анализов пищевых йодсодержащих ингредиентов на остаточное количество молекулярного йода в процессе хранения

Table 3. Results of the analysis of iodine-containing ingredients on the residual quantity of molecular iodine during storage

Контрольная точка	№ опыта	Содержание йода, мг/кг		
		Соль йодированная	Ламинария сушеная	БАД «Йодонорм»
В начале срока годности	1	30 ± 8 ^a	15469 ± 4808 ^a	20553 ± 6382 ^a
	2	30 ± 8	15469 ± 4808	20553 ± 6382
	3	30 ± 8	15502 ± 4808	20499 ± 6382
80% от срока годности	1	31 ± 8 ^a	15457 ± 4808 ^a	20587 ± 6382 ^a
	2	26 ± 7	10563 ± 3654	20101 ± 6235
	3	27 ± 7	10536 ± 3654	19987 ± 6235
50% от срока годности	1	25 ± 7 ^b	10510 ± 3654 ^b	20065 ± 6235 ^b
	2	22 ± 7	6675 ± 2075	19630 ± 6136
	3	23 ± 7	6469 ± 2075	19637 ± 6136
20% от срока годности	1	26 ± 7 ^b	6725 ± 2075 ^b	19687 ± 6136 ^c
	2	22 ± 7	5508 ± 1712	18345 ± 5627
	3	21 ± 7	5534 ± 1712	18320 ± 5627
С истекшим сроком годности	1	20 ± 7 ^c	5478 ± 1712 ^c	18267 ± 5627 ^d
	2	14 ± 7	4143 ± 1295	17140 ± 5331
	3	13 ± 7	4168 ± 1295	17178 ± 5331

Примечание: различные буквы a, b, c, d обозначают значительную разницу между образцами в разное время хранения при $p < 0,05$.

пропорционально концентрации добавки, достигая значения 1,18 мкА на Рисунке 3(а) и значения 0,68 мкА на Рисунке 3(б). Анализ графиков показал снижение концентрации йода пропорционально значению силы тока в образце от начала срока годности к его окончанию на 16%.

В Таблице 3 представлены результаты полученных данных по содержанию йода в образцах йодированной соли и БАД в процессе хранения с момента выработки до окончания срока годности в 5 контрольных точках измерения. Измерения проводились трехкратно, за истинное было принято медианное значение. Все образцы хранились с учетом подходящих условий окружающей среды без нарушения целостности упаковки.

Погрешность измерения при выполнении количественного анализа йода вольтамперометрическим методом составила 31%. По результатам количественного анализа йода вольтамперометрическим методом были составлены диаграммы «ящик с усами», отражающие погрешность измерения в виде диаграммы размаха данных. На диаграммах красной линией отмечена концентрация йода в объектах, заявленная производителем, и на Рисунке 4 оранжевым пунктиром отмечено минимальное содержание йода в йодированной соли по рекомендациям ВОЗ.

Анализ данных, приведенных на Рисунке 4, показал снижение в объекте «Йодированная соль» от начального уровня в 30 мг/кг в процессе хранения:

80% от срока годности — до 27 мг/кг, что на 10% ниже начального уровня; 50% от срока годности — до 23 мг/кг, что на 23% ниже начального уровня; 20% от срока годности — до 22 мг/кг, что на 27% ниже начального уровня; С истекшим сроком годности — до 14 мг/кг, что на 54% ниже начального уровня. В последней точке измерения на момент окончания срока годности концентрация йода в йодированной соли не соответствовала рекомендациям ВОЗ¹¹ по уровню обогащения соли йодом в количестве не менее 20 мг/кг.

Данные в отношении снижения концентрации йода в образцах йодированной соли, полученные в ходе исследования, коррелируют с данными из других научных источников [26]. Потери йода из йодированной соли в процессе хранения могут происходить по нескольким причинам. Например, это связано с хранением соли, расфасованной в крупную тару [27], с расположением точек сброса соли на открытых пространствах и с воздействием солнечных лучей на йодированную соль [28]. Также потери могут быть вызваны хранением соли в помещениях с повышенной влажностью [29] или в бытовых условиях в открытой упаковке потребителями после покупки [30]. Обеспечение сохранения йода в йодированной соли на протя-

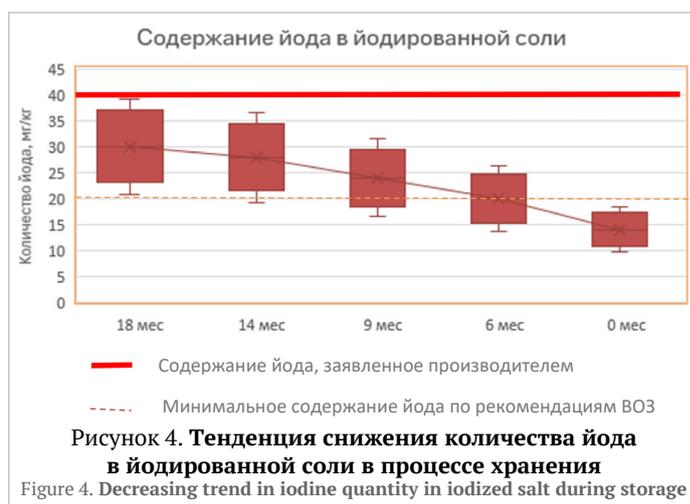


Рисунок 4. Тенденция снижения количества йода в йодированной соли в процессе хранения
Figure 4. Decreasing trend in iodine quantity in iodized salt during storage

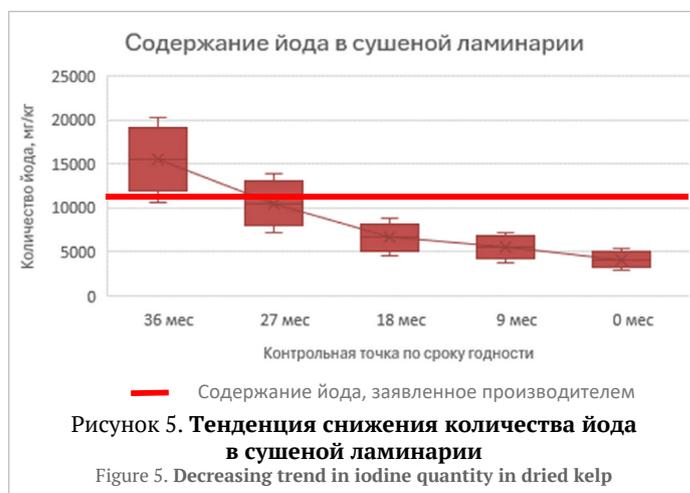


Рисунок 5. Тенденция снижения количества йода в сушеной ламинарии
Figure 5. Decreasing trend in iodine quantity in dried kelp

жении всего срока годности может быть реализовано посредством герметичной свето- и паронепроницаемой упаковки и соблюдения режимов хранения, в том числе потребителями в бытовых условиях.

Анализ данных, приведенных на Рисунке 5, показал снижение в объекте «Сушеная ламинария» от начального уровня в 15469 мг/кг в процессе хранения:

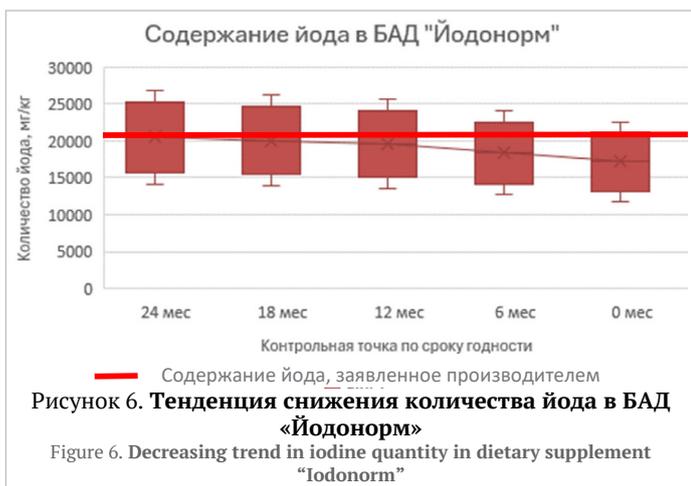
- 80% от срока годности — до 10536 мг/кг, что на 32% ниже начального уровня;
- 50% от срока годности — до 6675 мг/кг, что на 57% ниже начального уровня;
- 20% от срока годности — до 5534 мг/кг, что на 64% ниже начального уровня;
- С истекшим сроком годности — до 4168 мг/кг, что на 73% ниже начального уровня.

Исследуемые образцы ламинарии были упакованы в двухслойную упаковку из бумаги и картона. Это, возможно, стало причиной потерь йода в процессе хранения. Данная гипотеза подтверждается исследованиями норвежских ученых, которые проанализировали образцы ламинарии, приобретенные в точках розничных продаж. Результаты показали широкий диапазон содержания йода в образцах, а также несоответствие фактической концентрации йода, заявленной на маркировке [31]. Кроме того, существуют исследования, доказывающие зависимость концентрации йода в сушеной ламинарии от способа высушивания исходного сырья [32], при этом самым щадящим способом признается вакуумная сушка с предварительным замораживанием до -25°C .

Анализ данных, представленных на Рисунке 6, показал снижение содержания йода в объекте «БАД «Йодонорм»» в процессе хранения. Начальный уровень составлял 20553 мг/кг, а его снижение на различных этапах хранения распределилось следующим образом:

- 80% от срока годности — до 20101 мг/кг, что на 2% ниже начального уровня;
- 50% от срока годности — до 19637 мг/кг, что на 4% ниже начального уровня;
- 20% от срока годности — до 18345 мг/кг, что на 11% ниже начального уровня;

¹¹ WHO. Recommended iodine levels in salt and guidelines for monitoring their adequacy and effectiveness. Электронный ресурс: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-NUT-96.13>. Дата доступа 12.04.2024



С истекшим сроком годности — до 17178 мг/кг, что на 16% ниже начального уровня.

Настоящие исследования доказывают эффективность пробоподготовки БАД «Йодонорм», содержащего йод в органической форме с целью количественного анализа неорганического йода. Стабильность органической формы йода, связанного с молочными белками, неоднократно доказана в исследованиях продуктов, обогащенных БАД «Йодонорм» в процессе хранения [18,33–36].

3.2. Количественное определение йодтирозинов

Объект «Йодированная соль» не подвергался анализу, поскольку не содержит в составе йодказеина, а содержит йодид и йодат калия. На Рисунках 7 и 8 представлены хроматограммы йодтирозинов, полученные при анализе образцов «БАД «Йодонорм»» и «Сушеная ламинария». Определение искомого нутриента проводилось в гра-

ничных контрольных точках измерения — в начале и в конце срока годности.

На кривой хроматограммы присутствуют пики ионов-продуктов моноидотиозинов и диидотиозинов (Рисунок 7). Показания площадей пиков при измерении моноидотиозинов суммарно составляют 27058 mAU, а диидотиозинов — 5416 mAU на Рисунке 7(a). На Рисунке 7(б) эти значения составляют 22447 mAU и 9951 mAU соответственно. Анализ графиков показал снижение суммарной концентрации йодтирозинов пропорционально значению площадей пиков в образце от начала срока годности к его окончанию на 2%.

На кривой хроматограммы присутствуют пики ионов-продуктов моноидотиозинов и диидотиозинов (Рисунок 8). Показания площадей пиков при измерении моноидотиозинов составляют 12715 mAU, а диидотиозинов — 9951 mAU на Рисунке 8(a). На Рисунке 8(б) эти значения равны 1956 mAU и 305 mAU соответственно. Анализ графиков показал снижение суммарной концентрации йодтирозинов пропорционально значению площадей пиков в образце от начала срока годности к его окончанию на 90%.

В Таблице 4 представлены результаты полученных данных по содержанию йодтирозинов (МИТ, ДИТ и их сумма) в образцах БАД в процессе хранения с момента выработки до окончания срока годности в 5 контрольных точках измерения. Каждый опыт проводился троекратно, за истинное было принято медианное значение полученных результатов в рамках одного опыта.

По результатам количественного анализа йодтирозинов методом ВЭЖХ–МС были составлены столбчатые диаграммы зависимости концентрации йодтирозинов от срока годности объектов. На диаграммах пунктирной линией была отмечена экспоненциальная линия, отражающая тенденцию снижения концентрации йодтирозинов в объектах.

Анализ данных, приведенных на Рисунке 9, показал снижение йодтирозинов в процессе хранения БАД «Йодонорм» от начального уровня в 14% от массы БАД:

80% от срока годности — до 13,95%, что на 0,7% ниже начального уровня;

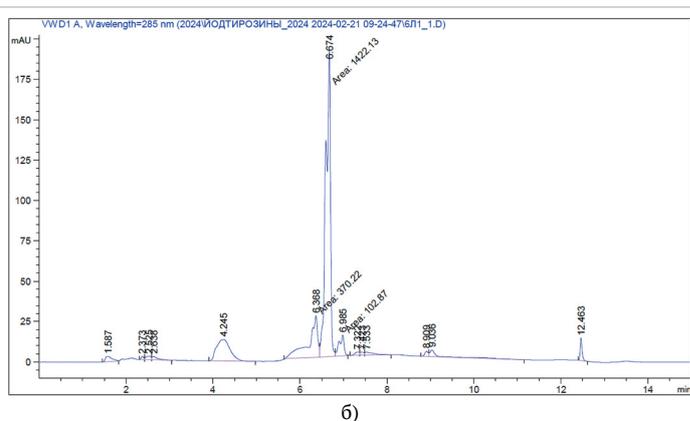
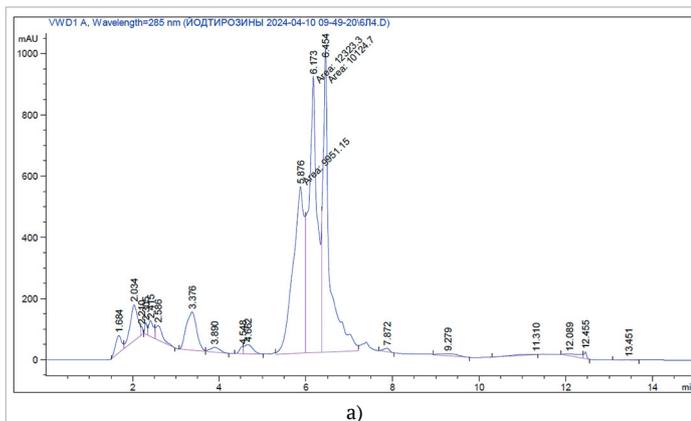


Рисунок 7. Хроматограммы концентрации йодтирозинов в образце «БАД «Йодонорм»», полученные в контрольных точках № 1 и № 5

Figure 7. Chromatograms of the iodotyrosine concentration in the sample of dietary supplement "Iodonorm" obtained in the control points No. 1 and No. 5

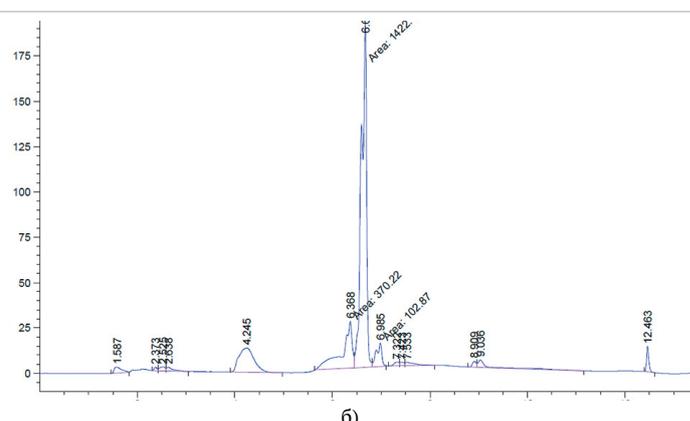
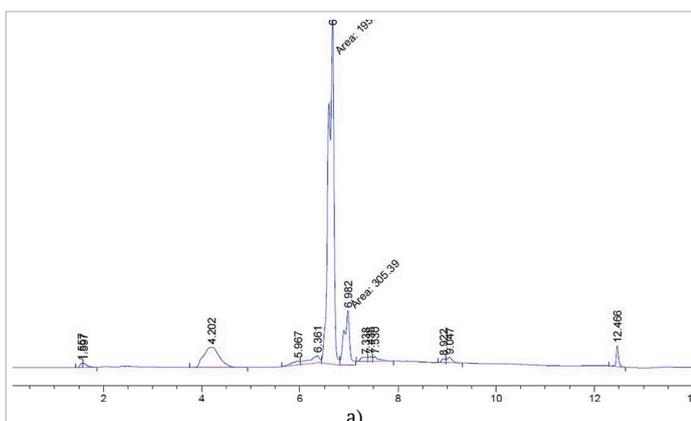


Рисунок 8. Хроматограммы концентрации йодтирозинов в образце «Сушеная ламинария», полученные в контрольных точках № 1 и № 5

Figure 8. Chromatograms of the iodotyrosine concentration in the sample "Dried kelp" in the control points of measurement No. 1 and No. 5

Таблица 4. Результаты анализов БАД на остаточное количество йодтирозинов в процессе хранения

Table 4. Results of the analyses of dietary supplements on the residual quantity of iodotyrosines during storage

Контроль-ная точка	№ опыта	Показатель, %	БАД «Йодонорм»	БАД «Сушеная ламинария»
В начале срока годности	1.1	МИТ	10,57±0,16 ^a	0,39±0,01 ^a
		ДИТ	3,03±0,01 ^a	< 0,012
		суммарно	13,6 ^a ±0,017	0,4 ^a ±0,01
	1.2	МИТ	11,12±0,16	0,54±0,01
		ДИТ	2,98±0,07	< 0,012
		суммарно	14,1±0,23	0,55±0,01
1.3	МИТ	11,47±0,16	0,69±0,01	
	ДИТ	2,93±0,07	< 0,012	
	суммарно	14,4±0,23	0,7±0,01	
80% от срока годности	2.1	МИТ	10,46±0,17 ^a	0,29±0,01 ^b
		ДИТ	3,49±0,05 ^b	< 0,012
		суммарно	13,95 ^a ±0,12	0,3 ^b ±0,01
	2.2	МИТ	10,73±0,18	0,31±0,01
		ДИТ	3,57±0,05	< 0,012
		суммарно	14,3±0,23	0,32±0,01
2.3	МИТ	10,3±0,15	0,36±0,01	
	ДИТ	3,51±0,05	< 0,012	
	суммарно	13,81±0,2	0,37±0,01	
50% от срока годности	3.1	МИТ	10,5±0,16 ^a	0,16±0,01 ^c
		ДИТ	3,5±0,06 ^b	< 0,012
		суммарно	14±0,22 ^a	0,17 ^c ±0,01
	3.2	МИТ	10,49±0,16	0,19±0,01
		ДИТ	3,31±0,05	< 0,012
		суммарно	13,8±0,21	0,2±0,01
3.3	МИТ	10,2±0,16	0,26±0,01	
	ДИТ	3,41±0,05	< 0,012	
	суммарно	13,61±0,21	0,27±0,01	
20% от срока годности	4.1	МИТ	10,5±0,15 ^a	0,15±0,01 ^c
		ДИТ	3,11±0,05 ^c	< 0,012
		суммарно	13,6 ^a ±0,2	0,16 ^c ±0,01
	4.2	МИТ	11,2±0,15	0,13±0,01
		ДИТ	2,79±0,04	< 0,012
		суммарно	13,99±0,19	0,12±0,01
4.3	МИТ	10,27±0,15	0,13±0,01	
	ДИТ	3,13±0,05	< 0,012	
	суммарно	13,7±0,2	0,14±0,01	
С истекшим сроком годности	5.1	МИТ	10,2±0,15 ^a	0,044±0,0 ^d
		ДИТ	3,4±0,05 ^d	< 0,012
		суммарно	13,6 ^a ±0,2	0,055 ^d ±0,01
	5.2	МИТ	9,9±0,15	0,050±0,01
		ДИТ	3,11±0,05	< 0,012
		суммарно	13,01±0,2	0,06±0,01
5.3	МИТ	10,58±0,16	0,055±0,01	
	ДИТ	3,62±0,06	< 0,012	
	суммарно	14,2±0,22	0,065±0,01	

Примечание: различные буквы а, b, c, d обозначают достоверные изменения остаточного количества йодтирозинов в образцах в процессе хранения при $p < 0,05$.

- 50% от срока годности — до 13,8%, что на 1,2% ниже начального уровня;
- 20% от срока годности — до 13,7%, что на 1,6% ниже начального уровня;
- С истекшим сроком годности — до 13,6%, что на 2% ниже начального уровня.

Количественное определение йодтирозинов в БАД «Йодонорм» является наиболее точным способом анализа для данной формы йода. Стабильность концентрации йода в йодированных белках неоднократно доказана исследованиями функциональных пищевых продуктов, обогащенных добавками с йодированными белками [33–36]. Использование БАД «Йодонорм» в составе ФПП допустимо



Рисунок 9. Концентрация йодтирозинов в БАД «Йодонорм»

Figure 9. Concentrations of iodotyrosines in dietary supplement “Iodonorm”

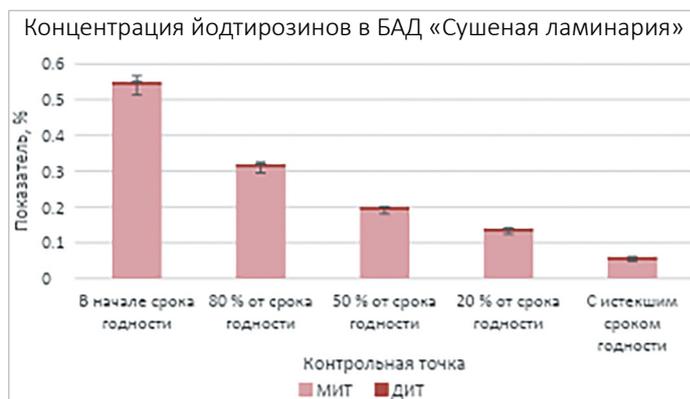


Рисунок 10. Концентрация йодтирозинов в БАД «Сушеная ламинария»

Figure 10. Concentrations of iodotyrosines in dietary supplement “Dried kelp”

на любом сроке годности обогащающей добавки без потери отличительных свойств готового продукта.

Анализ данных, приведенных на Рисунке 10, показал снижение йодтирозинов в процессе хранения БАД «Сушеная ламинария» от начального уровня в 0,54% от массы БАД:

- 80% от срока годности — до 0,32%, что на 37% ниже начального уровня;
- 50% от срока годности — до 0,2%, что на 60% ниже начального уровня;
- 20% от срока годности — до 0,13%, что на 76% ниже начального уровня;
- С истекшим сроком годности — до 0,05%, что на 90% ниже начального уровня.

Результаты количественного анализа неорганического йода оказались выше, чем результаты анализа йодтирозинов в пересчете на неорганический йод. Это позволяет сделать вывод, что в сушеной ламинарии преобладает неорганическая форма йода. Свежие исследования, полученные при помощи ИВА-определения йода, доказывают присутствие большого количества неорганического йода в образцах водорослей, аналогичных сушеной ламинарии [37]. Использование БАД «Сушеная ламинария» в составе ФПП для обогащения йодтирозидами должно сопровождаться входным контролем с целью обеспечения качества готового продукта, включающим проверку добавки на концентрацию йодтирозинов.

4. Выводы

Результаты показали, что исходная концентрация йода в начале срока годности в образцах йодированной соли и сушеной ламинарии, в отличие от БАД «Йодонорм», не соответствовала данным, заявленным производителем. Все образцы в процессе эксперимента хранились при соблюдении условий и в течение срока годности, заявленного производителем. В ходе эксперимента образцы отбирались на повторный анализ для отслеживания тенденции снижения количества йода в процессе хранения в следующих контрольных точках: 80%, 50%, 20% от срока годности и по окончании срока годности.

Исследование всех образцов включало вольтамперметрический метод определения молекулярного йода, по результатам которого были составлены диаграммы вида «ящик с усамми», отражающие изменение концентрации йода в процессе хранения с погрешностями

измерения в виде размаха данных. Дополнительно было осуществлено исследование концентрации органического йода в виде йодтирозинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрофотометрическим детектированием в образцах сушеной ламинарии и БАД «Йодонорм», по результатам которого были составлены столбчатые диаграммы, включающие экспоненциальные зависимости снижения концентрации йодтирозинов от срока хранения. Для образца «Соль йодированная» метод ВЭЖХ–МС не применялся по причине отсутствия в составе каких-либо органических веществ, а значит, из-за отсутствия каких-либо следов йодтирозинов.

Количественный анализ йода в объекте «Соль йодированная» показал, что фактическая концентрация йода в начале срока годности, меньше заявленной производителем, а ее снижение в процессе хранения происходит более чем в 2 раза и не соответствует рекомендациям Комитета по контролю за профилактикой ЙДЗ. Применение данного объекта с целью профилактики ЙДЗ будет неэффективным, а превышение рекомендуемой нормы потребления соли с целью увеличения количества потребляемого с солью йода может быть чревато развитием других алиментарно-зависимых заболеваний.

Количественный анализ йода в объекте «Сушеная ламинария» показал, что фактическая концентрация йода в начале срока годности, значительно выше заявленной производителем, и стремительно снижается в зависимости от срока хранения, а к концу срока годности и вовсе приближается к нулю. Применение данного объекта в качестве средства профилактики ЙДЗ должно сопровождаться строгим контролем йода в пищевом ингредиенте с целью недопущения передозировки йода со всеми вытекающими последствиями.

Количественный анализ йода в объекте БАД «Йодонорм» показал, что фактическая концентрация йода в начале срока годности соответствует заявленной производителем, а снижение ее в процессе хранения происходит плавно. На конец срока годности концентра-

ция йода в объекте составляла не менее 85% от концентрации в начале срока годности, что свидетельствует о высокой устойчивости данного соединения.

Исследования концентрации йодтирозинов в объекте БАД «Йодонорм» показали высокие значения определяемого вещества, что подтверждает результаты исследований концентрации неорганического йода в объекте. В течение срока годности концентрация йодтирозинов изменилась не более чем на 2%. Сделан вывод о возможности применения двух методов определения концентрации йода для ингредиентов, содержащих йодтирозины, с пересчетом на молекулярный йод.

Дополнительные исследования концентрации йодтирозинов в объекте «Сушеная ламинария» показали небольшое количество определяемого вещества, что свидетельствует о наличии органической формы йода в природном источнике и о высоком потенциале применения данного ингредиента в производстве функциональных пищевых продуктов. Однако к концу срока годности концентрация йодтирозинов в ламинарии снизилась на 90%, что ограничивает использование добавки с истечением срока годности.

Таким образом, сделаны следующие выводы:

- мероприятия по профилактике ЙДЗ с применением йодсодержащих ингредиентов должны включать обязательный контроль концентрации йода в объектах;
- применение йодированной соли может быть неэффективным при профилактике ЙДЗ вследствие значительного снижения концентраций йода в процессе хранения;
- органическая форма йода в виде йодтирозинов более устойчива в хранении, чем неорганическая форма йода в виде йодата калия;
- метод ВЭЖХ–МС по определению йодтирозина в пищевых ингредиентах может применяться для вычисления молекулярного йода с коэффициентом пересчета.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

1. Pearce, E. N., Zimmermann, M. B. (2023). The prevention of iodine deficiency: history. *Thyroid*, 33(2), 143–149. <https://doi.org/10.1089/thy.2022.0454>
2. Bailey, R. L., Pac, S. G., Fulgoni III, V. L., Reidy, K. C., Catalano, P. M. (2019). Estimation of total usual dietary intakes of pregnant women in the United States. *JAMA Network Open*, 2(6), Article e195967. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.5967>
3. Sebastiani, G., Barbero, A. H., Borrás-Novell, C., Casanova, M. A., Aldecoa-Bilbao, V., Andreu-Fernández, V. et al. (2019). The effects of vegetarian and vegan diet during pregnancy on the health of mothers and offspring. *Nutrients*, 11(3), Article 557. <https://doi.org/10.3390/nu11030557>
4. Коденцова, В. М., Рисник, Д. В. (2020). Микронутриентные метаболические сети и множественный дефицит микронутриентов: обоснование преимуществ витаминно-минеральных комплексов. *Микроэлементы в медицине*, 21(4), 3–20. [Kodentsova, V. M., Risnik, D. V. (2020). Micronutrient metabolic networks and multiple micronutrient deficiency: A rationale for the advantages of vitamin-mineral supplements. *Trace Elements in Medicine (Moscow)*, 21(4), 3–20. (In Russian)] <https://doi.org/10.19112/2413-6174-2020-21-4-3-20>
5. Campanozzi, A., Rutigliano, I., Macchia, P. E., De Filippo, G., Barbato, A., Iacone, R. et al. (2019). Iodine deficiency among Italian children and adolescents assessed through 24-hour urinary iodine excretion. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 109(4), 1080–1087. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy393>
6. Fernández, M. R., Torre, E. M., Cadórniga, F. D., Fernández, J. C. F., Álvarez, E. D. (2017). Iodine nutritional status in Asturian schoolchildren. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 64(9), 491–497. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.06.003>
7. Wei, R., Wang, Z., Zhang, X., Wang, X., Xu, Y., Li, Q. (2023). Burden and trends of iodine deficiency in Asia from 1990 to 2019. *Public Health*, 222, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2023.06.034>
8. Беспалов, В. Г., Туманян, И. А. (2019). Дефицит йода в питании как мультидисциплинарная проблема. *Лечащий врач*, 3, 8–12. [Bespalov, V. G., Tumanian, I. A. (2019). Iodine deficiency in nutrition as a multidiscipline problem. *Lechashchii Vrach*, 3, 8–12. (In Russian)]
9. 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 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>
10. Santos, J. A., Tekle, D., Rosewarne, E., Flexner, N., Cobb, L., Al-Jawaldeh, A. et al. (2021). A systematic review of salt reduction initiatives around the world: A midterm evaluation of progress towards the 2025 global non-communicable diseases salt reduction target. *Advances in Nutrition*, 12(5), 1768–1780. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab008>
11. Fallah, S. H., Khalilpour, A., Amouei, A., Rezapour, M., Tabarinia, H. (2020). Stability of iodine in iodized salt against heat, light and humidity. *International Journal of Health and Life Sciences*, 6(1), Article e100098. <https://doi.org/10.5812/ijhls.100098>
12. Pehrsson, P. R., Roseland, J. M., Patterson, K. Y., Phillips, K. M., Spungen, J. H., Andrews, K. W. et al. (2022). Iodine in foods and dietary supplements: A collaborative database developed by NIH, FDA and USDA. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109, Article 104369. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104369>
13. Abdurrahim, Md., Haque, S. E. M., Roy, D. C., Arefin, P., Ruchita, F. F., Sarkar, M. R. et al. (2023). Iodine concentration in edible salt from production to retail level in Bangladeshi territory: A comparative study following standard regulations. *Journal of Food Composition and Analysis*, 120, Article 105334. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105334>
14. Dydykin, A. S., Aslanova, M. A., Derevitskaya, O. K., Soldatova, N. E. (September 22–25, 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 MEATCON. Kopaonik, Serbia, 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/333/1/012060>
15. Meinhardt, A.-K., Müller, A., Purca, A., Greiner, R. (2019). Influence of cooking in the iodine content in potatoes, pasta and rice using iodized salt. *Food Chemistry*, 301, Article 125293. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125293>
16. Meinhardt, A.-K., Müller, A., Lohmayer, R., Dederer, I., Manthey-Karl, M., Münch, S. et al. (2022). Influence of processing and storage on the iodine content of meat and fish products using iodized salt. *Food Chemistry*, 389, Article 133092. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133092>
17. Judprasong, K., Jongjaithe, N., Chavasi, V. (2016). Comparison of methods for iodine analysis in foods. *Food Chemistry*, 193, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.058>
18. 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>
19. Князева, А. С., Вострикова, Н. Л., Куликовский, А. В., Гиро, Т. М. (2018). Влияние продолжительности хранения и тепловой обработки на сохранность йодтирозинов в мясных продуктах. *Все о мясе*, 2, 24–27. [Knyazeva, A. S., Vostrikova, N. L., Kulikovskii, A. V., Giro, T. M. (2018). Effect of shelf life and heat treatment on the preservation of iodine tyrosines in meat products. *Vsyo o Myase*, 2, 24–27. (In Russian)]
20. Дыдыкин, А. С., Устинова, А. В., Федулова, Л. В., Вострикова, Н. Л. (2013). Перспективы применения йодсодержащих добавок в мясных продуктах детского питания. *Все о мясе*, 4, 28–32. [Dydykin, A. S., Ustinova, A. V., Fedulova, L. V., Vostrikova, N. L. (2013). Prospects of additives in meat iodine-containing baby foods. *Vsyo o Myase*, 4, 28–32. (In Russian)]
21. Богатырев, А. Н., Дыдыкин, А. С., Асланова, М. А., Федулова, Л. В., Устинова, А. В. (2016). Оценка эффективности использования йодсодержащих добавок в мясных кулинарных изделиях для детского питания. *Вопросы питания*, 4, 68–75. [Bogatyrev, A. N., Dydykin, A. S., Aslanova, M. A., Fedulova, L. V., Ustinova, A. V. (2016). Assessment of the using effectiveness of iodine containing additives in development of meat products for child nutrition. *Problems of Nutrition*, 4, 68–75. (In Russian)]
22. Espada-Bellido, E., Bi, Z., Salaün, P., van den Berg, C. M. G. (2017). Determination of iodide and total iodine in estuarine waters by cathodic stripping voltammetry using a vibrating silver amalgam microwave electrode. *Talanta*, 174, 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.004>
23. Куликовский, А. В., Лисицын, А. Б., Кузнецова, О. А., Вострикова, Н. Л., Горлов, И. Ф. (2016). Методические аспекты определения органического йода (йодтирозинов) в пищевых продуктах. *Вопросы питания*, 85(4), 91–97. [Kulikovskiy, A. V., Lisitsyn, A. B., Kuznetsova, O. A., Vostrikova, N. L., Gorlov, I. F.

- (2016 Method of determination organic iodine (iodotyrosines) in food. *Problems of Nutrition*, 85(4), 91–97. (In Russian))
24. Kulikovskii, A. V., Lisitsyn, A. B., Chernukha, I. M., Gorlov, I. F., Savchuk, S. A. (2016). Determination of iodotyrosines in food. *Journal of Analytical Chemistry*, 71(12), 1215–1219. <https://doi.org/10.1134/s1061934816100087>
 25. Гиро, Т. М., Куликовский, А. В., Князева, А. С., Утьянов, Д. А., Гиро, А. В. (2021). Методические подходы определения органического йода в виде йодтирозиннов в пищевых продуктах. *Все о мясе*, 5, 46–48. [Gyro, T. M., Kulikovskii, A. V., Knyazeva, A. S., Utyanov, D. A., Gyro, A. V. (2021). Methodology for the determination of organic iodine in the form of iodotyrosines in foods. *Vsyo o Myase*, 5, 46–48. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2021-5-46-48>
 26. Маркова, Д. А. Некрасов, М. Ю. Дьяков, А. А. Данилов (2022). Определение содержания йода, йодидов и йодатов в пищевых продуктах. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*, 22(4), 373–381. [Markova, E. O., Nekrasov, D. A., Dyaakov, M. Yu., Danilov, A. A. (2022). Determination of the content of iodine, iodides and iodates in food products. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 22(4), 373–381. (In Russian)] <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2022-22-4-373-381>
 27. Tafesse, W. (2022). The effect of Universal Salt Iodization on cognitive test scores in rural India. *World Development*, 152(2), Article 105796. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2021.105796>
 28. Ariyo, O., Akintimehin, O., Taiwo, A. F., Nwandu, T., Olaniyi, B. (2023). Awareness, practices and perspectives on ensuring access to ideally packaged iodized salt in Nigeria. *Dialogues in Health*, 20(3), Article 100148. <https://doi.org/10.1016/j.dialog.2023.100148>
 29. Mahwera, D., Killel, E., Jonas, N., Nancy, A., Zangira, A., Lekey, A. et al. (2024). Evaluation of the Universal Salt Iodization (USI) surveillance system in Tanzania, 2022. *PLoS One*, 19(4), Article e0299025. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299025>
 30. 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>
 31. Aakre, I., Solli, D. D., Markhus, M. W., Mæhre, H. K., Dahl, L., Henjum, S. et al. (2021). Commercially available kelp and seaweed products—valuable iodine source or risk of excess intake? *Food and Nutrition Research*, 30, Article 65. <https://doi.org/10.29219/fnr.v65.7584>
 32. Nielsen, C. W., Holdt, S. L., Sloth, J. J., Marinho, G. S., Sæther, M., Funderud, J. et al. (2020). Reducing the high iodine content of Saccharina latissima and improving the profile of other valuable compounds by water blanching. *Foods*, 9(5), Article 569. <https://doi.org/10.3390/foods9050569>
 33. Морозова, В. В., Коломыцева, О. Ф. (2019). Исследование свойств кисло-молочного продукта, обогащенного добавкой «Йодонорм», *Переработка молока*, 11, 64–67. [Morozova, V. V., Kolomytseva, O. F. (2019). Study of the properties of the fermented product enriched with the additive “Iodonorm”. *Milk Processing*, 11, 64–67. (In Russian)]
 34. Поповичева, Н. Н. (2021). Функциональный обогащенный кисло-молочный 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>
 35. Ladnova, O. L., Bolshakova, L. S., Kuzina, A. V., Izvekova, E. V., Merkulova, E. G., Ashikhina, L. A. (February 26–29, 2020). *Development of technology of cottage cheese enriched with iodine and succinic acid*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: International Conference on Production and Processing of Agricultural Raw Materials. Voronezh, Russian Federation, 2020. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032016>
 36. Еримбетов, К. Т., Розиев, Р. А., Гончарова, А. Я., Земляной, Р. А. (2020). Йодказеин-устойчивый функциональный ингредиент для профилактики йодной недостаточности. *Хлебопродукты*, 10, 33–37. [Erimbetov, K.T., Roziev, R.A., Goncharova, A. Ya., Zemlyanoy, R. A. (2020). Iodine casein — stable functional ingredient for prevention of iodine deficiency. *Khleboprodukty*, 10, 33–37. (In Russian)]
 37. Никулин, А. В., Мартынов, Л. Ю., Габаева, Р. С., Лазов, М. А. (2024). Разработка новой инверсионно-вольтамперометрической методики определения неорганического йода в слоевищах ламинарии (*Laminariae thalli L.*) для контроля качества сырья в условиях заводских лабораторий. *Тонкие химические технологии*, 19(4), 372–383. [Nikulin, A. V., Martynov, L. Y., Gabaeva, R. S., Lazov, M. A. (2024). Development of a new inversion-voltammetric technique in determining inorganic iodine in *Laminariae thalli L.* for the quality control of raw materials in factory laboratories. *Fine Chemical Technologies*, 19(4), 372–383. (In Russian)] <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-4-372-383>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Дыдыкин Андрей Сергеевич — доктор технических наук, доцент, заведующий отделом функционального и специализированного питания, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26. Тел.: +7-495-676-95-11 (264) E-mail: a.didikin@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0208-4792</p>	<p>Andrey S. Dydykin — Doctor of Technical Sciences, Docent, Chief of the Department Functional and Specialized Nutrition, V. M. Gorbатов 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</p>
<p>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 E-mail: yu.zubarev@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6519-4553</p>	<p>Yuriy N. Zubarev — Deputy Director, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 E-mail: yu.zubarev@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6519-4553</p>
<p>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 (114) E-mail: e.logunova@fncps.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6631-6305 * автор для контактов</p>	<p>Evlaliya I. Logunova, Research Engineer of the Department Functional and Specialized Nutrition, V. M. Gorbатов 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</p>
<p>Самойлова Анастасия Михайловна — кандидат биологических наук, руководитель Научно-исследовательского испытательного центра, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл., Видное, Школьная ул., 78 Тел.: +7-495-541-08-92 E-mail: a.filippova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0003-7433-7116</p>	<p>Anastasiya M. Samoylova, PhD in Biology, Head of the Research and Testing Center, Research Institute of Canning Technology — branch of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of the RAS. 78, Shkol'naya str., Vidnoe, 142703, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-08-92 E-mail: a.filippova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0003-7433-7116</p>
<p>Калугина Зоя Ивановна — младший научный сотрудник Научно-исследовательского испытательного центра, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл., Видное, Школьная ул., 78 Тел.: +7-495-541-08-92 E-mail: z.kalugina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0007-9254-6009</p>	<p>Zoya I. Kalugina, Junior Researcher, Research and Testing Center, All-Russian Scientific Research Institute of Preservation Technology 78, Shkol'naya str., Vidnoe, 142703, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-08-92 E-mail: z.kalugina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0007-9254-6009</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>The author has the sole responsibility for writing the manuscript and is responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-585-589>

Received 31.07.2024
Accepted in revised 20.12.2024
Accepted for publication 24.12.2024
© Sanjeet K., Mishra S., 2024

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

BEHIND BARS: EVALUATING THE NUTRITIONAL LANDSCAPE — A REVIEW OF DIETARY PATTERNS PROVIDED IN CORRECTIONAL FACILITIES

Kuril Sanjeet*, Sunita Mishra

Department of Food and Nutrition, Babasaheb Bhimrao Ambedkar University, Lucknow, Uttar Pradesh, India

KEY WORDS:
*dietary pattern,
prisoner, nutrition,
well-being, food
quality, health*

ABSTRACT

The quality of nutrition in correctional facilities plays a crucial role in the health of incarcerated individuals. This review investigates dietary patterns within these institutions, examining their nutritional adequacy and compliance with established guidelines. The review aims to assess the nutritional content of meals provided in correctional settings and their impact on inmate health. A systematic literature review was conducted, analyzing studies that evaluate meal composition, adherence to nutritional standards, and associated health outcomes for inmates. Data was synthesized from diverse correctional facilities to highlight common trends and disparities. Findings reveal pervasive nutritional deficiencies across correctional facilities. Many meals lack adequate fresh fruits, vegetables, and whole grains, relying heavily on processed foods high in sodium and sugar. Such imbalances can lead to significant health issues, including obesity, hypertension, and metabolic disorders among the incarcerated population. The review also highlights disparities based on facility types, geographic locations, and budgetary constraints, which influence the nutritional quality of meals. Addressing the nutritional deficiencies in correctional facilities is imperative for improving inmate health and facilitating rehabilitation. Implementing comprehensive meal planning, increasing access to fresh produce, and ensuring adherence to nutritional standards can enhance the dietary landscape in these settings. Future research should focus on effective interventions and policies aimed at improving nutritional offerings to support the health and well-being of incarcerated individuals.

Поступила 31.07.2024
Поступила после рецензирования 20.12.2024
Принята в печать 24.12.2024
© Санджит К., Мишра С., 2024

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

В ЗАКЛЮЧЕНИИ: ОЦЕНКА РАЦИОНА — ОБЗОР РЕЖИМОВ ПИТАНИЯ В ИСПРАВИТЕЛЬНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ

Санджит К.*, Мишра С.

Факультет пищевых продуктов и нутрициологии, Университет Бабасахеба Бхимрао Амbedкара,
Лакхнау, Уттар-Прадеш, Индия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

*режим питания,
заключенный,
рацион, благополучие,
качество пищи,
здоровье*

Качество питания в исправительных учреждениях играет решающую роль в здоровье заключенных. В этом обзоре исследуются режимы питания в таких учреждениях, изучается их адекватность и соответствие установленным нормам. Целью обзора является оценка питательной ценности блюд, предоставляемых в исправительных учреждениях, и их влияние на здоровье заключенных. Был проведен систематический обзор литературы, в котором анализировались исследования, сосредоточенные на оценке состава пищи, соблюдении стандартов питания и связанных с этим результатах с точки зрения здоровья заключенных. Данные были получены из различных исправительных учреждений с целью определения общих тенденций и различий. Результаты демонстрируют частый дефицит питательных веществ в исправительных учреждениях. Во многих блюдах не хватает свежих фруктов, овощей и цельных злаков. В значительной степени они основаны на обработанных пищевых продуктах с высоким содержанием натрия и сахара. Такой дисбаланс может привести к серьезным проблемам со здоровьем, включая ожирение, гипертонию и нарушения обмена веществ среди. В обзоре также подчеркиваются различия, основанные на типах учреждений, географическом положении и бюджетных ограничениях, которые влияют на качество питания. Устранение дефицита питания в исправительных учреждениях является обязательным условием для улучшения здоровья заключенных и содействия реабилитации. Внедрение комплексного планирования питания, увеличение доступа к свежим продуктам и обеспечение соблюдения стандартов питания могут улучшить рационы в этих учреждениях. Будущие исследования должны будут сосредоточиться на эффективных мерах, направленных на улучшение питания для поддержки здоровья и благополучия заключенных.

1. Introduction

The state of nutrition within correctional facilities stands as a crucial yet frequently overlooked feature of the criminal justice system. As society grapples with the multifaceted challenges of incarceration, the dietary patterns offered behind bars emerge as a critical determinant of inmate health, rehabilitation, and overall well-being [1]. In the article [2], the authors state that nutrition quality is one of the main factors determining the risk of non-communicable diseases, and changing the diet is the first approach used in primary health care to reduce the disease incidence. Incarceration represents a unique intersection of public health, social justice, and human rights, wherein the provision of adequate nutrition assumes profound significance. The dietary choices available to

inmates are profoundly impactful, not only shaping their physical health but also influencing their psychological state, behavior, and prospects for successful reintegration into society post-release [3]. However, the prevailing narrative surrounding prison food often revolves around stereotypes and misconceptions, obscuring the nuanced realities of the nutritional landscape behind bars [4].

This review endeavors to delve beneath the surface, exploring the myriad factors that shape dietary patterns within correctional facilities. The tension between fiscal constraints and nutritional adequacy lies at the forefront of these considerations. Correctional institutions must navigate tight budgets and logistical challenges while striving to provide meals that meet basic nutritional requirements. This balancing act

FOR CITATION: Sanjeet, K., Mishra, S. (2024). Behind bars: Evaluating the nutritional landscape — A review of dietary patterns provided in correctional facilities. *Food Systems*, 7(4), 585–589. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-585-589>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Санджит, К., Мишра, С. (2024). В заключении: оценка рациона — обзор режимов питания в исправительных учреждениях. *Пищевые системы*, 7(4), 585–589. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-585-589>

between cost-effectiveness and health outcomes underscores the need for a nuanced understanding of the complexities inherent in prison food provisioning [5]. Institutional policies and practices play a significant role in shaping the nutritional landscape of correctional facilities. From menu planning and meal preparation to procurement and distribution, a myriad of decisions influences the quality, variety, and accessibility of food served to inmates. Cultural considerations further compound this dynamic, as diverse inmate populations bring unique dietary preferences, religious observances, and health needs to the table [6].

Beyond the confines of correctional facilities, the repercussions of inadequate nutrition reverberate through communities, exacerbating health disparities and perpetuating cycles of incarceration [7]. Individuals entering the criminal justice system often hail from marginalized backgrounds, where food insecurity, limited access to nutritious foods, and chronic health conditions are prevalent. Thus, the nutritional interventions implemented within correctional settings carry far-reaching implications, not only for inmates but for broader public health outcomes [8]. Against this backdrop, the present review endeavors to fill a critical gap in the literature, synthesizing existing research to provide a comprehensive assessment of dietary patterns within correctional facilities. By examining the intersection of policy, budgetary constraints, cultural considerations, and health outcomes, this review aims to elucidate the complexities of prison food provisioning and highlight avenues for improvement [9].

Ultimately, this review aspires to catalyze informed discourse and evidence-based interventions aimed at enhancing the nutritional landscape behind bars. By advocating for a holistic approach to correctional nutrition that prioritizes health, dignity, and rehabilitation, we endeavor to contribute to the promotion of equitable and humane practices within the criminal justice system [10]. Through concerted efforts to know the nutritional needs of incarcerated individuals, we may forge pathways towards healthier, more resilient communities and foster a system that upholds the inherent worth and dignity of all individuals, even those behind bars [11].

2. Objects and methods

The literature search strategy employed in this study involves utilizing multiple databases to gather relevant information on the dietary patterns, food systems, and lifestyle of prisoners. Table 1 outlines the specific keywords used for searching each database. ScienceDirect was searched using keywords such as “Dietary pattern of prisoners,” “Prisoners food system,” “Prisoners food,” and “Prisoners lifestyle and dietary pattern.” Similarly, the Cochrane Library was explored with terms like “Dietary pattern of prisoners,” “Prisoners lifestyle and dietary pattern,” “Prison Food system,” and “Prisoners Food.” The database Medicine was queried using identical keywords as ScienceDirect to ensure consistency in capturing relevant literature. Lastly, PubMed was searched with keywords such as “Prisoners’ lifestyle and dietary pattern,” “Prison Food system,” “Prisoners Food,” and “Dietary pattern of prisoners.” This comprehensive strategy ensures a thorough review of existing literature across multiple sources to support the research objectives effectively.

Table 1. Literature search strategy
Таблица 1. Стратегия поиска литературы

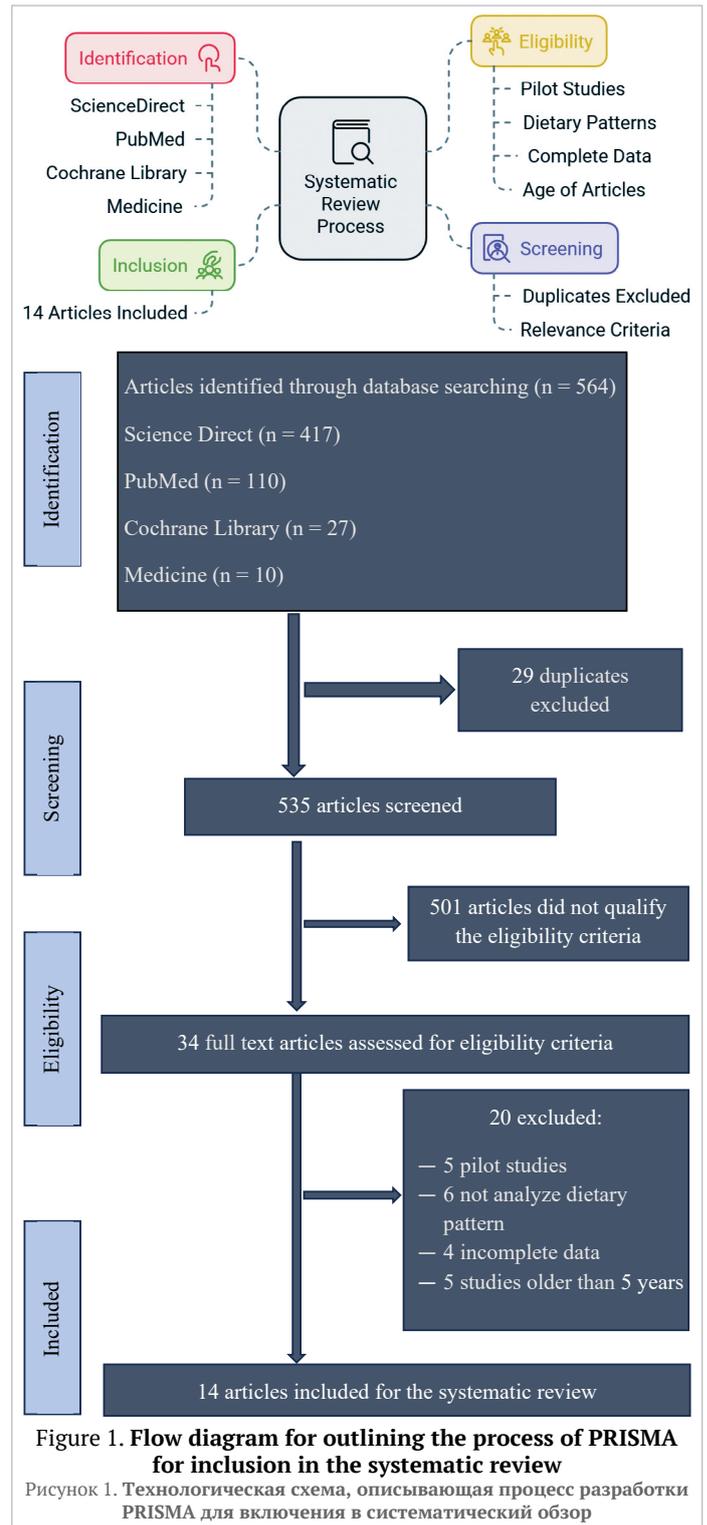
Database	Search keywords
ScienceDirect	Dietary pattern of prisoners + Prisoners food system+ Prisoners food+ Prisoners lifestyle and dietary pattern
Cochrane Library	Dietary pattern of prisoners+ Prisoners lifestyle and dietary pattern+ Prison Food system+ Prisoners Food
Medicine	Dietary pattern of prisoners+ Prisoners food system+ Prisoners food+ Prisoners lifestyle and dietary pattern
PubMed	Prisoners’ lifestyle and dietary pattern+ Prison Food system+ Prisoners Food+ Dietary pattern of prisoners

2.1. Selection criteria

This review includes articles that provide data on dietary pattern and lifestyle of prisoners during incarceration. The articles include those published over a period of last 5 years (2020–2024). The exclusion criteria for the selected article include incomplete and insufficient data on dietary pattern and lifestyle of prisoners and articles older than 5 years. The articles that have not been published or the articles of conferences were also covered by the exclusion criteria (Figure 1).

3. Importance of evaluating dietary patterns in correctional facilities

Behind bars, the food choices and preparation methods have a huge impact on the overall health and well-being of inmates. It is crucial to know whether these facilities offer healthful meals that suit the dietary requirements of the incarcerated population [12]. The analysis of dietary



patterns in correctional facilities allows us to assess the nutritional value and adequacy of meals provided to inmates. By analyzing the types of foods offered, portion sizes, and nutrient content, we can gain insights into the effectiveness of current practices [13]. This assessment is critical for identifying areas that require improvement and developing strategies ensuring improved health outcomes for inmates [14]. Table 2 clearly defines the importance of dietary pattern provided in prison.

4. Challenges and limitations of providing nutritious meals in correctional facilities

Providing nutritious meals in correctional facilities comes with their own set of challenges and limitations. One major challenge is the limited budget allocated for food services in prisons [15]. This often leads to cost-cutting measures that compromise the quality and variety of ingredients used in meal preparation. Additionally, logistical constraints such as storage limitations and security concerns can further hinder the ability to

Table 2. Importance of dietary pattern provided in prison

Таблица 2. Важность рациона питания в тюрьме

Importance	Description
Impact on Health	Evaluating dietary patterns in prisons is essential for understanding their effects on inmates' physical and mental health. Poor nutrition can lead to issues like disease and disorders.
Rehabilitation and Recidivism	Research indicates a link between diet quality and recidivism rates, underscoring the need for healthy food options to support successful reintegration.
Legal and Ethical Obligations	Correctional facilities must provide adequate nutrition to uphold inmates' human rights and dignity. Evaluating dietary patterns ensures compliance with legal and ethical standards for inmate welfare and treatment.
Cost Savings	Investing in nutritious meals can reduce long-term healthcare costs linked to diet-related diseases and enhance inmate well-being.
Public Health Impact	Evaluating prison dietary patterns offers insights into population health trends and informs of interventions for vulnerable groups, including incarcerated individuals.
Preventive Health Measures	Understanding dietary patterns helps identify risk factors for nutritional deficiencies, allowing for preventive measures like nutrition education, supplementation, or menu modifications to meet specific needs.
Quality of Life	Access to nutritious meals can improve inmates' quality of life by enhancing energy, mood, and satisfaction with living conditions.

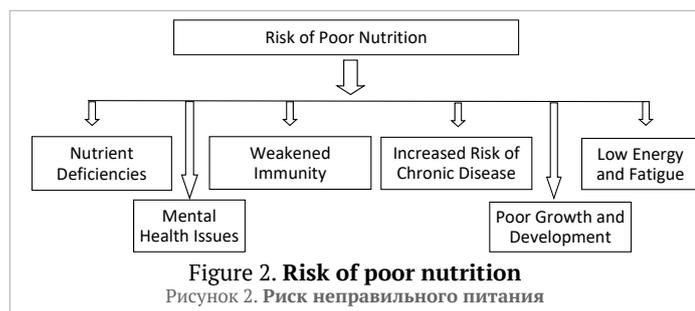
provide fresh and wholesome meals [16]. Another limitation is the diverse dietary needs and preferences of the inmate population. Some inmates may have specific medical conditions or cultural/religious dietary restrictions that need to be accommodated. Balancing these individual requirements with the need to provide a standardized menu can be a complex task for correctional facilities [17,18].

5. Common dietary patterns provided in correctional facilities

Let's now take a closer look at the common dietary patterns provided in correctional facilities. These patterns often revolve around cost-effective options that can be mass-produced and distributed efficiently. Unfortunately, this can result in meals that are high in processed foods, unhealthy fats, and empty calories [19,20]. One prevalent dietary pattern is the "cafeteria-style" approach, where inmates have the freedom to choose their own meals from a selection of options. While this may offer some level of autonomy, it can also lead to poor food choices and imbalanced diets. Another common pattern is the use of pre-packaged meals or "heat-and-serve" trays, which prioritize convenience over freshness and nutritional quality [21,22]. Furthermore, many correctional facilities rely heavily on carbohydrates to meet calorie requirements, often serving excessive amounts of refined grains and sugary desserts. This can contribute to weight gain, increased risk of chronic diseases, and poor overall health [23]. Dietary patterns in correctional facilities often reflect a balance between cost-efficiency and meeting basic nutritional needs. These patterns are influenced by budget constraints, logistical challenges, and regulatory requirements [24].

6. Impact of dietary patterns on inmate health and rehabilitation

The dietary patterns provided in correctional facilities have a direct impact on inmate health and rehabilitation. A diet lacking in essential nutrients can lead to various health issues, including vitamin deficiencies, weakened immune systems, and increased susceptibility to diseases [25]. Moreover, poor nutrition (Figure 2) can negatively affect an inmate's mental well-being and cognitive function. Research has shown that a diet high in processed foods and low in nutrients can contribute to mood disorders, decreased focus, and impaired decision-making abilities. These factors can hinder an inmate's ability to engage in rehabilitation programs and increase the risk of recidivism [26]. The dietary patterns in correctional facilities have a significant impact on inmate health and rehabilitation. Nutrition plays a crucial role in overall well-being and can influence various aspects of physical and mental health, as well as the success of rehabilitation efforts [27,28]. Here's a detailed exploration of these impact: Dietary patterns in correctional facilities have a profound impact on inmate health and rehabilitation. Addressing these patterns



through improved nutrition, education, and innovative programs can enhance physical health, support mental well-being, and facilitate successful rehabilitation and reintegration. By overcoming challenges and implementing effective solutions, facilities can contribute to better outcomes for inmates and support their journey towards reintegration into society [29,30].

On the other hand, implementing nutritious dietary patterns can have a positive impact on inmate health and well-being. A balanced diet can improve physical and mental health, enhance cognitive function, and boost energy levels. By providing inmates with the necessary nutrients, correctional facilities can contribute to their overall rehabilitation and successful reintegration into society [31,32].

7. Strategies for improving the nutritional landscape in correctional facilities

To improve the nutritional landscape in correctional facilities, several strategies can be implemented. Firstly, correctional facilities should prioritize increasing their food budgets to allow for the purchase of higher quality ingredients. This would enable the inclusion of fresh fruits and vegetables, lean proteins, and whole grains in meals, improving their nutritional profile [33]. In addition, collaboration with nutrition experts and dietitians can help develop menus that meet the specific dietary needs of inmates while adhering to health guidelines. These professionals can also provide education and counseling to inmates, promoting healthy eating habits and empowering them to make informed food choices [34]. Furthermore, implementing sustainable food production practices within correctional facilities, such as rooftop gardens or on-site farms, can enhance the availability of fresh produce and reduce reliance on processed foods. This not only improves the nutritional quality of meals but also promotes vocational training and valuable skills development among inmates [35,36]. Improving the nutritional landscape in correctional facilities involves implementing strategies that address budget constraints, logistical challenges, and nutritional deficiencies [37]. Here's a comprehensive overview of effective strategies for enhancing the nutritional quality of meals served in these facilities: Improving the nutritional landscape in correctional facilities requires a multifaceted approach that includes enhancing meal quality, managing costs, improving logistics, providing education and training, integrating health and wellness programs, fostering community partnerships, leveraging technology, and advocating for policy changes [38]. By addressing these areas, correctional facilities can make significant strides in providing healthier, more balanced meals that support the overall well-being and rehabilitation of inmates [39].

8. The role of education and training in promoting healthy eating in prisons

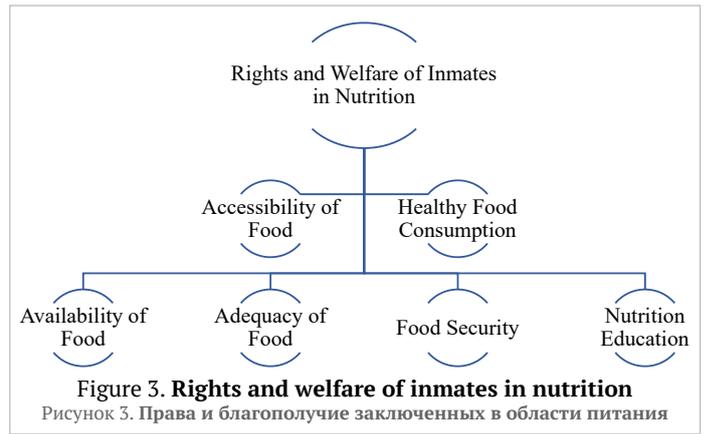
Education and training play an important role in promoting healthy eating habits in prisons. By providing inmates with nutrition education, they can develop a better information of the importance of a balanced diet and make informed choices about their food intake [40]. Incorporating cooking classes and vocational training programs within prison facilities can also be beneficial. These programs equip inmates with the knowledge and skills to prepare healthy meals, empowering them to make healthier choices both during their incarceration and upon release [41]. Furthermore, education on portion control and mindful eating can help inmates develop healthier relationships with food and avoid over-eating. By promoting self-awareness and encouraging moderation, correctional facilities can contribute to the long-term health and well-being of inmates [42]. Education and training play a critical role in promoting

healthy eating in correctional facilities. By enhancing knowledge and skills among both inmates and staff, facilities can foster healthier dietary habits, improve overall well-being, and support rehabilitation efforts [43]. Education and training are pivotal in promoting healthy eating in correctional facilities. By providing inmates with knowledge about nutrition, practical cooking skills, and behavioral strategies, and by training food service staff in healthy meal preparation and food safety, facilities can enhance the nutritional quality of meals and support inmates' health and rehabilitation [44]. Implementing comprehensive education programs, fostering a supportive environment, and evaluating the effectiveness of these initiatives are essential steps toward achieving lasting improvements in dietary habits within correctional settings [45].

9. Advocacy and policy recommendations for improving nutrition in correctional facilities

Advocacy and policy efforts are essential for driving significant change in the nutritional landscape of correctional facilities. Organizations and individuals can work together to raise awareness about the importance of nutritious meals in prisons and advocate for increased funding and resources for food services [46].

Policy recommendations should focus on improving the nutritional standards and guidelines for correctional facilities. These standards should align with national health guidelines and prioritize the provision of fresh, wholesome foods. Additionally, policies can promote transparency and accountability (Figure 3) in the food procurement and preparation processes, ensuring that inmates obtain meals that satisfy their dietary needs [47]. Advocacy and policy recommendations are essential for improving nutrition in correctional facilities. Effective advocacy and well-designed policies can lead to systemic changes that enhance the quality of food, support inmate health, and promote rehabilitation [48]. Advocacy and policy recommendations play a crucial role in improving nutrition in correctional facilities. By raising awareness, building coalitions, advocating for legislative changes, and implementing comprehensive policies, stakeholders can drive systemic improvements in meal quality and inmate health. Effective advocacy and well-designed policies not only enhance the nutritional landscape of correctional facilities but also support broader goals of health, rehabilitation, and successful reintegration [49].



Collaboration with policymakers, health professionals, and community organizations is critical for executing effective changes and ensuring the long-term success of nutrition programs in correctional facilities [50].

10. Conclusion

The evaluation of dietary patterns in correctional facilities is essential for assessing the nutritional landscape behind bars. By understanding the challenges and limitations faced in providing nutritious meals, we can identify strategies to improve the health and well-being of inmates. Through the review of common dietary patterns, we have seen the impact they can have on inmate health and rehabilitation. However, with the implementation of effective strategies, such as increasing food budgets, promoting education and training, and advocating for policy changes, we can create a healthier nutritional landscape in correctional facilities. It is crucial to recognize that ongoing evaluation and improvement are necessary to ensure that correctional facility food services meet the dietary needs of inmates and contribute to their successful rehabilitation and reintegration into society. By prioritizing nutrition, we can create a system that not only supports inmate health but also promotes positive behavioral changes and reduces recidivism rates.

REFERENCES

- Fakhry, Y. (2022). A review of health and nutrition in prisons: A challenge between human rights conventions, nutrition guidelines and health policies. *Crossing Conceptual Boundaries*, 12(1), 36–53. <https://doi.org/10.15123/ucl.8v200>
- Vetrani, C., Verde, L., Ambretti, A., Muscogiuri, G., Pagano, A. M., Lucania, L. et al. (2024). Nutritional interventions in prison settings: A scoping review. *Nutrition Reviews*, 83(2), 397–404. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuae011> (Online ahead of print)
- Hannan-Jones, M., Capra, S. (2016). What do prisoners eat? Nutrient intakes and food practices in a high-secure prison. *British Journal of Nutrition*, 115(8), 1387–1396. <https://doi.org/10.1017/s000711451600026x>
- Camplin, E. (2016). *Prison food in America*. Rowman and Littlefield. Publishers, 2016.
- Cook, E. A., Lee, Y. M., White, B. D., Gropper, S. S. (2015). The diet of inmates: An analysis of a 28-day cycle menu used in a large county jail in the state of Georgia. *Journal of Correctional Health Care*, 21(4), 390–399. <https://doi.org/10.1177/1078345815600160>
- Hattori, T. Y., de Oliveira Silva, E., do Nascimento, V. F., Atanaka, M., Trettel, A. C. P. T. (2020). Risk factors influencing food habits of overweight and obese incarcerated women. *ABCS Health Sciences*, 45, Article e020020. <https://doi.org/10.7322/abcshs.45.2020.1366>
- Wondimu, M., Siyoum, A., Ketema, I., Goshu, A. T., Habte, S., Mehadi, A. et al. (2023). Undernutrition and associated factors among adult prisoners in Fiche town, central Ethiopia: A facility-based cross-sectional study. *Frontiers in Nutrition*, 10, Article 1144654. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1144654>
- Chan, A., Nathanson, A. (2020). "Not for human consumption": Prison food's absent regulation regime. *William and Mary Bill of Rights Journal*, 29(4), Article 3.
- Vanhouche, A. S. (2022). Prison food: Philosophy and practice. Chapter in a book: *Prison Food*. Palgrave Studies in Prisons and Penology. Palgrave Macmillan, Cham, 2022. http://doi.org/10.1007/978-3-030-96125-1_7
- Qadir, M., Murad, R., Qadir, A., Mubeen, S. M. (2017). Prisoners in Karachi-A health and nutritional perspective. *Annals Abbasi Shaheed Hospital and Karachi Medical and Dental College*, 19(2), 67–72.
- Wouk, K., Piggott, J., Towner Wright, S., Palmquist, A. E., Knittel, A. (2022). Lactation support for people who are incarcerated: A systematic review. *Breastfeeding Medicine*, 17(11), 891–925. <https://doi.org/10.1089/bfm.2022.0138>
- Stott, G. N. (2020). *Design and Implementation of a Nutrition Education Program at the Stafford County Department of Corrections*. Undergraduate Research Conference (URC) Student Presentations. University of New Hampshire, Durham, 2020.
- Thomas, A. (2022). Developing an evidence-based nutrition curriculum for correctional settings. *Journal of Correctional Health Care*, 28(2), 117–128. <https://doi.org/10.1089/jchc.20.04.0028>
- Slingerland, I. (2023). Keep it fresh: Improving access to fresh produce in New York State Correctional Facilities — A pilot program at sing sing correctional facility (Doctoral dissertation, Mailman School of Public Health, Columbia University). <https://doi.org/10.7916/jmq-wq58>
- Smoyer, A. B. (2019). Food in correctional facilities: A scoping review. *Appetite*, 141, Article 104312. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2019.06.004>
- O'Conner-Von, S., Shlafer, R., Galchutt, P., Kettering, S., Bouterse, A., Freese, R. et al. (2024). A Survey of state correctional health care providers on advance care planning: Opportunity for collaboration with corrections. *American Journal of Hospice and Palliative Medicine*, 41(9), 1051–1057. <https://doi.org/10.1177/10499091241226638>
- Thoms, U. (2020). The technopolitics of food: The case of German prison food from the late eighteenth to the early twentieth centuries. *Osiris*, 35(1), 162–182. <http://doi.org/10.1086/709895>
- Bangura, S. A. (2022). *Food Availability and Sanitation Conditions in Pademba Road Prisons, a Case Study*. Walden University, 2022.
- Shlafer, R. J., Hardeman, R. R., Carlson, E. A. (2019). Reproductive justice for incarcerated mothers and advocacy for their infants and young children. *Infant Mental Health Journal*, 40(5), 725–741. <https://doi.org/10.1002/imhj.21810>
- Wanyama, S. (2021). *Nutritional status and associated factors among inmates at Fort Portal prison Kabarole district, Uganda* (Doctoral dissertation, Makerere University). Retrieved from <http://hdl.handle.net/10570/8903> Accessed May 21, 2024
- McKeithen, W. (2020). *Life in prison: Biopolitics, ill-being, and the neoliberal penitentiary* (Doctoral dissertation). Retrieved from <http://hdl.handle.net/1773/45503> Accessed May 21, 2024
- Douds, A. S., Ahlin, E. M., Fiori, N. S., Barrish, N. J. (2020). Why prison dental care matters: Legal, policy, and practical concerns. *Annals of Health Law and Life Sciences: The Health Policy and Law Review of Loyola University Chicago School of Law*, 29(2), 101–126.
- Kochajda, M. A. (2019). *An Evidence-Based Toolkit for Early Identification of Frail Inmates*. Grand Valley State University, 2019.
- Marieke, T. (2017). *Nutrition related health status and associated factors in juvenile male and female on remand detainees at entry into Pollsmoor correctional service facility in the Western Cape*. (Doctoral dissertation). <https://doi.org/10.25375/uct.8229557.v1>
- Nowicki, G. J., Polak, M., Ślusarska, B., Czernecki, K. (2023). The relationship between diet and the occurrence of depressive symptoms in a community example with high rates of social deprivation: A cross-sectional study. *Nutrients*, 15(17), Article 3778. <https://doi.org/10.3390/nu15173778>
- Kraak, V. I. (2022). *Perspective: Unpacking the wicked challenges for alternative proteins in the United States: Can highly processed plant-based and cell-*

- cultured food and beverage products support healthy and sustainable diets and food systems? *Advances in Nutrition*, 15(1), 38–47. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab115>
27. Choudhry, K., Armstrong, D., Dregan, A. (2019). Prisons and embodiment: Self-management strategies of an incarcerated population. *Journal of Correctional Health Care*, 25(4), 358–350. <http://doi.org/10.1177/1078345819880240>
 28. Reese, A. M., Sbicca, J. (2022). Food and carcerality: From confinement to abolition. *Food and Foodways*, 30(1–2), 1–15. <https://doi.org/10.1080/07409710.2022.2030931>
 29. Kendig, N. E., Butkus, R., Mathew, S., Hilden, D., Mathew, S., Hilden, D. (2022). Health care during incarceration: A policy position paper from the American College of Physicians. *Annals of Internal Medicine*, 175(12), 1742–1745. <https://doi.org/10.7326/m22-2370>
 30. De Coninck, G., Okenge Ngongo, L., Ilunga Ilunga, F., Albert, A., Giet, D. (2020). Nutritional status of inmates in the central prison of Mbuji-Mayi, Democratic Republic of Congo. Retrieved from <https://hdl.handle.net/2268/250719> Accessed June 06, 2024
 31. Robinson-Doyle, L. (2021, October). *Food Justice for Incarcerated Populations*. APHA 2021 Annual Meeting and Expo. Retrieved from https://apha.confex.com/apha/2021/meetingapi.cgi/Session/63818?filename=2021_Session63818.html&template=Word Accessed June 06, 2024
 32. Topp, S. M., Moonga, C. N., Luo, N., Kaingu, M., Chileshe, C., Magwende, G. et al. (2017). Mapping the Zambian prison health system: An analysis of key structural determinants. *Global Public Health*, 12(7), 858–875. <https://doi.org/10.1080/17441692.2016.1202298>
 33. Wilson, A. (2023). Unpacking the prison food paradox: Formerly incarcerated individuals' experience of food within federal prisons in Canada. *Studies in Social Justice*, 17(2), 280–305. <https://doi.org/10.26522/ssj.v17i2.4028>
 34. Wangmo, T., Handtke, V., Bretschneider, W., Elger, B. S. (2018). Improving the health of older prisoners: Nutrition and exercise in correctional institutions. *Journal of Correctional Health Care*, 24(4), 352–364. <https://doi.org/10.1177/1078345818793121>
 35. Schlafer, R. J., Gerrity, E., Norris, C., Freeman-Cook, R., Sufrin, C. B. (2022). Justice for incarcerated moms act of 2021: Reflections and recommendations. *Women's Health*, 18, Article 17455057221093037. <https://doi.org/10.1177/17455057221093037>
 36. Maes, E., Vanhouche, A. -S., Scholliers, P., Beyens, K. (2017). A vehicle of punishment? Prison diets in Belgium circa 1900. *Food, Culture and Society*, 20(1), 77–100. <https://doi.org/10.1080/15528014.2016.1272203>
 37. Waliczek, T.M., Zajicek, J.M. (2021). Prison horticulture. Chapter in a book: *Urban horticulture*. CRC Press, 2021
 38. Shavit, S., Aminawung, J. A., Birnbaum, N., Greenberg, S., Berthold, T., Fishman, A. et al. (2017). Transitions clinic network: Challenges and lessons in primary care for people released from prison. *Health Affairs*, 36(6), 1006–1015. <https://doi.org/10.1377/hlthaff.2017.0089>
 39. Everhardt, S. L., Jauk-Ajamie, D., Carmody, S. B., Gill, B. I. (2024). History of Food Justice in the USA and the Rockpile Program as a Food Justice Initiative. Chapter in a book: *Gardening Behind Bars: Clinical Sociology and Food Justice in Incarcerated Settings*. Springer, Cham, 2024. https://doi.org/10.1007/978-3-031-49685-1_2
 40. Tadesse, A. D., Anto, T. G., Birhanu, M. Y., Agedew, E., Yimer, B., Abejie, A. N. (2023). Prevalence of undernutrition and its associated factors among older adults using mini nutritional assessment tool in Womberma district, West Gojjam Zone, Amhara Region, North West Ethiopia, 2020. *PLoS ONE*, 18(2), Article e0274557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274557>
 41. Turney, K., Wildeman, C. (2015). Detrimental for some? Heterogeneous effects of maternal incarceration on child wellbeing. *Criminology and Public Policy*, 14(1), 125–156. <https://doi.org/10.1111/1745-9133.12109>
 42. LeBlanc, C. P., Johnson, C., Goguen, P., Gagnon, S. (2024). The nutritional content of food in carceral institutions: A systematic review of quantitative studies. *Journal of Correctional Health Care*, 30(5), 302–310. <https://doi.org/10.1089/jchc.23.10.0087>
 43. Elger, B. S. (2017). A balanced diet—from facts to solutions. Chapter in a book: *Emerging Issues in Prison Health*. Springer, Dordrecht, 2017. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7558-8_7
 44. Smoyer, A. B., Minke, L. K. (2016). Food systems in correctional settings: A literature review and case study. World Health Organization. Regional Office for Europe, 2016.
 45. Davison, K. M., D'Andreamatteo, C., Smye, V. L. (2019). Medical nutrition therapy in Canadian federal correctional facilities. *BMC Health Services Research*, 19, Article 89. <https://doi.org/10.1186/s12913-019-3926-3>
 46. Rosewarne, E. (2023). Evaluations of nutrition policy and advocacy to improve the food environment in Australia (Doctoral dissertation, UNSW Sydney). <https://doi.org/10.26190/unsworks/24630>
 47. Francis, J., Mildon, A., Stewart, S., Underhill, B., Ismail, S., Di Ruggiero, E. et al. (2021). Breastfeeding rates are high in a prenatal community support program targeting vulnerable women and offering enhanced postnatal lactation support: A prospective cohort study. *International Journal for Equity in Health*, 20, Article 71. <https://doi.org/10.1186/s12939-021-01386-6>
 48. Hinck, E. A., Hinck, S. S., Howell, A. (2019). Toward achieving the unthinkable: Transforming conversations about criminalized others through service-learning in correctional facilities. *Review of Communication*, 19(1), 19–37. <https://doi.org/10.1080/15358593.2018.1554822>
 49. Stott, G. N. (2020). *Design and implementation of a nutrition education program at the Strafford County department of corrections*. Undergraduate Research Conference (URC) Student Presentations. Retrieved from https://scholars.unh.edu/urc/458/?utm_source=scholars.unh.edu%2Furc%2F458&utm_medium=PDF&utm_campaign=PDFCoverPages Accessed June 06, 2024
 50. Andvig, E., Koffeld-Hamidane, S., Ausland, L. H., Karlsson, B. (2021). Inmates' perceptions and experiences of how they were prepared for release from a Norwegian open prison. *Nordic Journal of Criminology*, 22(2), 203–220. <https://doi.org/10.1080/2578983X.2020.1847954>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Kuril Sanjeet , Ph.D., Research scholar, Department of Food and Nutrition, Babasaheb Bhimrao Ambedkar University, Vidya Vihar, Raebareli Road, Lucknow — 226025, Uttar Pradesh, India Tel.: +91-702-184-68-29 E-mail: sanjeetkuril876@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6749-088X	Санджит Курил — Научный сотрудник, факультет пищевых продуктов и нутрициологии, Университет Бабаसाхеба Бхимрао Амбедкара 226025, Индия, Уттар-Прадеш, Лакхнау, Видья Вихар, дорога Рабарели Тел.: +91-702-184-68-29 E-mail: sanjeetkuril876@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6749-088X
Sunita Mishra , Professor, Department of Food and Nutrition, Babasaheb Bhimrao Ambedkar University, Vidya Vihar, Raebareli Road, Lucknow — 226025, Uttar Pradesh, India Tel.: +91-941-522-88-11 E-mail: sunitabbau@gmail.com ORCID: https://orcid.org/000-0004-7807-9959 * corresponding author	Мишра Сунито — профессор, факультет пищевых продуктов и нутрициологии, Университет Бабаसाхеба Бхимрао Амбедкара 226025, Индия, Уттар-Прадеш, Лакхнау, Видья Вихар, дорога Рабарели Тел.: +91-941-522-88-11 E-mail: sunitabbau@gmail.com ORCID: https://orcid.org/000-0004-7807-9959 * автор для контактов
Contribution	Критерии авторства
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-590-597>

Поступила 07.11.2024

Поступила после рецензирования 18.12.2024

Принята в печать 23.12.2024

© Свириденко Г. М., Захарова М. Б., Топникова Е. В., 2024

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ, СВЯЗАННЫХ СО СПОРОВОЙ МИКРОФЛОРОЙ, НА КАЧЕСТВО И ХРАНИМОСПОСОБНОСТЬ СЛИВОЧНОГО МАСЛА РАЗНЫХ СПОСОБОВ ПРОИЗВОДСТВА

Свириденко Г. М., Захарова М. Б.*, Топникова Е. В.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

сливочное масло,
хранимospособность,
тест-культура,
спорovые
микроорганизмы,
сбивание сливок,
преобразование
высокожирных сливок

В статье представлены результаты исследований влияния споровых бактерий на качество и хранимospособность сливочного масла в зависимости от способа его изготовления — сбиванием сливок (СС) или преобразованием высокожирных сливок (ПВЖС). При проведении исследований использовался имитационный подход, включающий следующие этапы: снижение микробной обсемененности сливок-сырья и их контаминация тест-культурой споровых микроорганизмов; изготовление масла по существующим технологическим схемам; контроль за развитием тест-культуры на стадиях изготовления и хранения сливочного масла. Объектами исследования служили: сливки до и после пастеризации; сливки пастеризованные, обсемененные тест-культурой *Bacillus subtilis*; сливочное масло, изготовленное способом СС и ПВЖС из контаминированных сливок. Хранение образцов масла осуществляли при температурных режимах $3 \pm 2^\circ\text{C}$, $10 \pm 1^\circ\text{C}$ и $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Оценку качества и хранимospособности сливочного масла проводили с учетом значимых критериев забраковки, отражающих требования документов по стандартизации. Для этого стандартизованными методами определяли микробиологические и физико-химические показатели, в том числе содержание вегетативных клеток и споровых форм тест-культуры *Bacillus subtilis*, кислотность молочной плазмы, показатели окислительной порчи жировой фазы. Органолептические показатели оценивали по вкусу, запаху, консистенции и внешнему виду. В результате проведенных исследований установлено, что при изготовлении и хранении масла наибольшие микробиологические риски, связанные со споровыми бактериями рода *Bacillus* и приводящие к снижению его качества и хранимospособности, наблюдаются при изготовлении методом сбивания, что обусловлено технологическими особенностями производства (продолжительность процессов, температурные режимы. При изготовлении масла методом ПВЖС риски, связанные со споровыми аэробными микроорганизмами, менее значимы. Это обеспечивает длительное сохранение исходных показателей безопасности и качества масла при регламентированной температуре $3 \pm 2^\circ\text{C}$, а также более высокую хранимospособность при повышенных температурных режимах хранения в сравнении с маслом, изготовленным методом сбивания.

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 07.11.2024

Accepted in revised 18.12.2024

Accepted for publication 23.12.2024

© Sviridenko G. M., Zakharova M. B., Topnikova E. V., 2024

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

Original scientific article

Open access

INFLUENCE OF MICROBIOLOGICAL RISKS ASSOCIATED WITH SPORE-FORMING MICROFLORA ON THE QUALITY AND STORABILITY OF BUTTER FROM DIFFERENT PRODUCTION METHODS

Galina M. Sviridenko, Marina B. Zakharova*, Elena V. Topnikova

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

KEY WORDS:

butter, storability, test
culture, spore-forming
microorganisms, cream
churning, high-fat
cream conversion

ABSTRACT

The article presents the results of studies of the effect of spore-forming bacteria on the quality and storability of butter depending on the method of its production — cream churning (CC) or high-fat cream transformation (HFCT). A simulation approach was used in conducting the research, including the following stages: reduction of microbial contamination of raw cream and its contamination with a test culture of spore-forming microorganisms; production of butter according to existing technological schemes; control over the development of the test culture at the stages of production and storage of butter. The objects of the study were: cream before and after pasteurization; pasteurized cream contaminated with a test culture of *Bacillus subtilis*; butter made by CC and HFCT from contaminated cream. Storage of butter samples was carried out at temperatures of $3 \pm 2^\circ\text{C}$, $10 \pm 1^\circ\text{C}$ and $25 \pm 1^\circ\text{C}$. The quality and storability of butter were assessed taking into account significant rejection criteria reflecting the requirements of standardization documents. For this purpose, microbiological and physicochemical indicators were determined using standardized methods, including the content of vegetative cells and spore forms of the *Bacillus subtilis* test culture, milk plasma acidity, and indicators of oxidative spoilage of the fat phase. Organoleptic indicators were assessed by taste, smell, consistency, and appearance. As a result of the studies, it was established that during the production and storage of butter, the greatest microbiological risks associated with spore-forming bacteria of the genus *Bacillus* and leading to a decrease in its quality and storability were observed during production by the churning method, which is due to the technological features of production (duration of processes, temperature conditions). When producing butter using the HFCT method, the risks associated with spore-forming aerobic microorganisms were less significant. This ensures long-term preservation of the initial safety and quality indicators of butter at a regulated

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Свириденко, Г. М., Захарова М. Б., Топникова Е. В. (2024). Влияние микробиологических рисков, связанных со споровой микрофлорой, на качество и хранимospособность сливочного масла разных способов производства. *Пищевые системы*, 7(4), 590–597. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-590-597>

FOR CITATION: Sviridenko, G. M., Zakharova, M. B., Topnikova, E. V. (2024). Influence of microbiological risks associated with spore-forming microflora on the quality and storability of butter from different production methods. *Food Systems*, 7(4), 590–597. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-590-597>

temperature of 3 ± 2 °C, as well as higher storability at elevated storage temperatures in comparison with butter produced using the churning method.

FUNDING: The article was prepared as part of research under state assignment No. FGUS-2024-0008 of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences.

1. Введение

Сливочное масло, благодаря его приятным вкусовым характеристикам и хорошей сочетаемости с другими компонентами пищи, является широко потребляемым во всем мире продуктом питания, используемым в рационах разных групп населения [1,2]. Оно содержит ряд важных для организма макро- и микронутриентов, включая жирные кислоты, жирорастворимые витамины, минеральные компоненты и фосфолипиды, что позволяет считать сливочное масло полезным пищевым продуктом [3,4]. Его производство, изначально возникшее как способ консервирования молочного жира, сегодня рассматривается большинством молокоперерабатывающих предприятий как важное направление их деятельности. Сливочное масло обладает длительными сроками годности, благодаря чему относится к стратегически значимым продуктам, обеспечивающим продовольственную безопасность. Для соответствия своему назначению сливочное масло должно иметь необходимые качественные характеристики, а также соответствовать требованиям безопасности, в первую очередь по микробиологическим показателям.

Как концентрированный жировой продукт, характеризующейся низким содержанием влаги и питательных веществ, сливочное масло не является благоприятной средой для развития микроорганизмов. В то же время риски порчи, связанные с микрофлорой, сохраняются и зависят от структуры масла, от распределения жировых и нежировых компонентов, от дисперсности молочной плазмы и от доступности ее компонентов для остаточной микрофлоры [5,6,7,8]. В этой связи немаловажным фактором стабильности качества готового продукта является строгое соблюдение температурных режимов в цепочке поставок сливочного масла конечному потребителю.

Порча сливочного масла в процессе хранения может быть связана с изменениями жировой фазы и молочной плазмы. Интенсивность порчи предопределяется качеством исходного продукта и условиями его хранения. В случае нарушений режимов хранения остаточная микрофлора масла способна развиваться в плазме и провоцировать образование метаболитов, непосредственно участвующих в формировании пороков вкуса, запаха и внешнего вида [1,9]. Причем чем больше размер капель плазмы в масле, тем более благоприятные условия для развития остаточной микрофлоры могут создаваться в процессе хранения продукта.

Стандартом на сливочное масло ГОСТ 32261-2013¹ предусмотрены регулируемые и контролируемые параметры холодильного хранения при низких плюсовых и минусовых температурах. Однако, несмотря на низкотемпературные режимы хранения, некоторые виды остаточной микрофлоры могут проявлять метаболическую активность, вызывая порчу, ухудшение качества, снижение хранимостепособности и сроков годности готового продукта. Микробиологические риски снижения качества или порчи масла в первую очередь обусловлены видовым составом микрофлоры и количественным ее содержанием в сырье и готовом продукте [10,11]. Во многих научных публикациях, посвященных оценке качества и хранимостепособности сливочного масла различного состава, включая новые виды, отмечается важность комплексного анализа рисков. Такой анализ учитывает микробиологические и биохимические риски сырьевого и технологического характера, которые могут привести к изменению физико-химических и органолептических свойств продукта [5,12–16].

В сливочном масле традиционных видов, получаемом из пастеризованных сливок коровьего молока, качественный состав и исходный уровень микрофлоры готового продукта во многом определяется технологическими режимами и приемами, конструктивными особенностями используемого оборудования, т. е. зависит от метода производства сливочного масла.

Для многих стран распространенным способом производства сливочного масла является метод сбивания сливок (СС), основанный на сбивании пастеризованных сливок, подвергнутых физическому созреванию, в маслоизготовителях периодического или непрерывного действия с последующим удалением пахты и формованием пласта масла из отдельных масляных зерен. Продолжительность

процессов при изготовлении масла методом СС достигает 20–24 ч с преобладанием температуры ниже точки плавления молочного жира — от 5 °C до 20 °C [3,17]. Значимыми этапами технологического процесса с точки зрения микробиологической чистоты готового продукта являются созревание сливок и этап сбивания в аппаратах периодического действия. Эти этапы связаны с возможной реактивацией клеток после термошока и дополнительным обсеменением сливок посторонней микрофлорой. Источниками вторичного обсеменения посторонней микрофлорой могут быть внутренняя поверхность маслоизготовителя, пахта или вода, используемые для нормализации сливок или промывки масляного зерна, а также воздушная среда. При данном способе производства масла капли молочной плазмы имеют более крупный размер [18], что делает питательные вещества в них более доступными для остаточной микрофлоры сливочного масла. Кроме того, выработанное этим способом сливочное масло содержит больше воздуха, что может повлиять на развитие микрофлоры и ускорить процессы окислительной порчи.

В Российской Федерации разработан и широко применяется способ производства сливочного масла методом преобразования высокожирных сливок (ПВЖС), предусматривающий получение высокожирных сливок из пастеризованных и их дальнейшее обращение в готовый продукт за счет интенсивного термомеханического воздействия в зоне массовой кристаллизации жира в специальных аппаратах — маслообразователях непрерывного действия [17]. При изготовлении масла методом ПВЖС риски развития микрофлоры менее значимы, что связано с более коротким технологическим процессом (примерно в 3 раза быстрее, чем при методе СС) и более высокими температурами (65–95 °C), используемыми на стадии получения высокожирных сливок. Кроме того, это объясняется более высокой дисперсностью молочной плазмы и минимальным содержанием газовой фазы, что способствует лучшей устойчивости готового продукта при хранении [5,18].

При производстве продуктов маслodelия для снижения активности нативных ферментных систем молока применяются режимы пастеризации сливок при температуре выше 85 °C. Это не только способствует формированию выраженного вкуса и запаха продукта, но и уничтожает большинство бактерий, существенно снижая микробиологические риски, которые могут привести к потере качества и хранимостепособности готового продукта [1,18–20]. Использование высокотемпературной пастеризации сливок при производстве продуктов маслodelия позволяет значительно понизить уровень бактериальной обсемененности сливок-сырья. Основную остаточную микрофлору сливок, прошедших высокотемпературную пастеризацию, а также микрофлору свежесывороточного масла составляют споровые микроорганизмы преимущественно рода *Bacillus*. Данная группа микроорганизмов широко распространена в окружающей среде: в почве, в пыли, в травах и сухих кормах, в водной и воздушной среде [21,22]. Они регулярно выделяются из пищевых продуктов, прошедших термическую обработку, включая пастеризованные молочные продукты, в том числе сливочное масло, и являются общепризнанной микрофлорой порчи [23–28].

В статье Odeyemi et al. порча пищевых продуктов характеризуется как «изменение качества пищевых продуктов, которое делает их нежелательными и непригодными для потребления, как людьми, так и животными, из-за таких показателей порчи, как неприятный запах и изменения текстуры и внешнего вида» [29].

Развитие спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus* может в значительной степени повлиять не только на показатели качества, но и на безопасность молочных продуктов за счет продуцирования отдельными видами бацилл токсинов, вызывающих пищевые отравления [22]. Преимущественным источником данной группы микроорганизмов применительно к молочной продукции является сырое молоко. Количество спорных форм в 1 см³ молока варьируется в зависимости от условий содержания животных, вида корма, санитарных условий на ферме, времени года и местонахождения. Оно может изменяться от единичных клеток, как указано в литературе [30], до 10⁴ КОЕ/см³ [29,31].

Высокое исходное содержание спорной микрофлоры увеличивает риски снижения качества готовой продукции, особенно при длительном хранении сливочного масла. Развитие и дополнительное

¹ ГОСТ 32261-2013 «Масло сливочное. Технические условия» — Москва: Стандартинформ, 2019. — 20 с.

обсеменение микроорганизмами рода *Bacillus* возможно на всех этапах — от молока-сырья до готового продукта. Это обусловлено наличием психротрофных видов рода *Bacillus* в сыром молоке [30], селективным выделением термостойких термофильных представителей на этапе тепловой обработки, проявлением адгезии к нержавеющей стали и образованием моно- и смешанных биопленок на оборудовании, которые являются дополнительным источником обсеменения при не эффективной мойке и дезинфекции используемого оборудования [32,33].

Отличительными характеристиками группы споровых микроорганизмов, имеющими важное значение для продуктов маслоделия, являются:

- наличие споровых форм, обеспечивающих устойчивость к высоким температурным режимам обработки сливок при изготовлении масла и возможность прорастания спор и развития при наступлении благоприятных условий в процессе хранения и реализации;
- широкий температурный интервал роста отдельных представителей, включая 3–20 °С для *B. megaterium* и 65–75 °С для *B. stearothermophilus* [34,35], что создает предпосылки для проявления метаболической активности на разных этапах изготовления и хранения масла;
- наличие сильных протеолитических и липолитических систем, которые за период хранения в зависимости от температурных режимов могут привести к появлению таких вкусовых пороков, как горький, прогорклый, окисленный, неспецифический [26,35,36].

Таким образом, с учетом применяемых технологических режимов и способов производства масла прогнозируемо наличие в нем споровых аэробных микроорганизмов, способных оказать влияние на качество и хранимостепособность продукта. Изучение степени этого влияния имеет как научное, так и практическое значение. В связи с этим целью исследований было проведение сравнительных испытаний влияния способа производства сливочного масла на уровень микробиологических рисков, связанных со споровыми аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами рода *Bacillus*.

2. Материалы и методы

Для оценки влияния споровых микроорганизмов на качество и хранимостепособность сливочного масла в зависимости от метода его изготовления применяли имитационные методы исследования. Методология выполнения заключалась в максимальном снижении микробной обсемененности сливок-сырья путем термической обработки; контаминации сливок тест-культурой споровых микроорганизмов; изготовлении масла по существующим технологическим схемам; осуществлении контроля за развитием тест-культуры на стадиях изготовления и хранения сливочного масла.

Применение направленной контаминации сырья или готовых пищевых продуктов отдельными группами микроорганизмов широко используется в научных исследованиях для выявления закономерностей их развития в процессе производства и хранения продуктов (мясо, рыба, овощная и др. пищевая продукция), поскольку является хорошей доказательной базой полученных результатов [37,38].

При выполнении исследований объектами служили сливки массовой долей жира 40±2% — сырые, пастеризованные, пастеризованные с обсеменением тест-культурой споровых микроорганизмов, в т. ч. после их созревания, высокожирные сливки (ВЖС), а также образцы сливочного масла, полученные из контаминированных сливок способом ПВЖС и периодическим сбиванием в экспериментальном маслодельном цехе ВНИИМС.

В качестве тест-культуры для оценки микробиологических рисков использовали культуру споровых аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов *Bacillus subtilis* В-3120 (Биоресурсный центр Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов, «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва).

Для максимального снижения бактериальной обсемененности используемых в эксперименте сырых сливок их пастеризацию проводили при температуре 92±1 °С с выдержкой 8±2 мин. Нагрев и выдержку сливок осуществляли в закрытых емкостях из нержавеющей стали с рубашкой за счет подачи в нее острого пара. Используемые емкости предварительно подвергали дезинфекции, ополаскиванию стерильной водой и обработке острым паром.

При изготовлении масла способом сбивания пастеризованные сливки охлаждали до 16±1 °С, вносили тест-культуру *Bacillus subtilis* для создания концентрации жизнеспособных клеток на уровне 10⁴–10⁵ кл./см³, проводили созревание сливок в течение 16–18 ч при температуре 8–10 °С с последующим сбиванием в лабораторном ма-

слоизготовителе периодического действия МИ-0,01 с рабочей емкостью 10 л (Экспериментальный машиностроительный завод, Россия).

При изготовлении масла способом ПВЖС пастеризованные сливки охлаждали до 48±2 °С, вносили тест-культуры исследуемого микроорганизма для создания концентрации жизнеспособных клеток на уровне 10⁴–10⁵ кл./см³, подогревали сливки до температуры сепарирования 60±5 °С и получали высокожирные сливки (ВЖС). Из них изготавливали масло методом ПВЖС на лабораторной линии с маслообразователем цилиндрического типа МО-0,025 производительностью 25 кг/ч (Экспериментальный машиностроительный завод, Россия).

Влияние методов производства СС и ПВЖС на уровень микробиологических рисков, обусловленных споровыми аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами рода *Bacillus*, исследовали на этапах изготовления и хранения масла в потребительской упаковке при трех температурных режимах:

- 3±2 °С — режим, предусмотренный стандартами для масла из коровьего молока;
- 10±1 °С — режим хранения при повышенных плюсовых температурах, позволяющий учесть возможные разрывы или нарушения в холодильной цепи на пути доставки продукции от изготовителя к потребителю;
- 25±1 °С — режим ускоренной порчи, использованный для выявления наиболее вероятных пороков в масле, образующихся в результате воздействия исследуемого микроорганизма на компоненты масла.

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

В исследуемых образцах масла физико-химические показатели определялись стандартизованными методами: титруемая кислотность жировой фазы и молочной плазмы — по ГОСТ Р 55361-2012, окисленность жировой фазы — по перекисному числу (ГОСТ ISO 3960-2013), а также с использованием пробы с 2-тиобарбитуровой кислотой (2-ТБК) [39]. Микробиологический контроль проб проводился с использованием стандартизованных методов по следующим показателям: количество жизнеспособных клеток мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), количество спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КСАФАнМ), а также БГКП — по ГОСТ 32901-2014², количество жизнеспособных клеток дрожжей и плесневых грибов — по ГОСТ 33566-2015³, количество спор анаэробных микроорганизмов (КСАнМ) — по ГОСТ 32012-2012⁴. Органолептическая оценка сливочного масла (вкус и запах, консистенция, внешний вид) проводилась группой аттестованных экспертов в соответствии с ГОСТ 32261-2013⁵.

Выработку масла методами СС и ПВЖС, а также исследование полученных образцов проводили с тройным повторением. Математическую обработку данных и построение графиков осуществляли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2016. Для оценки статистически достоверных различий между выборочными средними использовали критерий Стьюдента. Статистически значимый результат оценивали при $p < 0,05$.

3. Результаты и обсуждение

Обобщенные результаты микробиологических исследований сырых и пастеризованных сливок-сырья, использованных в выработках масла методами СС и ПВЖС, представлены в Таблице 1. Анализ результатов свидетельствует о соответствии бактериальной обсемененности сырых сливок требованиям ТР ТС 033/2013⁶ и ГОСТ 34355-2017⁷ в отношении содержания КМАФАнМ. Качественный состав микрофлоры сырых сливок аналогичен микрофлоре сырого молока. Количественное содержание отдельных групп микроорганизмов, включая дрожжи [40] и споровых микроорганизмов, закономерно снижается по сравнению с сырым молоком при отсут-

² ГОСТ 32901-2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа». — Москва: Стандартинформ, 2015. — 24 с.

³ ГОСТ 33566-2015 «Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов». — Москва: Стандартинформ, 2016. — 13 с.

⁴ ГОСТ 32012-2012 «Молоко и молочная продукция. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных микроорганизмов». — Москва: Стандартинформ, 2013. — 11 с.

⁵ ГОСТ 32261-2013 «Масло сливочное. Технические условия». — Москва: Стандартинформ, 2019. — 20 с.

⁶ ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции». Электронный ресурс <https://docs.cntd.ru/document/499050562>. Дата доступа: 11.10.2024

⁷ ГОСТ 34355-2017 «Сливки-сырье. Технические условия». — Москва: Стандартинформ, 2018. — 12 с.

Таблица 1. Результаты микробиологических исследований сливок-сырья, использованных для выработки масла методами СС и ПВЖС

Table 1. Results of the microbiological analyses of raw cream used for butter production by the CC and HFCT methods

Сырье	КМАФАнМ, КОЕ/см ³	БГКП, НВЧ кл./см ³	КСАФАнМ*, КОЕ/см ^{3*}	КСАнМ*, НВЧ спор/см ³	Дрожжи, КОЕ/см ³	Плесневые грибы, КОЕ/см ³
Сливки сырые Ж 40±2%	(8,7±0,7)×10 ⁴	(1,6±0,1)×10 ⁵	(3±2)×10 ⁰	(0,6±0,3)×10 ⁰	(4,0±3,7)×10 ²	(2,7±0,4)×10 ¹
Пастеризованные сливки	(4,0±3,0)×10 ⁰	Отсутствуют в 10 см ³	(3±1)×10 ⁰	Отсутствуют в 1 см ³ -	Отсутствуют в 1 см ³	Отсутствуют в 1 см ³

Примечание: данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение». Достоверные различия ($p \leq 0,05$) установлены для всех показателей за исключением указанных в столбцах со знаком «*».

ствии нарушений в технологическом процессе. Среди жизнеспособных клеток сырых сливок максимальная доля приходится на БГКП и дрожжи. Споровая микрофлора, контроль которой осуществляется по количеству спорных форм, представлена единичными спорами в 1 см³ сливок. Это сопоставимо с результатами исследований сырого молока, согласно которым споры мезофильных микроорганизмов в сыром молоке выявляются до 1,76 lg КОЕ/см³ при среднем значении 0,26±0,56 lg КОЕ/см³ [41].

Используемые в эксперименте режимы пастеризации сливок (92±1 °C с выдержкой 8±2 мин) эффективны и обеспечивают уничтожение большинства микроорганизмов порчи, включая вегетативные формы бактерий, дрожжи и плесневые грибы. Остаточной микрофлорой сливок после пастеризации являются единичные клетки спорных бактерий, что прогнозируемо ввиду их высокой термостойкости, описанной в публикациях [24,26,27].

Для проведения экспериментальных выработок масла различными способами и с целью оценки влияния технологических процессов производства на выживаемость и возможность развития спорных микроорганизмов, готовили модельные смеси, состоящие из пастеризованных сливок, обсемененных тест-культурой *Bacillus subtilis* на уровне 10⁴–10⁵ КОЕ/см³.

На Рисунке 1 представлены результаты исследований по изменению общего количества клеток и спорных форм тест-культуры *B. subtilis* по ходу технологического процесса в выработках масла методами СС и ПВЖС.

Диаграммы отражают средние значения, полученные по результатам посевов, выполненных в трех повторностях, отклонения от среднего значения не превышали 10%.

Содержание тест-культуры *Bacillus subtilis* в сливках, предназначенных для изготовления масла, имело одинаковый уровень как по общему количеству клеток (1,25±0,05)×10⁵ КОЕ/см³, так и по содержанию спорных форм (1,65±0,05)×10⁴ КОЕ/см³. Количество спор было на порядок меньше относительно общего количества клеток спорных микроорганизмов, включающего кроме спорных форм и вегетативные формы.

При изготовлении масла методом СС создались благоприятные условия для спорообразования уже на этапе созревания сливок, которое происходило в течение 16–18 ч при температуре 8–10 °C. Наличие данного этапа в технологическом процессе привело к увели-

чению количества спор в 3,8 раза при снижении общего количество клеток тест-культуры *Bacillus subtilis*.

При изготовлении масла методом ПВЖС в процессе сепарирования сливок при получении высокожирных сливок (ВЖС) наблюдалось снижение на пол-порядка спорных форм, что можно оценить как снижение рисков, связанных со спорными микроорганизмами. Это снижение обусловлено частичным удалением спорных форм в процессе сепарирования обсемененных сливок при получении ВЖС, а также губительным воздействием на вегетативные клетки температуры 60±5 °C, до которой необходимо нагреть сливки для эффективной работы сепаратора при получении ВЖС [5,18].

Полученные образцы масла, независимо от метода изготовления, характеризовались примерно одинаковым уровнем общей бактериальной обсемененности, находящемся в диапазоне (3±1)×10⁴ КОЕ/см³. Содержание спорных форм в готовом продукте наблюдалось больше на порядок в случае выработки масла методом СС. Это обстоятельство связано с повышенным содержанием спорных форм в сливках после созревания, а также с длительным нахождением сливок при пониженных температурах (12–14 °C) в процессе изготовления масла методом сбивания (длительность сбивания — 30–45 минут, обработка пласта масла — 15–20 минут) [7,10]. Нормируемые группы микроорганизмов БГКП, дрожжи и плесневые грибы не выявлены в 1 см³ масла (Таблица 2).

Динамика изменения содержания спорных форм и общего количества клеток тест-культуры в масле, выработанном методами СС и ПВЖС, в процессе хранения при трех температурных режимах представлена на Рисунках 2 и 3.

Результаты микробиологических исследований показывают отсутствие видимого развития спорной микрофлоры в масле при 3±2 °C, независимо от метода его получения. Отсутствие развития микрофлоры при 3±2 °C обеспечивает в течение длительного периода стабильное качество и отсутствие ощутимых пороков вкуса и запаха в масле, изготовленном как методом ПВЖС, так и методом СС (Рисунок 4).

Хранение масла в условиях повышенных температур обеспечивает проявление микробиологических рисков, связанных со спорными аэробными микроорганизмами, в зависимости от способа изготовления масла, что также отмечается в работах [7,23].

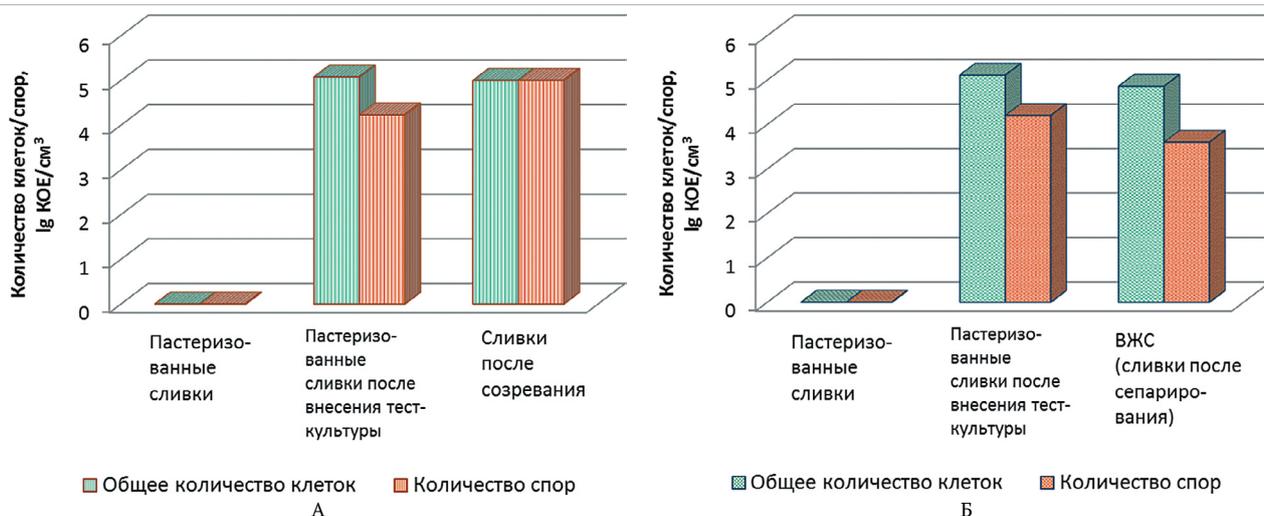


Рисунок 1. Изменение содержания общего количества клеток и спорных форм тест-культуры *B. subtilis* на стадиях изготовления масла методами СС (А) и ПВЖС (Б) при дополнительном обсеменении сливок спорными микроорганизмами

Figure 1. Change in the total counts of cells and spore forms of the test culture *B. subtilis* at the stages of butter production by the CC (A) and HFCT (B) methods upon additional contamination of cream with spore-forming microorganisms

Таблица 2. Результаты микробиологических исследований масла с дополнительным внесением тест-культуры споровых микроорганизмов в сливки

Table 2. Results of the microbiological analyses of butter with additional introduction of the test culture of spore-forming microorganisms into cream

№ п/п	Показатель	КМАФАнМ, КОЕ/см ³	БГКП, НВЧ кл./см ³	КСАФАнМ*, КОЕ/см ³	КСАнМ, НВЧ спор/см ³	Дрожжи, плесневые грибы, КОЕ/см ³
1	Масло СС	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^4$	Отсутствуют в 1 см ³	$(5,2 \pm 0,1) \times 10^5$	Отсутствуют в 1 см ³	Отсутствуют в 1 см ³
2	Масло ПВЖС	$(4,0 \pm 0,1) \times 10^4$	Отсутствуют в 1 см ³	$(5,9 \pm 0,1) \times 10^2$	Отсутствуют в 1 см ³	Отсутствуют в 1 см ³

Примечание: данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение». Данные в столбцах со знаком «*» имеют достоверные различия ($p \leq 0,05$).

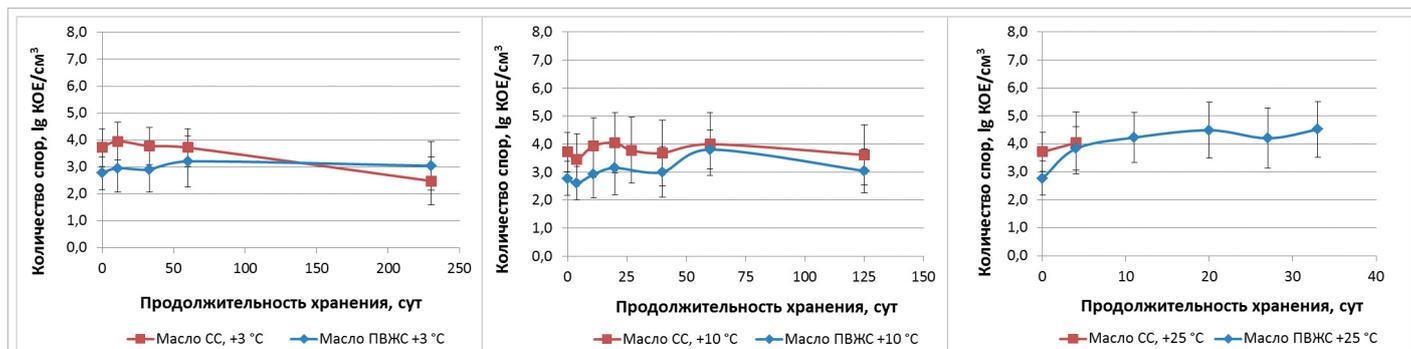


Рисунок 2. Изменение содержания спор тест-культуры *B. subtilis* в масле, выработанном методами СС и ПВЖС, в процессе хранения при различных температурных режимах. Графические зависимости построены по средним значениям данных трех выработок

Figure 2. Change in the content of spores of the test culture *B. subtilis* in butter produced by the CC and HFCT during storage under different temperature regimes. Dependency graphs are built by mean values of data from three runs

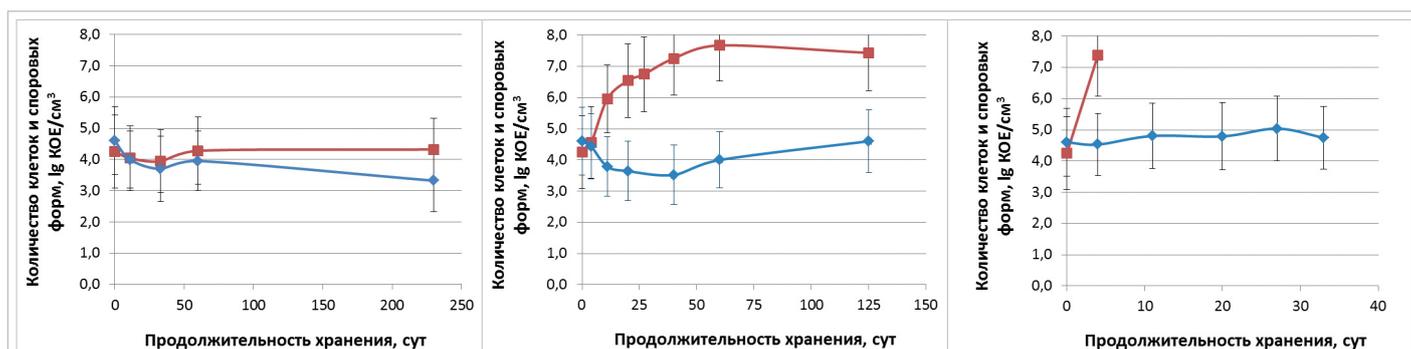


Рисунок 3. Динамика изменения количества клеток и споровых форм тест-культуры *B. subtilis* в масле, выработанном методами СС и ПВЖС, в процессе хранения при различных температурных режимах. Графические зависимости построены по средним значениям данных трех выработок

Figure 3. Dynamics of changes in counts of cells and spore forms of the test culture *B. subtilis* in butter produced by the CC and HFCT methods during storage under different temperature regimes. Dependency graphs are built by mean values of data from three runs

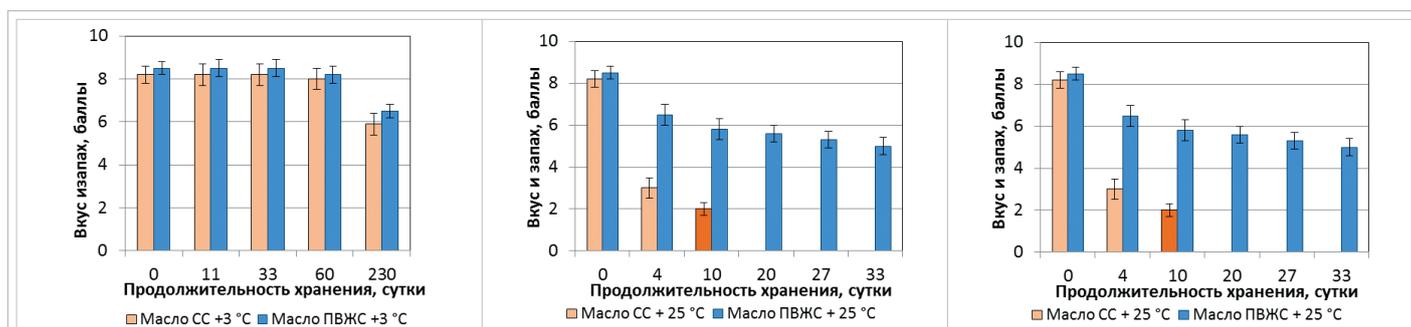


Рисунок 4. Изменение органолептических показателей в масле, выработанном методами СС и ПВЖС, в процессе хранения при различных температурных режимах. Графические зависимости построены по средним значениям данных трех выработок

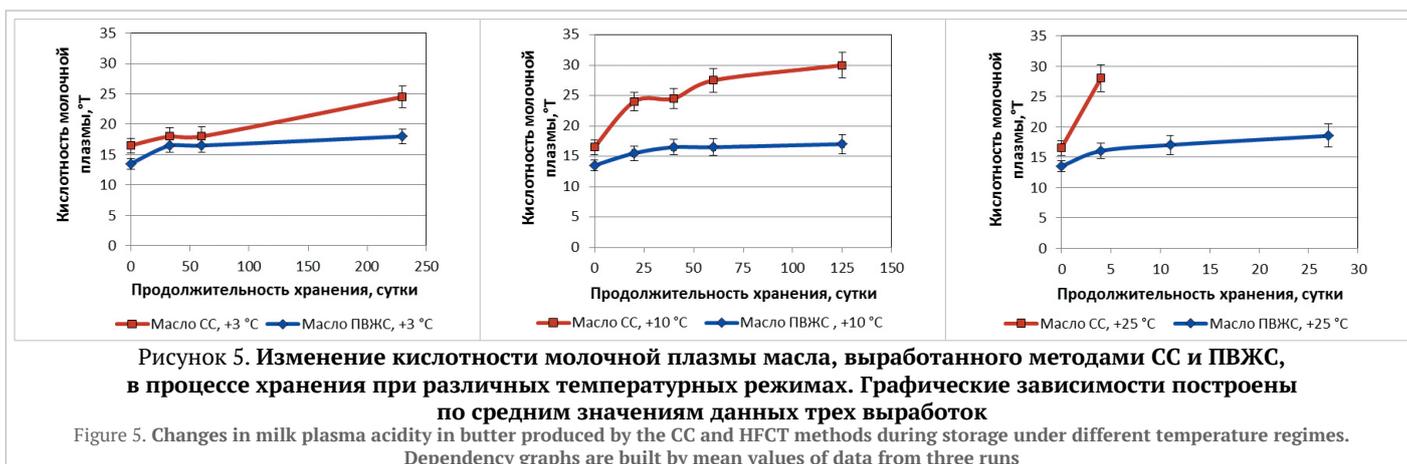
Figure 4. Changes in organoleptic indicators in butter produced by the CC and HFCT methods during storage under different temperature regimes. Dependency graphs are built by mean values of data from three runs

При повышенных температурах хранения более интенсивное развитие тест-культуры и, соответственно, снижение хранимостепности масла наблюдались при его изготовлении методом СС. В масле СС через 5–7 суток хранения при температуре 10 ± 1 °C и через 1–2 сутки при 25 ± 1 °C общее количество клеток и споровых форм тест-культуры превысило уровень 1×10^5 КОЕ/см³ — допустимый уровень общей бактериальной обсемененности (показатель

КМАФАнМ) для сливочного масла в соответствии с ТР ТС 033/2013 и ГОСТ 32261-2013 (Рисунок 3). По данному показателю масло подлежит забраковке.

Снижение хранимостепности масла, изготовленного методом СС, в условиях повышенных температур, очевидно, обусловлено:

□ реактивацией клеток остаточной микрофлоры после термошока на стадии созревания сливок;



□ наличием благоприятных условий для развития аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, в том числе представителей рода *Bacillus*, за счет рыхлой структуры масла с большим содержанием воздуха, получаемой при изготовлении масла методом СС в сравнении с методом ПВЖС.

При повышенных температурах хранения в масле ПВЖС также наблюдалось увеличение общего количества вегетативных клеток и спорных форм тест-культуры, однако с меньшей интенсивностью: при $10 \pm 1^\circ\text{C}$ не отмечено превышения уровня 1×10^5 КОЕ/см³ за период наблюдения; при $25 \pm 1^\circ\text{C}$ данный уровень достигнут после 10 сут хранения.

Развитие основной внесенной и прошедшей реактивацию при созревании сливок остаточной микрофлоры в масле, изготовленном методом СС, в процессе хранения при повышенных температурах сопровождалось изменением показателей кислотности молочной плазмы. При температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ уже на 4 сутки ее значения в масле СС достигли 28°T и превысили нормируемые значения (26°T), что отразилось в появлении пороков вкуса, таких как слабо кислый, слабо олеистый, слабо затхлый. При температуре $10 \pm 1^\circ\text{C}$ кислотность плазмы значительно увеличилась только через 60 суток хранения и составила 28°T (Рисунок 5). В масле ПВЖС кислотность молочной плазмы за период хранения даже при повышенных температурах не превысила установленного уровня.

Изменения показателей жировой фазы масла за период хранения при исследованных температурных режимах не превышали максимальных значений для жира, пригодного в пищу. Кислотность жировой фазы, независимо от метода изготовления масла, при снятии его с хранения по органолептическим показателям увеличилась незначительно. При температуре ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) она возросла к окончанию срока хранения на $0,2^\circ\text{K}$; при ($3 \pm 2^\circ\text{C}$) и ($10 \pm 1^\circ\text{C}$) — на $0,1^\circ\text{K}$.

Более значимое влияние спорные бактерии, липолитически и протеолитически активные микроорганизмы могут оказать на окислительные процессы порчи жировой фазы [29], характеризую-

мые значениями перекисных чисел и окисленностью жировой фазы по пробе с 2-тиобарбитуровой кислотой (Таблица 3).

Как показывают результаты, приведенные в Таблице 3, окислительные процессы при обоих методах изготовления сливочного масла обусловлены в первую очередь температурой хранения, обеспечивающей развитие микрофлоры. Однако анализ показателей окисленности в процессе хранения при одних и тех же температурных режимах фиксирует большие изменения жировой фазы в масле, изготовленном методом СС, что сопровождается снижением его хранимоспособности. Динамика изменения показателя окисленности жира в исследованных образцах масла соответствует данным, полученным как для масла традиционного состава, так и для масел с различными добавками [6,7,14].

В Таблице 4 приведены данные оценочной хранимоспособности масла, изготовленного способами СС и ПВЖС, по значимым показателям забраковки.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень микробиологических рисков, связанных со спорными микроорганизмами, зависит от температуры хранения продукта. В случае соблюдения температурного режима $3 \pm 2^\circ\text{C}$, предусмотренного нормативными документами для хранения сливочного масла, и отсутствия развития спорных микроорганизмов высокое исходное качество масла может сохраняться длительное время — 60 суток и более.

Режимы производства, используемые при методе СС, создают условия, которые повышают микробиологические риски. Это связано с технологической операцией созревания сливок при пониженной температуре $8-10^\circ\text{C}$ в течение 16–18 часов, что удлиняет общий процесс выработки до 20–24 часов, а также с формированием более рыхлой структуры готового продукта при сбивании и образованием более крупных капель плазмы в пласте масла. Так в условиях ускоренной порчи — температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ хранимоспособность масла, изготовленного методом СС, с учетом забраковки по наиболее

Таблица 3. Прирост (Δ) показателей окисленности жировой фазы сливочного масла при изготовлении методами ПВЖС и СС, контаминированного спорными микроорганизмами, в процессе хранения при различных температурных режимах

Table 3. Increase (Δ) in the indicators of oxidation of the fat phase of butter produced by the CC and HFCT methods and contaminated with spore-forming microorganisms during storage under different temperature regimes

Метод изготовления масла	Продолжительность хранения, сутки	Перекисное число, Ммоль $\frac{1}{2}$ О/кг при температуре хранения масла			Окисленность по пробе 2-ТБК, ед. опт. пл. при температуре хранения масла		
		(3 ± 2) $^\circ\text{C}$	(10 ± 1) $^\circ\text{C}$	(25 ± 1) $^\circ\text{C}$	(3 ± 2) $^\circ\text{C}$	(10 ± 1) $^\circ\text{C}$	(25 ± 1) $^\circ\text{C}$
СС	0		0,23 \pm 0,02			0,011 \pm 0,001	
	4	—	—	0,02 \pm 0,01*	—	—	0,006 \pm 0,002
	125	—	0,55 \pm 0,03	—	—	0,017 \pm 0,001*	—
	230	1,03 \pm 0,09*	—	—	0,016 \pm 0,002	—	—
ПВЖС	0		0,29 \pm 0,03			0,009 \pm 0,001	
	4	—	—	0,06 \pm 0,01*	—	—	0,002 \pm 0,000
	33	—	—	0,47 \pm 0,01	—	—	0,006 \pm 0,001
	125	—	0,53 \pm 0,03	—	—	0,012 \pm 0,001*	—
	230	0,71 \pm 0,07*	—	—	0,015 \pm 0,002	—	—

Примечание: данные приведены в форме «среднее значение \pm стандартное отклонение». Данные, указанные в столбцах для определенной температуры, со знаком «*» имеют достоверные различия ($p \leq 0,05$).

Таблица 4. Хранимоспособность сливочного масла, выработанного методами ПСС и ПВЖС, при наличии микробиологических рисков, связанных со споровыми аэробными микроорганизмами

Table 4. Storability of butter produced by the CC and HFCT methods in the presence of microbiological risks associated with spore-forming aerobic microorganisms

Температура хранения, °С	Метод производства	Забраковка по показателю:		Хранимоспособность, сут
		Бактериальная обсемененность	Вкус и запах	
3±2	СС	более 230 сут	230 сут (5,9±0,2 балла) Штафф на поверхности желтого цвета. Запах лежалый и слабый нечистый. Вкус невыраженный сливочный и пастеризации, с привкусами нечистого и салистого	Выдерживает 60 сут с сохранением характеристик на начальном уровне
	ПВЖС	более 230 сут	230 сут (6,5±0,1 балла) Штафф на поверхности светло желтого цвета. Запах слабовыраженный сливочный и лежалый. Вкус слабовыраженный сливочный и пастеризации со слабыми привкусами старого и нечистого	
10±1	СС	6±1 сут	20±5 сут (6,9±0,3 балла) Штафф на поверхности желтого цвета. Запах слабовыраженный нечистый. Вкус слабовыраженный сливочный, обволакивающий с оттенком нечистого	6±1
	ПВЖС	более 125 сут	60±5 сут (7,1±0,2 балла) Налет штаффа на поверхности. Запах слабовыраженный сливочный и лежалый. Вкус недостаточно выраженный сливочный, слабый лежалый	60±5
25±1	СС	1–2 сут	3±1 сут (2,0±0,4 балла) Штафф прозрачный желтого цвета. Запах несвежий, липолизный. Вкус слабобокислый, липолизный	1–2
	ПВЖС	27–33 сут	15±5 сут (5,5 б ± 5,3 баллов) Штафф на поверхности светло-желтого цвета. Запах слабовыраженный салистый. Вкус невыраженный сливочный и пастеризации, обволакивающий, вязкий, слабый салистый	15±5

обесценивающему показателю, составила всего 1–2 суток, а масла, изготовленного методом ПВЖС, — 15±5 суток (Таблица 4).

При использовании метода ПВЖС микробиологические риски, связанные со споровой микрофлорой, менее значимы за счет короткого технологического процесса, начальный этап которого проходит при повышенных температурах, но риски остаются и связаны с использованием некачественного по микробиологическим показателям сырья, а также с неэффективной пастеризацией сливок.

4. Заключение

В результате проведенных исследований оценены микробиологические риски, обусловленные микрофлорой порчи, в частности споровыми микроорганизмами рода *Bacillus*. Эти микроорганизмы оказывают влияние на снижение качества и хранимоспособности

сливочного масла в зависимости от метода его изготовления (метод сбивания сливок или преобразования высокожирных сливок). Установлено, что метод СС, отличающийся длительным технологическим процессом, преобладанием пониженных температур, получением рыхлой структуры готового продукта, более значимо влияет на уровень микробиологических рисков, связанных со споровыми микроорганизмами рода *Bacillus*. Риски снижения качества и хранимоспособности масла, изготовленного методом СС, возрастают в условиях повышенных температур, которые могут возникать при нарушении холодной цепи на этапах хранения и реализации продукта. Однако при соблюдении регламентированного температурного режима хранения (3±2 °С) развитие споровых микроорганизмов не наблюдается, а исходные показатели масла сохраняются на протяжении длительного периода независимо от способа его изготовления.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Demirkol, A., Guner, O., Yuceer, Y. K. (2016). Volatile compounds, chemical and sensory properties of butters sold in Çanakkale. *Journal of Agricultural Sciences*, 22(1), 99–108. <https://doi.org/10.1501/Tarimbil.0000001372>
- Parmar, P., Lopez-Villalobos, N., Tobin, J. T., Murphy, E., Crowley, S. V., Kelly, A. L. et al. (2020). Development and evaluation of a processing sector model for butter manufacture using a mass balance technique at two dairy processing sites. *International Journal of Dairy Technology*, 74(1), 192–201. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12757>
- Panchal, B., Bhandari, B. (2020). Butter and Dairy Fat Spreads. Chapter in book: *Dairy Fat Products and Functionality*. Springer Cham, 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-41661-4>
- Pimpin, L., Wu, J. H. Y., Haskelberg, H., Del Gobbo, L., Mozaffarian, D. (2016). Is butter back? A systematic review and meta-analysis of butter consumption and risk of cardiovascular disease, diabetes, and total mortality. *PLoS ONE*, 11(6), Article e0158118. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158118>
- Ziarno, M., Derewiaka, D., Florowska, A., Szymanska, I. (2023). Comparison of the spreadability of butter and butter substitutes. *Applied Sciences*, 13(4), Article 2600. <https://doi.org/10.3390/app13042600>
- Nikhian, Z., Ehsani, M. R., Piravi-Vanak, Z., Bakhoda, H. (2020). Comparative analysis of butter thermal behavior in combination with bovine tallow. *Food Science and Technology*, 597–604. <https://doi.org/10.1590/fst.32019>
- Findik, J., Andic, S. (2017). Some chemical and microbiological properties of the butter and the butter oil produced from the same raw material. *LWT*, 86(5), 235–239. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.002>
- Muir, D. D., Banks, J. M. (2003). Factors affecting the shelf-life of milk and milk products. Chapter in a book: *Dairy Processing: Improving Quality*. Woodhead Publishing, 2003. <https://doi.org/10.1533/9781855737075.1.185>
- Гусева, Т. Б., Солдатова, С. Ю., Караньян, О. М. (2020). Органолептическая оценка масла сливочного. Особенности проведения и интерпретации результатов. *Бюллетень науки и практики*, 6(9), 222–228. [Guseva, T. B., Soldatova, S. Yu., Karanyan, O. M. (2020). Organoleptic evaluation of butter. Features of conducting and interpreting the results. *Bulletin of Science and Practice*, 6(9), 222–228. (In Russian)] <https://doi.org/10.33619/2414-2948/58/22>
- Свириденко, Г. М., Захарова, М. Б., Иванова, Н. В. (2021). Оценка микробиологических рисков в сливках как сырье для маслоделия. *Пищевые системы*, 4(4), 259–268. [Sviridenko, G. M., Zakharova, M. B., Ivanova, N. V. (2021). Evaluation of microbiological risks in cream as a raw material for buttermaking. *Food Systems*, 4(4), 259–268. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-259-268>
- Свириденко, Г. М., Захарова, М. Б., Иванова, Н. В., Смирнова, О. И. (2019). Влияние споровых микроорганизмов на качество сырья для производства продуктов маслоделия. *Сырделие и маслоделие*, 5, 42–45. [Sviridenko, G. M., Zakharova, M. B., Ivanova, N. V., Smirnova, O. I. (2019). Effects of the spore microorganisms on the quality of raw materials for manufacturing of the products of butter making. *Cheese- and Buttermaking*, 5, 42–45. (In Russian)] <https://doi.org/10.51515/2073-4018-2019-5-42-45>
- Ram, B., Borah, A. (2022). Potential sources of butter and their significance: A review. *The Pharma Innovation Journal*, SP-11(6), 1004–1011.
- Vioque-Amor, M., Gómez-Díaz, R., Del Río-Celestino, M., Avilés-Ramírez, C. (2023). Butter from different species: Composition and quality parameters of products commercialized in the South of Spain. *Animals*, 13(22), Article 3559. <https://doi.org/10.3390/ani13223559>
- Simonenkova, A. P., Mamaev, A. V., Masalov, V. N., Luneva, O. N., Demina, E. N., Sergeeva, E. Yu. (February 26–29, 2021). *Evaluation of the quality and safety of butter with an antioxidant complex of natural origin (birch bark extract and Aloe Vera)*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: International Conference on Production and Processing of Agricultural Raw Materials, Voronezh, Russian Federation, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032004>
- Соболева, Н. В., Почапская, В. В., Хамитова, Я. Р., Кизаев, М. А., Дубовскова, М. П. (2020). Сравнительная оценка качества масла сливочного. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*, 6(86), 236–240. [Soboleva, N. V., Pochapskaya, V. V., Khamitova, Ya. R., Kizaev, M. A., Dubovskova, M. P. (2020). Comparative assessment of the quality of butter. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*, 6(86), 236–240. (In Russian)] <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2020-86-6-236-240>
- Cheng, S., Li, W., Wu, S., Ge, Y., Wang, C., Xie, S. et al. (2023). Functional butter for reduction of consumption risk and improvement of nutrition. *Grain and Oil Science and Technology*, 6(4), 172–184. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2023.09.001>
- Вышемировский, Ф. А. (2010). Производство масла из коровьего молока в России. СПб: ГИОРД, 2010. [Vyshemirsky, F. A. (2010). Production of butter from cow's milk in Russia. St. Petersburg: GIORД, 2010. (In Russian)]

18. Топникова, Е. В. (2020). Основные процессы при изготовлении масла из сливок разными методами. *Молочная промышленность*, 5, 50–53. [Топникова, Е. В. (2020). Basic processes of butter production from cream using various methods. *Dairy Industry*, 5, 50–53. (In Russian)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-05-50-53>
19. Deosarkar, S. S., Khedkar, C. D., Kalyankar, S. D. (2016). Butter: Manufacture. Chapter in a book: *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00094-5>
20. Lindsay, D., Robertson, R., Fraser, R., Engstrom, S., Jordan, K. (2021). Heat induced inactivation of microorganisms in milk and dairy products. *International Dairy Journal*, 121, Article 105096. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105096>
21. Kharkhota, M., Hrabova, H., Kharchuk, M., Ivanytsia, T., Mozhaieva, L., Poliakova, A. et al. (2022). Chromogenicity of aerobic spore-forming bacteria of the *Bacillaceae* family isolated from different ecological niches and physiographic zones. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(3), 1395–1408. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00755-9>
22. Martin, N. H., Quintana-Pérez, F. M., Evanowski, R. L. (2023). Sources, transmission, and tracking of sporeforming bacterial contaminants in dairy systems. *JDS Communications*, 5(2), 172–177. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2023-0428>
23. Blackburn, C. de W. (2006). *Food Spoilage Microorganisms*. Woodhead Publishing, 2006.
24. André, S., Vallaëys, T., Planchon S. (2017). Spore-forming bacteria responsible for food spoilage. *Research in Microbiology*, 168(4), 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.10.003>
25. Boor, K. J., Wiedmann, M., Murphy, S., Alcaïne, S. (2017). A 100-Year Review: Microbiology and safety of milk handling. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9933–9951. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12969>
26. Sadiq, F. A., Li, Y., Liu, T. J., Flint, S., Zhang, G., Yuan, L. et al. (2016). The heat resistance and spoilage potential of aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from Chinese milk powders. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.009>
27. De Jonghe, V., Coorevits, A., De Block, J., Coillie, E. V., Grijspeerdt, K., Herman, L. et al. (2010). Toxinogenic and spoilage potential of aerobic spore-formers isolated from raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 136(3), 318–325. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.007>
28. Moschonas, G., Lianou, A., Nychas, G.-J. E., Panagou, E. Z. (2021). Spoilage potential of *Bacillus subtilis* in a neutral-pH dairy dessert. *Food Microbiology*, 95, Article 103715. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103715>
29. Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 311–331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>
30. Martin, N. H., Torres-Frenzel, P., Wiedmann, M. (2021). Invited review: Controlling dairy product spoilage to reduce food loss and waste. *Journal of Dairy Science*, 104(2), 1251–1261. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19130>
31. Lücking, G., Stoeckel, M., Atamer, Z., Hinrichs, J., Ehling-Schulz, M. (2013). Characterization of aerobic spore-forming bacteria associated with industrial dairy processing environments and product spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 166(2), 270–279. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.004>
32. Hebishi E., Yerlikaya, O., Mahony, J., Akpinar, A., Aygili, D. S. (2023). Microbiological aspects and challenges of whey powders -I thermophilic, thermophilic and spore-forming bacteria. *International Journal of Dairy Technology*, 76(4), 779–800. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.13006>
33. Hebishi, E., Yerlikaya, O., Reen, F. J., Mahony, J., Akpinar, A., Saygili, D. et al. (2024). Microbiological aspects and challenges of dairy powders – II: Biofilm/biofouling. *International Journal of Dairy Technology*, 77(3), 691–712. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.13076>
34. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1994.
35. Burgess, S. A., Lindsay, D., Flint, S. H. (2010). Thermophilic bacilli and their importance in dairy processing. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.027>
36. Deeth, H. C. (2019). Milk lipids: Lipolysis and hydrolytic rancidity. Chapter in a book: *Reference Module in Food Science*. Elsevier, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00925-2>
37. Feliciano, R. J., Boué, G., Membre, J.-M. (2020). Overview of the potential impacts of climate change on the microbial safety of the dairy industry. *Foods*, 9(12), Article 1794. <https://doi.org/10.3390/foods9121794>
38. Notermans, S., in't Veld, P. (1994). Microbiological challenge testing for ensuring safety of food products. *International Journal of Food Microbiology*, 24(1–2), 33–39. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90104-x](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90104-x)
39. Pokorny, J., Dieffenbacher, A. (1989). Determination of 2-thiobarbituric acid value: Direct method – results of a collaborative study and the standardised method. *Pure and Applied Chemistry*, 61(6), 1165–1170. <https://doi.org/10.1351/pac198961061165>
40. Свириденко, Г. М., Иванова, Н. В., Захарова, М. Б., Смирнова, О. И. (2019). Влияние дрожжей на качество и хранимоспособность сливок – сырья для продуктов маслоделия. *Сыроделие и маслоделие*, 3, 54–56. [Sviridenko, G. M., Ivanova, N. V., Zakharova, M. B., Smirnova, O. I. (2019). Effects of yeast on the quality and keepability of cream – raw material for the products of cheese making. *Cheese- and Buttermaking*, 3, 54–56. (In Russian)] <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-3-54-56>
41. Murphy, S. I., Kent, D., Martin, N. H., Evanowski, R. L., Patel, K., Godden, S. M. et al. (2019). Bedding and bedding management practices are associated with mesophilic and thermophilic spore levels in bulk tank raw milk. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 6885–6900. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16022>



СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Свириденко Галина Михайловна — доктор технических наук, главный научный сотрудник, руководитель направления микробиологических исследований молока и молочной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-5-48-64 E-mail: g.sviridenko@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9586-3786</p> <p>Захарова Марина Борисовна — кандидат технических наук, научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-485-329-81-18 E-mail: m.zackarova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2537-4522 * автор для контактов</p> <p>Топникова Елена Васильевна — доктор технических наук, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-666-93-93 E-mail: e.topnikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</p>	<p>Galina M. Sviridenko, Doctor of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of the Department of Microbiological Studies of Milk and Dairy Products, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-325-48-64 E-mail: g.sviridenko@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9586-3786</p> <p>Marina B. Zakharova, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Department of Microbiological Studies of Milk and Dairy Products, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-485-329-81-18 E-mail: m.zackarova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2537-4522 * corresponding author</p> <p>Elena V. Topnikova, Doctor of Technical Sciences, Deputy Director for Research, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Russia Tel.: +7-910-666-93-93 E-mail: e.topnikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</p>
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/10.21323/2618-9771-2024-7-4-598-604>



Поступила 12.10.2024

Поступила после рецензирования 23.12.2024

Принята в печать 25.12.2024

© Неверова О. П., Зинина О. В., Ли Ч., Лян Ч., Ребезов М. Б.,
Вишнякова Е. А., Барыкина Е. С., 2025

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

Научная статья

Open access

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНКАПСУЛЯЦИИ БИФИДОБАКТЕРИЙ ПРИ ОБОГАЩЕНИИ ПРОБИОТИКАМИ СОКОСОДЕРЖАЩИХ НАПИТКОВ

Неверова О. П.¹, Зинина О. В.^{1*}, Ли Ч.², Лян Ч.², Ребезов М. Б.³, Вишнякова Е. А.⁴, Барыкина Е. С.¹

¹Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

²Северо-Восточный сельскохозяйственный университет, Китай

³Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

⁴Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

альгинат натрия,
микрокапсула,
яблочный сок,
стабильность,
сокосодержащий
напиток

Напитки — один из наиболее популярных видов продукции, привлекающий внимание исследователей для обогащения функциональными ингредиентами. Введение пробиотиков в пищевую матрицу может повысить полезность продуктов питания, в том числе напитков. Однако пробиотики чрезвычайно чувствительны к экстремальным условиям окружающей среды, что существенно ограничивает их жизнеспособность в пищевых продуктах. Целью исследований является установление влияния инкапсуляции на сохранность бифидобактерий в обогащенном сокосодержащем напитке. Для защиты пробиотических микроорганизмов, бифидобактерий шести штаммов, входящих в симбиотическую закваску, от воздействия неблагоприятных условий пищевой среды и желудочно-кишечного тракта были использованы капсулы из альгината натрия. Капсулы получали капельным методом. Стабильность капсул оценивали в различных условиях. Исследовали их растворимость в воде, а также при pH, характерных для желудка (1,1–1,6), тонкого (7,8–8,2) и толстого (8,0–8,5) отделов кишечника. Испытания проводили при выдержке в буферных растворах в течение 15 и 30 минут. Кроме того, оценивали стабильность капсул в яблочном соке с pH 3,82 в процессе хранения при температуре 4 ± 1 °C в течение 7, 14, 21 и 28 суток, а также анализировали потери капсул при тепловой обработке. Также в процессе хранения сока контролировали количество бифидобактерий, извлеченных из капсул после их механического разрушения с последующим посевом на среду ГМК-1. Результаты исследований показали, что наибольший разрушающий эффект наблюдается при кислой среде, характерной для желудка, где потери составили 47,4% через 30 мин. Потери капсул при pH, характерных для разных отделов кишечника, составили от 25,3 до 30,9%. Менее агрессивной средой для капсул оказалась выбранная пищевая система — яблочный сок, в которой разрушение капсул через 28 суток хранения составило 8,7%. Потери капсул при выбранных режимах пастеризации сока составили от 60,17% (10 минут при 85 °C) до 67,42% (30 минут при 98 °C). Различия статистически значимы (p < 0,05). Таким образом, используя полученные данные, можно спрогнозировать общие потери капсул и пробиотических микроорганизмов в процессе переваривания и хранения продукта и инокулировать необходимое количество для придания продукту пробиотических свойств. Исследования имеют перспективы развития с учетом возможности варьирования вкусоароматических свойств как пищевой системы, так и капсул.

Received 12.10.2024

Accepted in revised 23.12.2024

Accepted for publication 25.12.2024

© Neverova O. P., Zinina O. V., Li Ch., Liang Z., Rebezov M. B.,
Vishnyakova E. A., Barykina E. S., 2025

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

Original scientific article

Open access

EFFECTIVENESS ASSESSMENT OF THE BIFIDOBACTERIA ENCAPSULATION WHEN ENRICHING JUICE-CONTAINING BEVERAGES WITH PROBIOTICS

Olga P. Neverova¹, Oksana V. Zinina^{1*}, Chun Li², Zhiqiang Liang², Maksim B. Rebezov^{1,3},
Elena A. Vishnyakova⁴, Ekaterina S. Barykina¹

¹Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia

²Northeast Agricultural University, China

³V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

⁴South Ural State University, Chelyabinsk, Russia

KEY WORDS:

sodium alginate,
microcapsule, apple
juice, stability, juice-
containing beverage

ABSTRACT

Beverages are among the most popular types of products that attract attention of researchers for enrichment with functional ingredients. The introduction of probiotics into the food matrix can increase the usefulness of food products, including beverages. However, probiotics are extremely sensitive to extreme environmental conditions, which significantly limits their ability to survive in food. The aim of the research is to establish an effect of encapsulation on the preservation of bifidobacteria in an enriched juice-containing beverage. Capsules from sodium alginate were used to protect probiotic microorganisms (bifidobacteria of six strains in the symbiotic starter) from unfavorable conditions of the environment of the food system and the gastrointestinal tract. The capsules were obtained by the drip method. The stability of the capsules was determined under different conditions. Their solubility in water and at pH values typical for the stomach (1.1–1.6), small intestine (7.8–8.2), and large intestine (8.0–8.5) were studied. The tests were carried out upon keeping in buffer solutions for 15 and 30 min. In addition, the stability of the capsules in apple juice with a pH of 3.82 when stored at 4 ± 1 °C for 7, 14, 21, and 28 days was assessed. Capsule losses during heat treatment were analyzed. The amount of bifidobacteria extracted from the capsules after mechanical

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Неверова, О. П., Зинина, О. В., Ли, Ч., Лян, Ч., Ребезов, М. Б., Вишнякова, Е. А., Барыкина, Е. С. (2024). Оценка эффективности инкапсуляции бифидобактерий при обогащении пробиотиками сокосодержащих напитков. *Пищевые системы*, 7(4), 598–604. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-598-604>

FOR CITATION: Neverova, O. P., Zinina, O. V., Li, Ch., Liang, Z., Rebezov, M. B., Vishnyakova, E. A., Barykina, E. S. (2024). Effectiveness assessment of the bifidobacteria encapsulation when enriching juice-containing beverages with probiotics. *Food Systems*, 7(4), 598–604. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-598-604>

destruction with their subsequent inoculation on the GMK-1 medium was also monitored during juice storage. The results of the studies showed that the greatest destructive effect was observed in an acidic environment typical for the stomach, where losses amounted to 47.4% after 30 min. Capsule losses at pH values typical for different parts of the intestine ranged from 25.3 to 30.9%. The selected food system, apple juice, turned out to be a less aggressive environment for the capsules, in which the destruction of capsules was 8.7% after 28 days of storage. Capsule losses under the selected juice pasteurization modes ranged from 60.17% during processing for 10 minutes at 85 °C to 67.42% during juice processing for 30 minutes at 98 °C. The differences were statistically significant ($p < 0.05$). Thus, using the obtained data, it is possible to predict the total loss of capsules and probiotic microorganisms during the digestion and storage of the product and inoculate the required amount to impart probiotic properties to the product. The research has development prospects taking into account the possibility of varying the taste and aroma properties of both the food system and the capsules.

1. Введение

С улучшением качества жизни люди уделяют все больше внимания ведению здорового образа жизни и сохранению здоровья, что привело к расширению ассортимента функциональных и специализированных продуктов питания. Так, появляются в более широком ассортименте специализированные продукты для спортивного питания [1,2], безглютеновые продукты [3], обогащенные функциональными ингредиентами, например, пищевыми волокнами [4].

Одним из важных функциональных ингредиентов, добавляемых в различные продукты питания, являются пробиотики [5].

В 2001 году Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций (ФАО) и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определили пробиотики как живые микроорганизмы (бактерии или дрожжи), которые положительно влияют на здоровье человека при попадании в организм в достаточных количествах [6]. После многолетних исследований пробиотики можно определить как тип активных микроорганизмов, которые приносят пользу организму, поддерживая баланс кишечной микрофлоры после колонизации желудочно-кишечного тракта [7]. Исследования показывают, что для адсорбции пробиотиков клетками кишечника их количество в организме человека должно достигать не менее 10^6 – 10^7 КОЕ/г (КОЕ/мл). При таких концентрациях полезные микроорганизмы оказывают пробиотическое действие, модулируя активность микробиоты кишечника, ингибируя патогены, облегчая желудочно-кишечные расстройства и способствуя повышению иммунитета [8,9].

На сегодняшний день пробиотики можно условно разделить на несколько категорий: лактобактерии, бифидобактерии, стрептококки, энтерококки и сахаромшеты [10,11].

Пробиотики обладают множеством полезных для организма свойств и все чаще исследуются учеными в различных прикладных направлениях [12,13]. Они обладают огромным исследовательским потенциалом и рыночной ценностью. В пищевой индустрии пробиотики в основном используют в производстве кисломолочных продуктов, сыра, вина, уксуса и солений [14]. Однако в качестве функционального ингредиента их добавляют в продукты более широкого ассортимента [15].

Напитки являются одним из наиболее популярных среди населения сегментов продукции, вызывая все больший интерес исследователей как основа для обогащения функциональными ингредиентами. Известны многочисленные разработки напитков с добавлением микро- и макронутриентов, биологически активных веществ, пищевых волокон, экстрактов лекарственных растений [18–20]. При этом ограничен ассортимент сокодержательных фруктовых напитков, обогащенных пробиотиками.

Введение пробиотиков в пищевую матрицу может повысить полезность продуктов питания [21,22]. Однако пробиотики чрезвычайно чувствительны к экстремальным условиям окружающей среды, что существенно ограничивает их жизнеспособность в пищевых продуктах. В процессе выращивания, обработки, консервации и вплоть до конечного использования на активность полезных бактерий влияют многие факторы, такие как значение pH, желудочный сок, соли желчных кислот, температура и др.

Следовательно, для ученых многие годы остается актуальной проблема сохранения активности пробиотиков во время обработки, хранения и потребления обогащенных продуктов питания [23,24].

Для проявления пробиотического эффекта важно, чтобы полезные микроорганизмы достигли кишечника и колонизировали его в достаточном количестве [23]. В последние годы для обеспечения выживаемости пробиотиков после попадания в организм хозяина используют различные технологии инкапсулирования, такие как эмульгирование, экструзия, распылительная и сублимационная сушка, межфазная полимеризация и полимеризация *in-situ* [25,26].

Процесс инкапсулирования пробиотиков основан на создании полимерных систем в форме гидрогелевых матриц и микрокапсул с иммобилизованными микробными клетками [27].

Внутреннее содержимое с активными формами микроорганизмов заключено в капсулы с плотной оболочкой, представляющей собой полупроницаемую мембрану [28].

Микрокапсулы могут решить проблемы слабой жизнеспособности пробиотиков и трудностей с целевым высвобождением, тем самым реализуя пользу пробиотиков для здоровья человеческого организма.

Существует несколько технологий инкапсуляции пробиотиков, рассмотрим подробнее наиболее простые и распространенные.

Метод эмульгирования

Эмульсия — это дисперсная система, обычно включающая две несмешивающиеся фазы (масляную фазу и водную фазу) или многофазную композицию. Метод эмульгирования основан на добавлении дисперсной фазы к большому количеству непрерывных фаз и на гомогенизации смеси до образования однородной системы [29]. Преимущество метода эмульгирования заключается в получении частиц с меньшим размером, однако его недостатком является относительно слабое защитное действие на пробиотики. Объясняется это большим содержанием воды в системе, что крайне неблагоприятно для длительного сохранения пробиотической активности. Кроме того, проблемой является обеспечение стабильности эмульсии при хранении. Флокуляция, коалесценция, слияние, созревание по Оствальду, инверсия фаз и т. д. влияют на стабильность эмульсии и одновременно на свойства продукта [30].

Однако по сравнению с традиционными методами приготовления эмульсий и с используемыми капсульными материалами природные биологические макромолекулы с природными амфипатическими свойствами могут заменить синтетические низкомолекулярные эмульгаторы, тем самым лучше стабилизируя эмульсии «вода/масло». Например, при получении эмульсий «масло/вода» и эмульсий «вода/масло/вода» Qin и др. использовали изолят сывороточного белка (WPI) и (–)-эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG). Ковалентный комплекс WPI-EGCG вводили в качестве эмульгатора при приготовлении эмульсии Пикеринга O/W для капсулирования порошка бактерий *Lactobacillus plantarum*, что значительно повысило сохранность микроорганизмов при хранении [31].

В другом исследовании концентрат сывороточного белка или казеинат натрия использовался в качестве гидрофильного эмульгатора для создания эмульсии Пикеринга S/O/W для улавливания *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 в пектиновую основу. Инкапсулированные *Lactobacillus salivarius* обладали более высокой жизнеспособностью во время обработки, хранения и желудочно-кишечного переваривания [32].

Некоторые ученые использовали эмульсию «вода/масло/вода» в качестве стабильного носителя для доставки пробиотиков при производстве йогурта. В частности, бактерии *Lactobacillus paracasei* DC412 суспендировали в молоке для приготовления эмульсии В/М, содержащей пробиотики во внутренней водной фазе, а затем использовали молоко в качестве внешней водной фазы для приготовления эмульсии «вода/масло/вода» при получении йогурта.

Исследования показали, что *Lactobacillus paracasei*, внедренная в эмульсию «вода/масло/вода», не вызывает значимых изменений основных характеристик йогурта и не влияет на процесс ферментации йогурта, а также значительно повышает эффективность при хранении и воздействует на активность желудочно-кишечного пищеварения *in vitro*.

Также показано, что присутствие полисахаридов во внутренней водной фазе повышает стабильность эмульсий «вода/масло», что в основном связано с гелеобразующими и загущающими свойствами полисахаридов, в определенной степени снижающими агломерацию капель [33].

Капельная технология

Данную технологию также называют методом экструзии. Ученые смешивают пробиотики с подходящим материалом оболочки (обычно с гидрофильным коллоидом) и с помощью шприца или насадки

вводят смесь в сшивающий агент (обычно раствор хлорида кальция). В результате происходят реакции поперечной сшивки с получением микрокапсул. Капельная технология проста в эксплуатации и недорога при приготовлении пробиотических микрокапсул, а процесс обработки является щадящим и исключает использование вредных реагентов, что делает ее широко используемой для инкапсулирования пробиотиков [34].

Наиболее изученным в качестве материала капсульной оболочки является альгинат натрия. Помимо альгината натрия часто используют желатин, каррагинан, пектин или их композиции. На размер, форму, структуру и стабильность сформированных микрокапсул влияет множество факторов, таких как диаметр иглы, расстояние между раствором внедренного материала и раствором хлорида кальция, концентрация и вязкость раствора внедренного материала, а также концентрация раствора хлорида кальция [35]. Авторы Liu и др. использовали рыбий желатин, альгинат натрия в сочетании с ионами кальция и термическую обработку для получения гидрогеля с двойной сеткой. По сравнению со свободными бактериями группы *Bifidobacterium longum*, инкапсулированные бактерии показали лучшую устойчивость в желудочном соке и термостойкость. Авторы связывают этот эффект со свойствами желатина и его концентрацией [36].

В другой серии исследований альгинат натрия и пектин использовались для приготовления гидрогелевых микросфер для инкапсулирования бактерий *Lactobacillus bulgaricus*, которые показали хорошую пищеварительную стабильность. Инкапсулированный пробиотик вводили в йогурты. Исследования продукта, обогащенного пробиотиком, показали улучшение качества, хорошие сенсорные и текстурные свойства йогурта [37].

Silva и др. оценили влияние подсолнечного масла и шеллака в составе микрокапсул из альгината на сохранность бактерий *Lactobacillus acidophilus* LA3. Результаты показали, что присутствие подсолнечного масла может обеспечить дополнительный защитный барьер для *Lactobacillus acidophilus*, а добавление шеллака может уменьшить пористость микрокапсул и улучшить видимую структуру микрокапсул.

Микрокапсулы, полученные путем инкапсулирования *Lactobacillus acidophilus* LA3 в подсолнечном масле и смеси альгината и шеллака, показали хорошую стабильность при хранении и переваривании. После 2 месяцев хранения при температуре 25 °C количество жизнеспособных бактерий уменьшилось всего на 10% от инокулированного количества и составило 7 log КОЕ/г [38].

Описанные исследования показали, что микрокапсулы на основе альгината являются потенциальным способом защиты пробиотиков.

Целью исследований является установление влияния физических и химических факторов на микрокапсулы с пробиотической закваской бифидобактерий в обогащенном сокодержавшем напитке.

2. Объекты и методы

Исследования проводили в лаборатории кафедры биотехнологии и пищевых продуктов.

Объектом исследования являлись инкапсулированные пробиотические микроорганизмы, включенные в состав яблочного сока. В качестве источника бифидобактерий использовали пробиотическую закваску «Бифидо Плюс» («БакЗдрав», Москва, Россия), содержащую 6 штаммов бифидобактерий: *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* ssp. *longum*, *Bifidobacterium longum* ssp. *infantis*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*.

Капсулы получали следующим образом: в подогретой до температуры 39±1 °C дистиллированной воде растворяли закваску бифидобактерий. Параллельно растворяли альгинат натрия в воде (3 г на 100 мл) при постоянном перемешивании на магнитной мешалке Stegler HS (Shanghai Jingke Scientific Instrument Co, Ltd, Китай) при той же температуре воды в течение 30 мин. После получения вязкого раствора альгината натрия в него вводили активизированную в воде закваску (3 г на 100 мл дистиллированной подогретой до 38±1 °C воды) в количестве 10% от массы раствора альгината натрия, при этом начальное количество микроорганизмов составило 1·10⁹ КОЕ/мл. Смесь тщательно перемешивали, затем жидкую диспергированную матрицу стабилизировали в 0,15M растворе хлорида кальция с использованием шприца и иглы диаметром 0,7 мм. Расстояние между поверхностью раствора и иглой — 10 см. Образующиеся капсулы оставляли для отвердевания в растворе хлорида кальция в течение 30 мин, затем извлекали из раствора фильтрацией.

Поставщик реактивов и расходных материалов для лабораторных исследований — ООО «ГРАНАДА» (Москва, Россия) при поставке продукции представил удостоверения (паспорта и или сертификаты) качества.

После получения капсул определяли эффективность инкапсуляции по формуле (1):

$$ЭИ(\%) = \frac{N \cdot M}{N_0} \cdot 100, \quad (1)$$

где N — количество жизнеспособных клеток, высвобожденных из 1,0 г капсул; M — общая масса собранных капсул; N_0 — количество свободных клеток перед капсулированием.

Морфологию полученных капсул определяли под микроскопом «Микмед-5» (АО «Ломо», Россия) при увеличении ×40. Изображение получали через видеоокуляр «Микромед Эврика 1.3 МР» (ООО «Наблюдательные приборы», Россия) с помощью программного обеспечения «Микромед View (ИП Трубников М. В., торговое наименование «Микромед», Россия). Средний диаметр капсул измеряли с помощью программы ImageJ (разработчик Wayne Rasband (NIH), репозиторий: github.com/imagej/ImageJ).

Полученные капсулы вносили в яблочный сок торговой марки «Сады Придонья» (ОАО «Сады Придонья», Россия) с pH 3,82, измеренной с помощью цифрового pH-метра PH-98108 (RCYAGO, Китай), в количестве 10% от массы сока.

Стабильность капсул определяли в разных условиях:

- растворимость в воде: 10 г капсул помещали в 50 мл воды комнатной температуры и выдерживали в течение 1 ч при периодическом перемешивании, затем отфильтровывали не растворившиеся капсулы, обсушивали фильтровальной бумагой и взвешивали. По соотношению масс капсул до и после растворения определяли процент растворимых капсул;
- растворимость при pH, характерных для желудка (1,1–1,6), тонкого (7,8–8,2) и толстого (8,0–8,5) отделов кишечника при выдержке в буферных растворах в течение 15 и 30 мин;
- стабильность капсул в соке при хранении его при температуре 4±1 °C в течение 7, 14, 21 и 28 суток;
- стабильность капсул при тепловой обработке в течение 10, 20 и 30 мин при температурах 75 °C, 85 °C и 98 °C (выбраны с учетом используемых режимов тепловой обработки соков).

Также в процессе хранения сока контролировали количество бифидобактерий, извлеченных из капсул после их механического разрушения с последующим посевом на среду ГМК-1 «Кукурузно-лактозная среда для учета бифидобактерий» (НПЦ «Биокомпас-С», Россия). Подготовленную кукурузно-лактозную среду разливали в пробирку высоким столбиком по 10 см³ («МиниМед», Россия) и стерилизовали в стерилизаторе ПП-10 СПУ («Смоленское СКТБ СПУ», Россия) при 112±1 °C в течение 30 мин. Для посева в среду вносили по 1 см³ подготовленных разведений содержимого капсул в физрастворе («Обновление ПФК», Россия) при интенсивном перемешивании. Пробирки с посевами выдерживали в термостате сузовоздушном ТВ-20-ПЗ-К (Рязанский приборный завод, Россия) при температуре 37±1 °C в течение 72±1 ч. Для подтверждения наличия бифидобактерий готовили мазки из типичных колоний последнего разведения, окрашенные метиленовым голубым (Россия), и микроскопировали на биологическом микроскопе «Микмед-5» (АО «Ломо», Россия) при увеличении ×100.

Каждое измерение проводили трехкратно. Значения вероятности $p \leq 0,05$ приняты для указания статистической значимости. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ и тест Тьюки.

3. Результаты и обсуждение

Физико-химические свойства капсул влияют на жизнеспособность инкапсулированных пробиотических микроорганизмов, поэтому важными параметрами инкапсуляции являются тип и концентрация материала капсулы, размер частиц, инокулированное количество микробных клеток и штаммов бактерий [39,40].

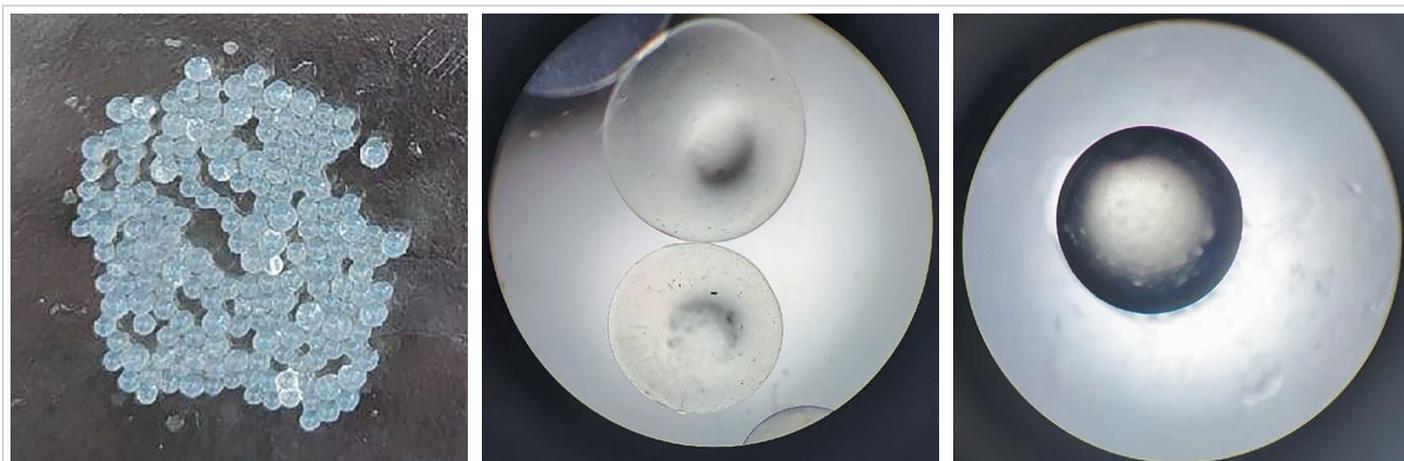
Капсулы должны обеспечить не только защиту клеток от неблагоприятных условий, но и сохранить их жизнеспособность в условиях желудочно-кишечного тракта; быть нерастворимыми в воде и стабильными в пищевой системе [39,41].

Внешний вид капсул представлен на Рисунке 1, а результаты определения их сохранности при разных значениях pH — на Рисунке 2.

Полученные капсулы плотные, мягкие на ощупь, с гладкой поверхностью, сферической формы, со средним диаметром (2,535±0,435) × 10⁻³ м.

Эффективность инкапсуляции составила 87,2%, а количество микроорганизмов в капсулах — 0,9·10⁸ КОЕ/мл.

Как показывают результаты на Рисунке 2, альгинатные капсулы обладают высокой устойчивостью при pH, характерных для разных отделов желудочно-кишечного тракта, в отличие, например, от пектиновых, которые при pH 7,2 полностью растворялись через 30 мин [28].



Вид капсул на темном фоне

Вид капсул под микроскопом при увеличении ×40

Рисунок 1. Внешний вид альгинатных капсул

Figure 1. Appearance of the alginate capsules

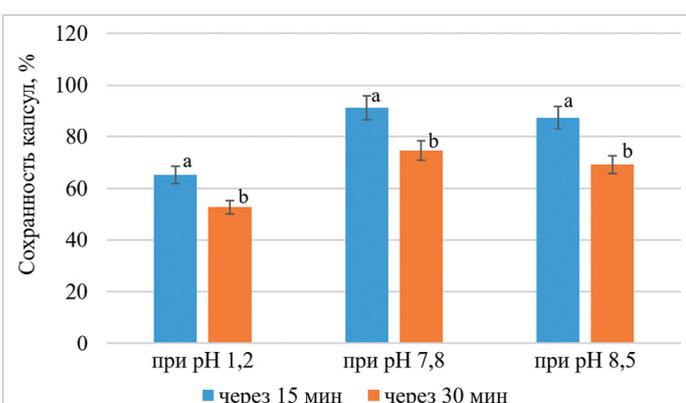


Рисунок 2. Сохранность капсул при выдержке в буферных растворах при разных значениях pH (по отношению к начальному количеству введенных капсул). Данные представляют собой усредненные значения трехкратного повторения (\pm стандартное отклонение); a, b — значения с разными буквами в одном и том же исходном материале различаются при $p \leq 0,05$

Figure 2. Preservation of capsules upon keeping in buffer solutions at different pH values (relative to the initial quantity of the introduced capsules). Data are the average values of triplicate repetition (\pm standard deviation); a, b — values with different letters in the same initial material are different at $p \leq 0,05$

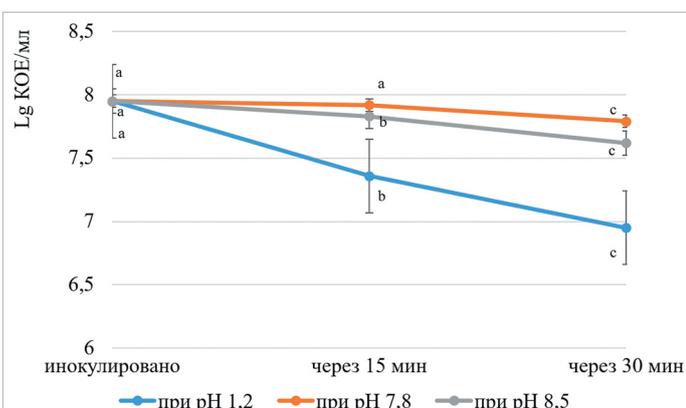


Рисунок 3. Изменение количества бифидобактерий при выдержке капсул в буферных растворах. Данные представляют собой усредненные значения трехкратного повторения (\pm стандартное отклонение); a, b, c — значения с разными буквами в одном и том же исходном материале различаются при $p \leq 0,05$

Figure 3. Changes in the numbers of bifidobacteria upon keeping capsules in buffer solutions. Data are the average values of triplicate repetition (\pm standard deviation); a, b, c — values with different letters in the same initial material are different at $p \leq 0,05$

Пробиотические микроорганизмы наиболее чувствительны к кислой среде желудка [42], поэтому важным является определение не только стойкости капсул в кислой среде, но и выживаемости бактерий.

Результаты количественного определения бифидобактерий в капсулах после выдержки в буферных растворах с разным значением pH приведены на Рисунке 3.

Представленные данные показывают, что после 30 мин в кислой среде количество бактерий снижается на 1,05 Lg КОЕ/мл, что существенно отличается от потерь при выдержке в щелочной среде независимо от уровня pH. Через 30 минут при pH 7,8 и 8,5 снижение количества бактерий было схожим и составило 0,21–0,38 Lg КОЕ/мл.

Потери капсул в кислой среде установлены и зарубежными учеными при исследовании сохранности бактерий *L. Paracasei*, в микрокапсулах количество бактерий снизилось на 1,00 log КОЕ/г при выдержке в растворе с pH 2,0 в течение 3 ч и не изменилось после 3 ч воздействия при pH 3,0 [43].

Многие ученые отмечают лучшую выживаемость пробиотических микроорганизмов в капсулированной форме по сравнению со свободными клетками после прохождения желудочно-кишечного тракта.

Например, группа ученых отметила выживаемость более 80% инкапсулированных хитозаном и альгинатом клеток *L. acidophilus* KVL409 после переваривания [44].

Как упоминалось выше, капсулы должны обеспечить не только выживаемость пробиотических микроорганизмов при прохождении через разные отделы желудочно-кишечного тракта, но и стабильность в выбранной пищевой системе, в том числе при тепловой обработке.

Результаты исследований сохранности/потери капсул в яблочном соке, представленные на Рисунке 4, показывают, что с повышением

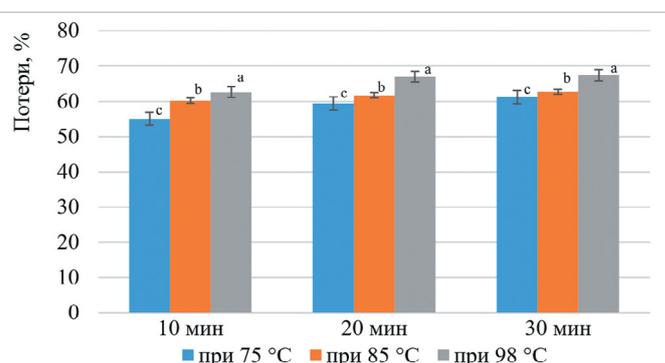


Рисунок 4. Потери капсул в яблочном соке при тепловой обработке (по отношению к начальному количеству введенных капсул). Данные представляют собой усредненные значения трехкратного повторения (\pm стандартное отклонение); a, b, c — значения с разными буквами в образцах при одинаковом времени обработки различаются при $p \leq 0,05$

Figure 4. Losses of capsules in apple juice during heat treatment (relative to the initial quantity of the introduced capsules). Data are the average values of triplicate repetition (\pm standard deviation); a, b, c — values with different letters in the samples upon the same time of treatment are different at $p \leq 0,05$

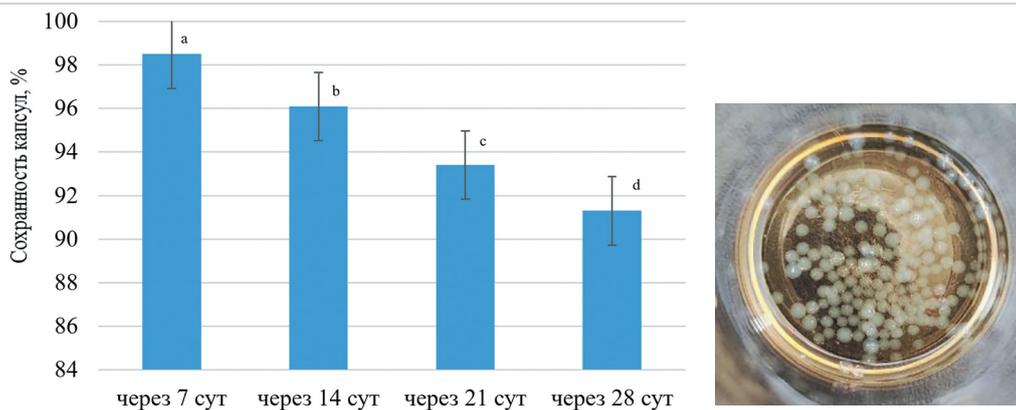


Рисунок 5. Сохранность капсул в яблочном соке при хранении (по отношению к начальному количеству введенных капсул). Данные представляют собой усредненные значения трехкратного повторения (\pm стандартное отклонение); a, b, c — значения с разными буквами в одном и том же исходном материале различаются при $p \leq 0,05$

Figure 5. Preservation of capsules in apple juice during storage (relative to the initial quantity of introduced capsules). Data are the average values of triplicate repetition (\pm standard deviation); a, b, c — values with different letters in the same initial material are different at $p \leq 0.05$

температуры и времени выдержки потери капсул возрастают от 55,01 до 67,42% ($p \leq 0,05$). Данные на Рисунке 5 демонстрируют, что спустя 28 суток потери капсул составили 8,7% от начального количества.

Используя полученные данные, можно спрогнозировать общие потери капсул и пробиотических микроорганизмов в процессе переваривания и хранения продукта и инокулировать необходимое количество для придания продукту пробиотических свойств ($> 6 \log$ КОЕ/мл). В целом можно сказать, что яблочный сок является хорошей пищевой системой для обогащения пробиотическими микроорганизмами, к тому же именно данный вид сока наиболее популярен среди населения [45].

Таким образом, результаты исследований подтвердили эффективность капсул на основе альгината натрия, полученных по описанной технологии, и показали перспективы обогащения напитков на основе сока пробиотическими микроорганизмами.

4. Выводы

Для защиты пробиотических микроорганизмов (бифидобактерий шести штаммов, входящих в состав симбиотической закваски) от неблагоприятных условий при прохождении через желудочно-кишечный тракт и от воздействия среды пищевой системы использовались капсулы на основе альгината натрия.

Исследования стабильности капсул при разных значениях pH, характерных для разных отделов желудочно-кишечного тракта, по-

казали, что наибольший разрушающий эффект наблюдается в желудке при кислой среде, где потери составили 47,4% через 30 мин. Потери капсул при pH, характерных для разных отделов кишечника, составили от 25,3 до 30,9%. Менее агрессивной средой для капсул оказалась выбранная пищевая система — яблочный сок, в которой разрушение капсул через 28 суток хранения составило 8,7%. Однако следует учитывать потери капсул при выбранных режимах пастеризации сока, которые составили от 55,01% (при обработке в течение 10 мин при 75 °C) до 67,42% (при обработке сока в течение 30 мин при 98 °C) ($p \leq 0,05$).

Используя данные проведенных исследований, можно спрогнозировать общие потери капсул и заключенных в них пробиотических микроорганизмов в процессе переваривания и хранения продукта. Это позволит инокулировать необходимое количество микроорганизмов для проведения комплексного исследования, учитывающего последовательное переваривание, термообработку и хранение в составе продукта. Такой подход обеспечит гарантию сохранности пробиотических свойств в готовом продукте.

В будущем возможно проведение более глубоких исследований относительно отдельных штаммов пробиотических микроорганизмов. Также возможно разнообразить органолептические свойства соковой продукции, сочетая разные вкусоароматические основы как самих капсул, так и обогащаемой пищевой системы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК \ REFERENCES

1. Кобелькова, И. В., Коростелева, М. М., Кобелькова, М. С. (2021). Роль высокобелковых специализированных пищевых продуктов в повышении адаптационного потенциала спортсменов. *Клиническое питание и метаболизм*, 2(2), 92–99. [Kobelkova, I. V., Korosteleva, M. M., Kobelkova, M. S. (2021). The role of high-protein specialized food in increasing the adaptive athletes' potential. *Clinical Nutrition and Metabolism*, 2(2), 92–99. (In Russian)] <https://doi.org/10.17816/clinutr81572>
2. Chernopolskaya, N., Gavrilova, N., Rebezov, M., Dolmatova, I., Zaitseva, T., Somova, Y. et al. (2019). Biotechnology of specialized product for sports nutrition. *International Journal of Engineering and Advanced Technology*, 8(4), 40–45.
3. Kulushtayeva, B., Rebezov, M., Igenbayev, A., Kichko, Y., Burakovskaya, N., Kulakov, V. et al. (2019). Gluten-free diet: Positive and negative effect on human health. *Indian Journal of Public Health Research and Development*, 10(7), 889–892. <https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.01690.5>
4. Zinina, O., Merenkova, S., Tazeddinova, D., Rebezov, M., Stuart, M., Okuskhanova, E. et al. (2019). Enrichment of meat products with dietary fibers: A review. *Agronomy Research*, 17(4), 1808–1822. <https://doi.org/10.15159/ar.19.163>
5. Gavrilova, N., Chernopolskaya, N., Molyboga, E., Shipkova, K., Dolmatova, I., Demidova, V. et al. (2019). Biotechnology application in production of specialized dairy products using probiotic cultures immobilization. *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering (IJITEE)*, 8(6), 642–648. <https://elibrary.ru/PYDNOH>
6. FAO/WHO (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Retrieved from <https://www.iqb.es/digestivo/pdfs/probioticos.pdf> Accessed 24.07.2024
7. Galdeano, C. M., Cazorla, S. I., Dumit, J. M. L., Vélez, E., Perdígón, G. (2019). Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 74(2), 115–124. <https://doi.org/10.1159/000496426>
8. Vasiljevic, T., Shah, N. P. (2008). Probiotics — from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18(7), 714–728. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>
9. Jayamanne, V. S., Adams, M. R. (2006). Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts. *Letters in Applied Microbiology*, 42(3), 189–194.
10. Khalighi, A., Behdani, R., Kouhestani, S. (2016). Probiotics: A comprehensive review of their classification, mode of action and role in human nutrition. InTech, 2016. <https://doi.org/10.5772/63646>
11. Lahiri, D., Nag, M., Sarkar, T., Ray, R.R., Shariati, M.A., Rebezov, M. et al. (2022). Lactic Acid Bacteria (LAB): Autochthonous and probiotic microbes for meat preservation and fortification. *Foods*, 11(18), 2792. <https://doi.org/10.3390/foods11182792>
12. Ahsan, S., Khalig, A., Chughtai, M. F. J., Nadeem, M., Tahir, A. B., Din, A. A. et al. (2022). Technofunctional quality assessment of soymilk fermented with *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69, 172–182. <https://doi.org/10.1002/bab.2094>
13. Lantushenko, E., Filipkina, N., Dolgolyuk, I., Starovoitova, K., Tereshchuk, L., Kozlova, O. (April 18-20, 2022). Study of properties of bacterial concentrates of lactic acid microorganisms. AIP Conference Proceedings: International Conference “Sustainable Development: Veterinary Medicine, Agriculture, Engineering and Ecology” (VMAEE2022), Moscow, Russia, 020068. <https://doi.org/10.1063/5.0148295>. <https://elibrary.ru/VEJWPPZ>
14. Богданова, Ю. И., Насонова, В. В. (2021). Применение пробиотиков при производстве пищевой продукции. *Все о мясе*, 4, 26–29. [Bogdanova, Yu. I., Nasonova, V. V. (2021). Use of probiotics in food production. *Vsyo o Myase*, 4, 26–29. (In Russian)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2021-4-26-29>
15. Зарубин, Н. Ю., Лаврухина, Е. В., Бредихина, О. В., Гриневиц, А. И., Архипов, Л. О. (2023). Пробиотические пищевые рыбные продукты: роль в рационе питания и способ получения методом биотехнологии. *Пищевая промышленность*, (11), 67–71. [Zarubin, N. Yu., Lavrukhina, E. V., Bredikhina, O. V., Grinevich, A. I., Arkhipov, L. O. (2023). Probiotic fish food products: The role in the diet and the method of obtaining by biotechnology. *Food Industry*, 11, 67–71. (In Russian)] <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.11.11.014>
16. Popova, N. V., Kameneva, K. S., Vasiliev, A. K. (2024). Intensification of the production of a plant-based probiotic drink. International scientific and practical confer-

- ence “From modernization to rapid development: Ensuring competitiveness and scientific leadership of the agro-industrial complex” (IDSISA 2024). Ekaterinburg, Russian Federation, 2024. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202410802013>
17. Ферзаули, А. И., Мугу, И. Г., Лунина, Л. В., Тазова, З. Т. (2019). Анализ зарубежного опыта производства функциональных напитков. *Новые технологии*, 1, 198–207. [Ferzauli, A. I., Mughu, I. G., Lunina, L. V., Tazova, Z. T. (2019). Analysis of foreign experience in functional drinks production. *New Technologies*, 1(47), 198–207. (In Russian)] <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10120>
 18. Aliyev, Sh., Khalilov, M., Saidov, R. (2022). Study of the pectin-based beverage preparation technology from fruits and vegetables grown in Azerbaijan. *Bulletin of Science and Practice*, 8(4), 242–250. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/77/30>
 19. Nguyen, Q. V., Le, D. Ph., Nguyen, M. T., Tran, T. Ye. N., Le, D. T. (2022). Developing a herbal drink from green asparagus (*Asparagus Officinalis* L.): Effect of process parameters on the quality of the product. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(4), 640–648. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2393>
 20. Arruda, H. S., Silva, E. K., Pastore, G. M., Marostica Junior, M. R. (2023). Non-thermal supercritical carbon dioxide processing retains the quality parameters and improves the kinetic stability of an araticum beverage enriched with inulin-type dietary fibers. *Foods*, 12(15), Article 2595. <https://doi.org/10.3390/foods12132595>
 21. Zinov'eva, M. E., Shnaider, K. L., Zaripova, S. K. (June 17–18, 2021). *Technology of probiotic beverage production based on juice*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. V International Workshop on Innovations in Agro and Food Technologies (WIAFT-V-2021). Volgograd, Russian Federation, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/848/1/012011>
 22. Smotraeva, I. V., Gargalyk, A. S., Balanov, P. E., Ivanchenko, O. B., Kuznetsova, T. A. (November 18–20, 2020). *Development of probiotic drink production technology with the addition of citrus juice*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IV International Scientific Conference: AGRITECH-IV-2020: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk, Russian Federation, 2020. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032044>
 23. Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., Kopsaheilis, N. (2019). Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, 11(7), Article 1591. <https://doi.org/10.3390/nu11071591>
 24. Сомов, А. Н., Похиленко, В. Д., Дунайцев, И. А., Клыкова, М. В., Чукина, И. А. (2022). Капсулированные в альгинат пробиотики: получение и некоторые свойства. *Биотехнология*, 5(38), 44–52. [Somov, A. N., Pokhilenko, V. D., Dunaitsev, I. A., Klykova, M. V., Chukina, I. A. (2022). Alginate-encapsulated probiotics: Preparation and some properties. *Biotechnology*, 5(38), 44–52. (In Russian)] <https://doi.org/10.56304/S0254275822050131>
 25. Choudhury, N., Meghwal, M., Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426–442. <https://doi.org/10.1002/fft.2.94>
 26. Попов, В. Г., Аксентьева, В. В. (2023). Проектирование комплексных пищевых добавок в виде микрокапсулированных синбиотиков. *Ползуновский вестник*, 4, 54–61. [Popov, V. G., Aksentyeva, V. V. (2023). Design of complex food supplements in the form of microcapsulated synbiotics. *Polzunovskiy Vestnik*, 4, 54–61. (In Russian)] <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2023.04.007>
 27. Voblikova, T., Laricheva, K. (2023). Bifidobacteria encapsulation and viability of probiotic culture during oral delivery in a milk drink matrix. *International Journal of Food Science*, 2023, Article 8484835. <https://doi.org/10.1155/2023/8484835>
 28. Какимов, А. К., Какимова, Ж. Х., Белеева, А. Е. (8–9 декабря 2016). *Получение инкапсулированных пробиотиков*. 19-я международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. Москва: ВНИИМП, 2016. [Kakimov, A. K., Kakimova, Zh. Kh., Beveeva, A. E. (December 8–9, 2016). *Production of encapsulated probiotics*. 19th International scientific and practical conference dedicated to the memory of Vasily Matveyevich Gorbatov Moscow: VNIIMP, 2016. (In Russian)]
 29. Kumar, A., Kaur, R., Kumar, R., Kumar, S., Gehlot, R., Aggarwal, P. (2022). New insights into water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsions: Properties, fabrication, instability mechanism, and food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 128, 22–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.016>
 30. Angardi, V., Etehad, A., Yücel, Ö. (2022). Critical review of emulsion stability and characterization techniques in oil processing. *Journal of Energy Resources Technology*, 144(4), Article 040801. <https://doi.org/10.1115/1.4051571>
 31. Qin, X. S., Gao, Q. Y., Luo, Z. G. (2021). Enhancing the storage and gastrointestinal passage viability of probiotic powder (*Lactobacillus Plantarum*) through encapsulation with pickering high internal phase emulsions stabilized with WPI-EGCG covalent conjugate nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 116, Article 106658. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106658>
 32. Zhang, Y., Lin, J., Zhong, Q. (2015). The increased viability of probiotic *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 encapsulated in emulsions with multiple lipid-protein-pectin layers. *Food Research International*, 71, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.02.017>
 33. Wang, M., Yan, W., Zhou, Y., Fan, L., Liu, Y., Li, J. (2021). Progress in the application of lecithins in water-in-oil emulsions. *Trends in Food Science and Technology*, 118, 388–398. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.019>
 34. Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., Morales, M. E. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.010>
 35. Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., Kailasapathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62(1–2), 47–55. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00380-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00380-9)
 36. Liu, J., Liu, F., Ren, T., Wang, J., Yang, M., Yao, Y., Chen, H. (2021). Fabrication of fish gelatin/sodium alginate double network gels for encapsulation of probiotics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), 4398–4408. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11081>
 37. Hu, X., Liu, C., Zhang, H., Hossen, M. A., Sameen, D. E., Dai, J. et al. (2021). *In vitro* digestion of sodium alginate/pectin co-encapsulated *Lactobacillus bulgaricus* and its application in yogurt bilayer beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1050–1058. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.076>
 38. Silva, M. P., Tulin, F. L., Martins, E., Penning, M., Favaro-Trindade, C. S., Poncellet, D. (2018). Comparison of extrusion and co-extrusion encapsulation techniques to protect *Lactobacillus acidophilus* LA3 in simulated gastrointestinal fluids. *LWT*, 89, 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.008>
 39. Yang, S., Wei, S., Wu, Y., Fang, Y., Deng, Z., Xu, J. et al. (2024). Encapsulation techniques, action mechanisms, and evaluation models of probiotics: Recent advances and future prospects. *Food Frontiers*, 5, 1212–1239. <https://doi.org/10.1002/fft.2.374>
 40. Касымов, И. Д., Марченко, А. Л., Басевич, А. В., Валева, М. Е. (2023). Влияние параметров технологического процесса на микрокапсулирование субстанций с неудовлетворительными технологическими свойствами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*, 12(4), 146–154. [Kasymov, I. D., Marchenko, A. L., Basevich, A. V., Valeeva, M. E. (2023). Influence of technological process parameters on microcapsulation of substances with unsatisfactory technological properties. *Drug Development and Registration*, 12(4), 146–154. (In Russian)] <https://doi.org/10.53380/2305-2066-2023-12-4-1574>
 41. Rojas-Muñoz, Y. V., Santagapita, P. R., Quintanilla-Carvajal, M. X. (2023). Probiotic encapsulation: Bead design improves bacterial performance during *in vitro* digestion. *Polymers*, 15(21), Article 4296. <https://doi.org/10.3390/polym15214296>
 42. Bepeyeva, A., de Barros, J. M. S., Albadran, H., Kakimov, A. K., Kakimova, Z. K., Charalampopoulos, D. (2017). Encapsulation of *Lactobacillus casei* into calcium pectinatechitosan beads for enteric delivery. *Journal of Food Science*, 82(12), 2954–2959. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13974>
 43. Sekhavitazadeh, S. S., Yaghoobpour, T. (2023). Evaluation of physicochemical properties of *Lactobacillus acidophilus* cells encapsulated with sodium alginate and Balangu seed mucilage. *Innovative Food Technologies*, 11(1), 11–24. <https://doi.org/10.22104/IFT.2023.5978.2127>
 44. Lee, Y., Ji, Y. R., Lee, S., Choi, M. J., Cho, Y. (2019). Microencapsulation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* kbl409 by extrusion technology to enhance survival under simulated intestinal and freeze-drying conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 721–730. <https://doi.org/10.4014/jmb.1903.03018>
 45. Воробьев, В. И., Нижникова, Е. В. (2021). Переработка кислых яблочных соков, способствующая импортозамещению сокодержательной продукции. *Известия КГТУ*, 61, 53–63. [Vorobyov V. I., Nizhnikova E. V. Processing of acid apple juices promoting import substitution of juice-containing products. *KSTU News*, 61, 53–63. (In Russian)]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Неверова Ольга Петровна — кандидат биологических наук, заведующая кафедрой биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет
620000, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42
Тел.: +7-912-634-94-62
E-mail: opneverova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2474-2290>

Зинина Оксана Владимировна — доктор технических наук, доцент, кафедра биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет
620000, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42
Тел.: +7-906-871-36-81
E-mail: zinoks-vl@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4817-1645>
* автор для контактов

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Olga P. Neverova, Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of Biotechnology and Food Products, Ural State Agrarian University
42, Karl Liebknecht str. Ekaterinburg, 620000, Russia
Tel.: +7-912-634-94-62
E-mail: opneverova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2474-2290>

Oksana V. Zinina, Doctor of Technical Sciences, Docent, Department of Biotechnology and Food Products, Ural State Agrarian University
42, Karl Liebknecht str. Ekaterinburg, 620000, Russia
Tel.: +7-906-871-36-81
E-mail: zinoks-vl@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4817-1645>
* corresponding author

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Ли Чунь — профессор, доктор продовольственных наук, Колледж пищевых наук, Школа питания, Северо-Восточный сельскохозяйственный университет 150030, Китай, Хэйлунцзян, Харбин, район Сяньфан, Чанцзян Роуд, 600 Тел.: +86-0451-55-19-18-04 E-mail: lchun@neau.edu.cn ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1603-7222</p>	<p>Chun Li, Professor, Doctor of Food Science, College of Food Science, School of Food, Northeast Agricultural University, 600 Changjiang Road, Xiangfang District, Harbin, Heilongjiang Province, 150030, China Tel.: +86-0451-55-19-18-04 E-mail: lchun@neau.edu.cn ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1603-7222</p>
<p>Лян Чжицянь — кандидат в докторантуру, Колледж пищевых наук, Северо-Восточный сельскохозяйственный университет 150030, Китай, Хэйлунцзян, Харбин, район Сяньфан, Чанцзян Роуд, 600 Тел.: +86-198-46-11-03-74 E-mail: liangzq1996@126.com</p>	<p>Zhiqiang Liang, Doctoral Candidate, College of Food Science, Northeast Agricultural University 600 Changjiang Road, Xiangfang District, Harbin City, Heilongjiang Province, 150030, China Tel.: +86-198-46-11-03-74 E-mail: liangzq1996@126.com</p>
<p>Ребезов Максим Борисович — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. им. Талалихина, 26 Тел.: +7-999-900-23-65 E-mail: rebezov@ya.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0857-5143</p>	<p>Maksim B. Rebezov, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., Moscow, 109316, Russia Tel.: +7-999-900-23-65 E-mail: rebezov@ya.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0857-5143</p>
<p>Вишнякова Елена Александровна — студент, лаборант, Управление научной и инновационной деятельности, Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет) 454080, Россия, Челябинск, пр. им. Ленина, 76 Тел.: +7-912-772-15-61 E-mail: l.vishny@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8557-9239</p>	<p>Elena A. Vishnyakova, Student, Laboratory Assistant, Department of Scientific and Innovative Activities, South Ural State University (National Research University) 76 Lenin Av., Chelyabinsk, 454080, Russia Tel.: +7-912-772-15-61 E-mail: l.vishny@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8557-9239</p>
<p>Барыкина Екатерина Сергеевна — студент кафедры биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет 620000, Екатеринбург, ул. им. Карла Либкнехта, 42 Тел.: +7-919-389-97-01 E-mail: barykina_10@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0006-0355-4502</p>	<p>Ekaterina S. Barykina, Student, Department of Biotechnology and Food Products, Ural State Agrarian University 42, Karl Liebknecht str. Ekaterinburg, 620000, Russia Tel.: +7-919-389-97-01 E-mail: barykina_10@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0009-0006-0355-4502</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Концептуализация — Зинина О. В. и Неверова О. П.; Методология — Зинина О. В. и Ребезов М. Б.; Исследование — Вишнякова Е. А., Барыкина Е. С. и Лян Ч.; Обработка и анализ данных — Зинина О. В. и Ли Ч.; Написание статьи и редактирование — Зинина О. В., Ребезов М. Б., Неверова О. П. и Ли Чунь. Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p>	<p>Conceptualization — Oksana V. Zinina and Olga P. Neverova; Methodology — Oksana V. Zinina and Maksim B. Rebezov; Investigation — Elena A. Vishnyakova, Ekaterina S. Barykina and Zhiqiang Liang Data curation and analysis — Oksana V. Zinina and Chun Li; Writing-article and editing — Oksana V. Zinina, Maksim B. Rebezov, Olga P. Neverova and Chun Li. Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-605-611>



Received 16.08.2024

Accepted in revised 22.12.2024

Accepted for publication 25.12.2024

© Elsayed N., Elkashef H., Ali S. R., 2024

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

Original scientific article

Open access

LASER IRRADIATION AND POMEGRANATE PEEL FOR PRESERVATION OF THE STRAWBERRY QUALITY

Nesren Elsayed^{1,*}, Hany Elkashef², Shaimaa R. Ali³

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

²Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

³National Institute of Laser Enhanced Sciences (NILES), Cairo University, Giza, Egypt

KEY WORDS:
laser, coating,
fruit waste,
chitosan, shelf life

ABSTRACT

The present study is aimed to explore the influence of laser irradiation and coating with chitosan and pomegranate peel extract on the physico-chemical properties, weight loss, firmness, functional, microbiological, color, and sensory characteristics of strawberry for fifteen days of cold storage. Four treatments of strawberry were conducted with laser irradiation for 6 min. The second, third, and fourth groups were coated with chitosan, pomegranate peel extract (PPE), and mixture of chitosan and PPE at ratio 1:1. Compared to untreated strawberries, the exposure to laser radiation decreased the weight loss of strawberries by 43.44%. Also, the laser irradiation reduced the negative effect of storage on the total phenolic content, anthocyanin, ascorbic acid, and antioxidant ability of strawberry. The exposure of strawberry to laser irradiation reduced the counts of fungi and psychrotrophic bacteria and provided the positive effect on the color and sensory attributes. The coating with PPE and chitosan enhanced the positive effect of laser irradiation on the functional and quality properties of strawberry during its cold storage. It can be concluded that laser irradiation and coating with PPE may be applied as novel techniques for the preservation of strawberry properties during its storage period.

Поступила 16.08.2024

Поступила после рецензирования 22.12.2024

Принята в печать 25.12.2024

© Эльсайед Н., Элькашиф Х., Али С. Р., 2024

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

Научная статья

Open access

ЛАЗЕРНОЕ ОБЛУЧЕНИЕ И КОЖУРА ГРАНАТА ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ КАЧЕСТВА КЛУБНИКИ

Эльсайед Н.^{1,*}, Элькашиф Х.², Али С.Р.³

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

²Кафедра науки о молоке, Сельскохозяйственный факультет, Каирский университет, Гиза, Египет

³Национальный институт лазерных технологий (NILES), Каирский университет, Гиза, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

лазерное облучение,
покрытие,
фруктовые отходы,
хитозан,
срок годности

Настоящее исследование направлено на изучение влияния лазерного облучения и нанесение покрытия из хитозана и экстракта кожуры граната на физико-химические свойства, потерю веса, упругость, функциональные, микробиологические, цветовые и органолептические характеристики ягод клубники в течение пятнадцати дней хранения в холодном режиме. Было проведено четыре обработки клубники лазерным облучением в течение 6 минут. Вторая, третья и четвертая группы были покрыты хитозаном, экстрактом кожуры граната (ЭКГ), и смесью хитозана и ЭКГ в соотношении 1:1. По сравнению с необработанной клубникой воздействие лазерного облучения снизило потерю веса клубники на 43,44%. Кроме того, лазерное облучение снизило отрицательное влияние хранения на общее содержание фенолов, антоцианов, аскорбиновой кислоты и антиоксидантные свойства клубники. Воздействие лазерного облучения на клубнику снизило количество грибков и психротрофных бактерий, и продемонстрировало положительное влияние на цвет и органолептические свойства. Покрытием ЭКГ и хитозаном усилило положительное влияние лазерного облучения на функциональные и качественные свойства клубники при ее хранении в холодных условиях. Можно сделать вывод, что лазерное облучение и покрытие ЭКГ могут применяться как новые технологии для сохранения свойств клубники в период ее хранения.

1. Introduction

The quality characteristics of vegetables, fruits, and food products through stages of their processing starting from postharvest to their marketing can be influenced by various essential and extraneous factors related to the kind of food. One of the most crucial factors that affect the quality of food products is packaging where it protects and prevents food from rapid damage and guarantees a high-quality food product for human consumption. Due to harmful impacts of synthetic packaging materials on the environment and food quality, and the increased health awareness of the consumers, the strive for edible, biodegradable, eco-friendly, and active packaging materials is growing [1,2].

Numerous types of biodegradable and eco-friendly materials including those based on proteins, polysaccharides, and lipids are applied for the development of edible food coating or films. One of these materials is chitosan which is acknowledged as a natural acidic soluble and nontoxic biopolymer. It is derived from chitin by deacetylation reaction, and it is

utilized extensively in the pharmaceutical and food industries because of its convenient physico-chemical and functional properties. Using chitosan in preparation of edible coatings improves cohesiveness and adhesiveness, and provides a smooth surface for food products [3]. Fruits or vegetables byproducts are one of the most crucial of food wastes that present most considerable challenges which share contributes to about 50% of total food waste [4]. These byproducts comprise leaves, seeds, pulp, peels, stems, and bran which are discarded during various processing treatments of the final food products. These byproducts provide negative effects on the social and economic sectors and cause environmental pollution. Hence, the significance of finding an alternative use for these byproducts is very important [5]. Pomegranate peel is considered to be the main pomegranate waste as it represents about 48–50% waste material of the total pomegranate fruit. Several studies affirmed that pomegranate peel has greater biofunctions including antimicrobial and antioxidant activity compared to other parts of the pomegranate.

FOR CITATION: Elsayed, N., Elkashef, H., Ali S. R. (2024). Laser irradiation and pomegranate peel for preservation of the strawberry quality. *Food Systems*, 7(4), 605–611. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-605-611>

Для ЦИТИРОВАНИЯ: Эльсайед, Н., Элькашиф, Х., Али, С. Р. (2024). Лазерное облучение и кожура граната для сохранения качества клубники. *Пищевые системы*, 7(4), 605–611. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-605-611>

These biofunctions may be attributed to their content of phenolic components, and tannins [6,7].

The disadvantages of traditional methods for protection of food safety and quality characteristics including destruction of bioactive molecules encourage the researchers to develop the modern techniques characterized by eco-friendly, easier to operate, non-noxious, economically efficient, more sustainable, accurate and faster [8]. Among the modern non-destructive methods, using laser irradiation is an effective, promising, and contactless method that features different positive properties compared to traditional methods [9]. Laser is described as a nonionizing radiation, consistent and monochromatic light. Laser irradiation motivates the bio-stimulation process in various microorganisms through its adsorption by their photoreceptors, inhibiting their growth [10]. The bio-stimulation impact of laser irradiation relies on time of exposure, wavelength, and intensity [11]. However, few studies have examined the positive impacts of laser irradiation on the fruit quality properties as a surface disinfection technique to extend shelf life.

Strawberry fruit is a type of berries that belongs to genus *Fragaria* in the *Rosaceae* family. It is a rich source of various nutritive and bioactive components including minerals, vitamins, and minor compounds such as folate, fatty acids, and dietary fibers. Proanthocyanidins, anthocyanins, flavanols, and ellagitannins are the main phenolic components in strawberry [12,13]. Regarding health effects, strawberry fruit has a valid preventative role against various diseases such as diabetes, cardiovascular, and cancer [14]. During storage, the elevated respiration rate and metabolic capacity stimulate a decline of the phenolic components; thus resulting in browning. Also, because of physiological impairment, mechanical damage, moisture loss, and fungal growth, comparatively high postharvest waste has occurred [15]. Therefore, this study was designed to investigate the effect of laser irradiation and coating with chitosan and pomegranate peel extract on the functional and quality properties of strawberry during its cold storage.

2. Materials and methods

Fresh strawberry samples were purchased from a local market in Egypt. Strawberries were selected regular in size, and free from fungal decay or mechanical damages. In the laboratory, strawberry samples were washed with tap water without any damage.

2.1. Chitosan and pomegranate peel extract (PPE) coating

Chitosan solution was prepared by mixing chitosan (0.5% w/v), ascorbic acid (1%), and water by stirring at 25 °C for 90 min until the chitosan powder was perfectly dissolved. The pomegranate peels were dehydrated at 40 °C, and then the dehydrated peels were milled to powder with particles able to pass through a 50-mesh sieve. About 200 g of pomegranate peel powder was extracted by ethanol 80% at a ratio of 1:20 (w/v) using a homogenizer for 30 min. The extract was filtered through a filter paper (Whatman No. 1). A rotary evaporator was used to concentrate the filtrate at 40 °C, and the concentrate was lyophilized and stored at 4 °C before coating application.

2.2. Laser irradiation treatment

Strawberry samples were divided into five groups, and the first group served as control group. The other four groups were treated by a helium-neon (He-Ne) laser (Model of 05- LHP 151, Input current 220AC of Amp, manufactured in USA) at 632.8 nm for 6 min in a dark chamber. The distance between strawberry fruits and laser source accounted for 20 cm, and the light intensity downfall on strawberries surface was 1.3 W/cm². The third group was dipped into the coating solution of chitosan, while the fourth group was dipped into the coating solution of pomegranate peel extract 2%. The fifth group was dipped into the coating solution of mixture of chitosan and pomegranate peel extract at ratio 1:1. The dipping process was performed for 2 min and the excess of the immersion solutions was drained off for 5 min. After that, the strawberries were placed into polypropylene packages and thermally sealed by a stretch film before putting to storage at 4–6 °C and 80% RH. Strawberry treatments were analyzed at the first day of laser irradiation and coating, after 5, 10, and 15 days.

2.3. Physico-chemical properties

The strawberry fruits were grinded in a mixer and total soluble solids (TSS) of juice extracts were measured using a digital refractometer PR101 Palette, (Atago, Japan). Ten milliliters of juice were titrated with 0.1N NaOH in the presence of phenolphthalein as an indicator, and the titratable acidity (%) was determined as the percentage of citric acid.

2.4. Weight loss

The weight loss of strawberries was estimated as percentage of weight decrease according to Hammad et al. [16].

2.5. Firmness

The firmness of strawberry samples was determined by rate of force (Force Gauge Model M4–200, Electromatic Equipment Co., Inc., USA). The firmness was expressed in Newton (N) according to Zambrano-Zaragoza et al. [17].

2.6. Functional attributes

Antioxidant, total phenolic, total anthocyanins, and ascorbic acid values of strawberry samples were determined according to Elsayed et al. [18], AOAC [19], Tonutare et al. [20], respectively.

2.7. Microbiological examination

The counts of total molds and yeasts and psychrotrophic bacteria were enumerated using potato dextrose agar (PDA) and nutrient agar, respectively, by counting colony forming unit (Log CFU/g) after plating serial dilutions according to APHA [21].

2.8. Color analysis

The color of strawberries was determined by a chromameter Minolta CR-400 (Minolta. Inc., Tokyo, Japan) utilizing the CIE color properties L* (Lightness), +a* (Redness), chroma (C*), and hue angle as described by Pilon et al. [22].

2.9. Sensory evaluation

Ten panelists from the staff members of the Food science department, Faculty of Agriculture, Cairo University volunteered. A quality rating scorecard was used for the evaluation of treated strawberry for taste, odor, texture, and overall acceptability. Based on their preference and liking, panelists were required to classify the samples on a ten-point hedonic scale; 1 = unacceptable, and 10 = very much like.

2.10. Statistical analysis

All parameters were analyzed in three replications for each parameter. Results were expressed as the mean ± standard deviation (SD). Statistical analysis was performed using XLSTAT software (USA). Significant differences ($p < 0.05$) between means were determined by Tukey's test.

3. Results and discussion

3.1. Physico-chemical properties

At harvest, total soluble solids (TSS) ranged from 11.80±0.75 to 12.50±0.70 without significant variation, while acidity was approximately 0.65% (Table 1). After 15 days of cold storage, TSS values significantly decreased in control sample, while it significantly increased in treated group 2 (strawberry treated with laser irradiation for 6 min), 3 (strawberry treated with laser irradiation for 6 min and coated with chitosan), 4 (strawberry treated with laser irradiation and coated with pomegranate peel extract (PPE)), and 5 (strawberry treated with laser irradiation

Table 1. Total soluble solids (TSS) and acidity (%) of strawberry treated with laser irradiation and coated with chitosan and pomegranate peel extract

Таблица 1. Общее содержание растворимых сухих веществ (TSS) и кислотность (%) клубники, обработанной лазерным излучением и покрытой хитозаном и экстрактом кожуры граната

Treatments	TSS (Means ± SD)			
	Storage period (Day)			
	0	5	10	15
Treatment 1	12.5 ± 0.70 ^{cd}	8.50 ± 0.40 ^h	9.20 ± 0.32 ^{gh}	10.1 ± 0.28 ^{fg}
Treatment 2	11.8 ± 0.75 ^{de}	9.60 ± 1.31 ^{gh}	13.3 ± 0.50 ^{bc}	15.0 ± 0.90 ^a
Treatment 3	12.4 ± 0.64 ^{cd}	9.90 ± 0.70 ^{fg}	11.2 ± 0.33 ^{ef}	14.0 ± 0.80 ^{ab}
Treatment 4	12.3 ± 0.65 ^{cd}	11.5 ± 0.51 ^e	11.7 ± 0.57 ^{de}	13.2 ± 0.62 ^{bc}
Treatment 5	12.1 ± 0.50 ^{cd}	11.9 ± 0.95 ^{de}	12.8 ± 0.96 ^{bcd}	12.1 ± 0.22 ^{cd}
Treatments	Acidity (Means ± SD)			
	Storage period (Day)			
	0	5	10	15
Treatment 1	0.62 ± 0.03 ^e	0.95 ± 0.03 ^{de}	1.74 ± 0.05 ^c	3.25 ± 0.56 ^a
Treatment 2	0.65 ± 0.01 ^e	0.86 ± 0.04 ^{de}	0.92 ± 0.05 ^{de}	2.17 ± 0.20 ^b
Treatment 3	0.66 ± 0.02 ^e	0.83 ± 0.02 ^{de}	0.90 ± 0.01 ^{de}	1.10 ± 0.1 ^d
Treatment 4	0.65 ± 0.01 ^e	0.71 ± 0.01 ^{de}	0.80 ± 0.01 ^{de}	0.87 ± 0.02 ^{de}
Treatment 5	0.64 ± 0.005 ^e	0.68 ± 0.005 ^{de}	0.72 ± 0.005 ^{de}	0.77 ± 0.02 ^{de}

Means with different superscript letters differ significantly.

Treatment 1: untreated strawberry; treatment 2: strawberry irradiated with laser; treatment 3: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan; treatment 4: strawberry irradiated with laser and coated with pomegranate peel extract, and treatment 5: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan + pomegranate peel extract.

and coated with chitosan and PPE). These results are in agreement with Tanada-Palmu et al. [23], who reported that the increase of TSS may be due to loss of excessive water from strawberries. Also, Hernández-Muñoz et al. [24] attributed the increase in TSS to the solubilization of the cell wall polyuronides and hemicelluloses in ripe strawberry. Regarding titratable acidity (TA) of strawberry, there was a significant increase in all treatments except treatments 3 and 4 where TA values were not affected by storage period. The increase in TA value may be attributed to the loss of water content where TA is estimated as a proportion of citric acid of fresh strawberry. Our results are in agreement with those of Ali et al. [25].

3.2. Weight loss and firmness

As shown in Figure 1, uncoated strawberry (control treatment) had the highest weight loss of 77.67% after 15 days of storage. The strawberry samples exposed to laser irradiation for 6 min then coated with chitosan and PPE reliably exhibited the lowest weight loss value (14.85%). The laser irradiation for 6 min and coating with pomegranate peel extract was more effective in preventing weight loss and significant decreasing weight loss by 27.56% compared to that of strawberry coated with chitosan. As expected, the firmness of strawberry samples had the opposite trend. During storage period, the firmness of all treated samples was significantly higher than the control samples (Figure 1). At the end of storage period, the strawberry samples of control treatment lost around 67.53% of their firmness compared to 19.68% for strawberry exposed to laser irradiation for 6 min then coated with chitosan and PPE. Meanwhile, the loss of firmness in strawberry samples treated by laser irradiation then coated with chitosan then coated with PPE was the lowest, followed by the loss of firmness in strawberry samples treated by laser irradiation then coated with chitosan which recorded 33.31 and 41.55%, respectively. Ali et al. [25] found that treated strawberry samples with 6 min of laser irradiation showed a significant reduction in weight loss compared to untreated strawberries. Also, they observed that the treated samples of strawberries with laser

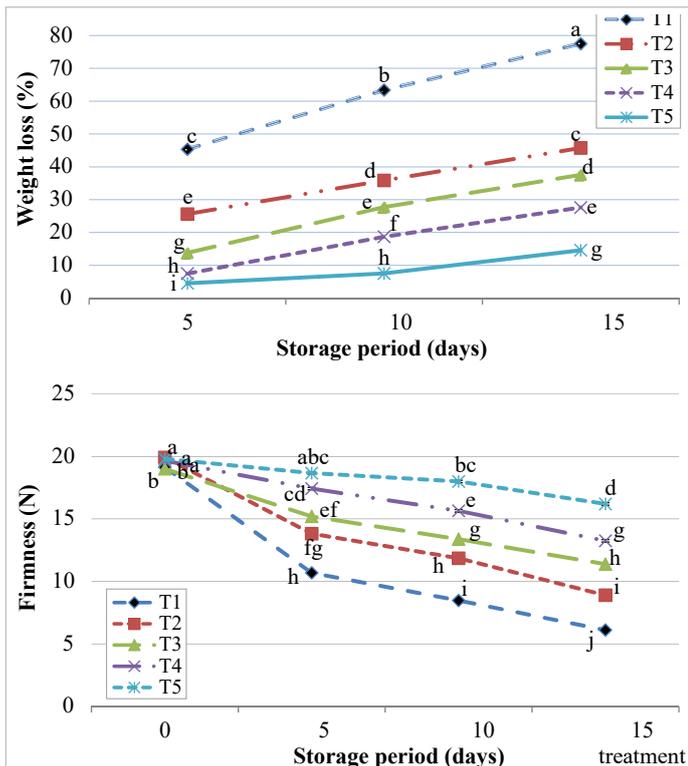


Figure 1. Weight loss and firmness of strawberry treated with laser irradiation and coated with chitosan and pomegranate peel extract. Treatment 1: untreated strawberry; 2: strawberry irradiated with laser; treatment 3: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan; treatment 4: strawberry irradiated with laser and coated with pomegranate peel extract, and treatment 5: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan + pomegranate peel extract

Рисунок 1. Потеря веса и твердость клубники, обработанной лазерным излучением и покрытой хитозаном и экстрактом кожуры граната. Обработка 1: необработанная клубника; обработка 2: клубника, облученная лазером; обработка 3: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном; обработка 4: клубника, облученная лазером и покрытая экстрактом кожуры граната; обработка 5: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном + экстракт кожуры граната

irradiation preserved firmness until the fifth day of storage period, whilst control group strawberries became softer and fully ripe. Saeed et al. [26] found the similar results through coating of tomatoes with pomegranate peel extract and chitosan, in which study they observed that the coated samples featured lower weight loss and higher firmness than uncoated samples. Our results may be attributed that the coating reduced the moisture loss and respiration process. Kumar et al. [2] revealed that the combination of higher concentration of pomegranate peel extract in chitosan film retains significant amount of moisture, and that may be attributed to molecular interactions and modifications in the hygroscopic characteristic of the chitosan compound.

3.3. Functional properties

In this study the effect of laser irradiation and coating with chitosan or PPE on the total phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content, and antioxidant activity of strawberry samples during cold storage was investigated and the results are shown in Figure 2. Compared to control

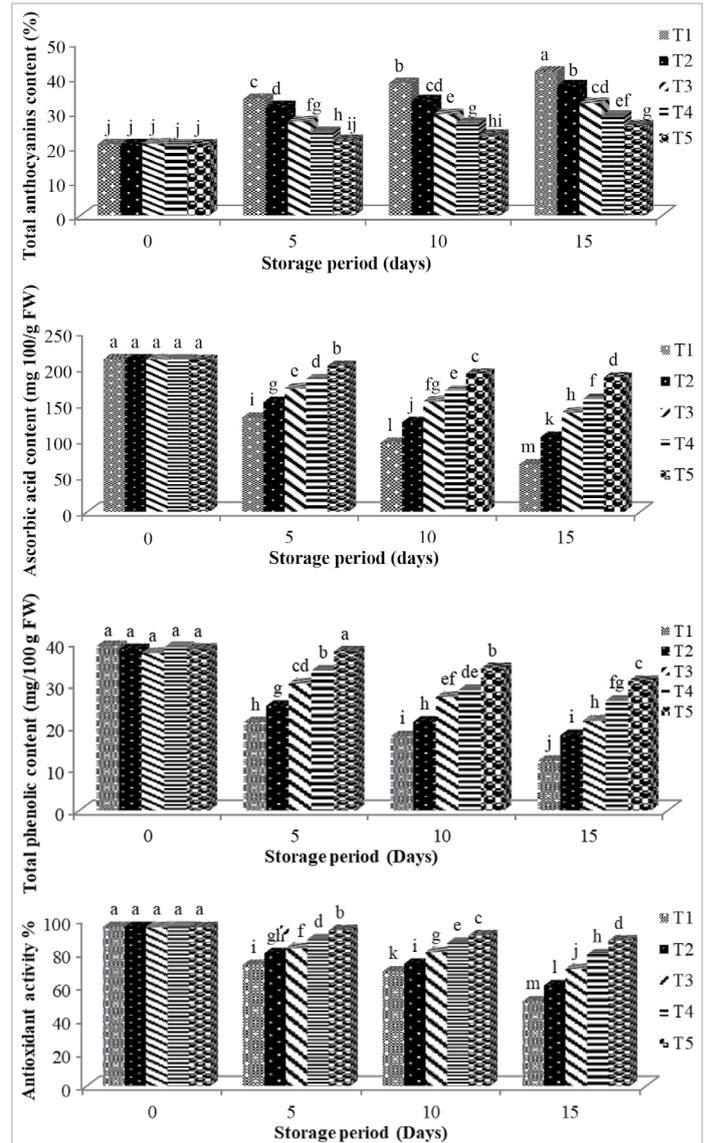


Figure 2. Functional profile of strawberry treated with laser irradiation and coated with chitosan and pomegranate peel extract. Treatment 1: untreated strawberry; treatment 2: strawberry irradiated with laser; treatment 3: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan; treatment 4: strawberry irradiated with laser and coated with pomegranate peel extract, and treatment 5: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan + pomegranate peel extract

Рисунок 2. Функциональный профиль клубники, обработанной лазерным излучением и покрытой хитозаном и экстрактом кожуры граната. Обработка 1: необработанная клубника; обработка 2: клубника, облученная лазером; обработка 3: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном; обработка 4: клубника, облученная лазером и покрытая экстрактом кожуры граната; обработка 5: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном + экстракт кожуры граната

treatment, laser irradiation for 6 min provided a significant positive effect on the total phenolic, ascorbic acid content, and antioxidant properties of strawberry in treatment 2, particularly after 15 days of storage. The level of anthocyanin significantly increased in all treatments during the storage period; pointing out that the strawberry became dusker as maturation advanced. Our results are in relevance to those of Taha et al. [27] who found that the exposure of *Sequoia sempervirens* shoots to laser irradiation for 5 min led to increase the total content of phenolic compounds, tannins, and DPPH radical scavenging capacity compared to untreated shoots. Ali et al. [25] reported that laser irradiation could have a secondary impact on the anthocyanin cumulation in strawberry fruits, whilst the major effect was provided by the storage time and temperature. They also found that the ascorbic acid level of the strawberry treated by laser light for 3 min was significantly greater than both strawberry samples treated by laser for 6 and 12 min. Cordenunsi et al. [28] observed that laser irradiation did not expose the strawberry to heat through process and did not influence on the ascorbic acid content. In another study, Pirvu et al. [29] observed that the exposure of the aqueous extract of *Plantago lanceolata* L. leaves to laser irradiation enhanced the antioxidant activity comparing with control sample. Salyaev et al. [30] attributed the effect of laser to stimulate morphogenetic processes in plant fractions or tissues inducing metabolic changes and these changes lead to generate various antioxidant components. Maraei et al. [31] found that the antioxidant capacity of gamma-irradiation treated and untreated strawberry samples enhanced during the cold storage (9 days). They attributed these results to the destructive behavior of gamma irradiation and oxidation that may fracture the chemical bonds of polyphenol components, thus deblocking low molecular weight soluble phenol components with antioxidant properties.

Regarding the effect of coating materials on strawberry, it was noted that there were no significant differences in the total content of phenolic compounds, anthocyanin, ascorbic acid, and antioxidant activity values among all strawberry treatments at day 1 of cold storage (Figure 2). A decline trend in total content of phenolic compounds, ascorbic acid, and antioxidant activity was observed in all treatments during cold storage period, but anthocyanin showed opposite trend. After 15 days of storage, the strawberry of treatment 5 significantly showed the highest values of total phenolic, ascorbic acid, and antioxidant activity compared to the other treatments. However, the strawberry in treatment 5 significantly exhibited the lowest anthocyanin content. Our results revealed a good positive correlation between the content of ascorbic acid ($r = 0.99$) or total phenols ($r = 0.89$) and the antioxidant activity. These results were attributed to the coating with pomegranate peel that contains high content of phenolic compounds, particularly ellagitannins. Tannins are known as high molecular weight phenolic components that exhibit noteworthy antioxidant capacity [32]. Furthermore, Kaderides et al. [33] reported that the major phenolic component in pomegranate peel is punicalagin, which rates about 70% of the ellagitannins, and accounts approximately for 76.5% of total phenolic compounds. Cruz-Valenzuela et al. [34] reported that pomegranate peel extract had high DPPH radical scavenging activity (86.12%). Opara et al. [35] observed that the Egyptian pomegranate peel had higher vitamin C content (80 mg/100 g) than that of pomegranate aril (58 mg/100 g). The greater vitamin C level in fruit peels corresponds with the studies of other researchers, who confirmed higher antioxidant activity in various fruit peels than in other fruit parts [36,37]. Pomegranate is a rich source of anthocyanins that act as antioxidants through radical scavenging, metal chelating, hydrogen donors, and singlet O₂ quenching [38,39]. In this respect, Kumar et al. [2] made chitosan-based edible film enriched with pomegranate peel extract and found that the total phenolic and antioxidant activity ranged between 5.75–32.41 mg/g and 23.13–76.54%, respectively, depending on the volume fraction of pomegranate peel extract. Moreover, our findings revealed a positive correlation between weight loss and the level of anthocyanin content and this result is in agreement with the result of Darwish et al. [40].

3.4. Microbiological examination

Results in Table 2 present that the exposure to laser irradiation led to a decline in the count of fungi in strawberry of treatment 2 at day 1 and after 15 days of cold storage. Strawberry samples in the treatments 3, 4, and 5 were free from fungi on day 1 of storage. A growing trend in fungi count on the strawberry surface was noted during storage period. The increase in fungi count was recorded in uncoated strawberry samples, and the growth rate of fungi was not great in the coated strawberry samples. At the beginning of storage, psychrotrophic bacteria did not appear in the strawberries of all treatments. However, the count of psychrotrophic bacteria increased gradually in all treatments except treatment 5. After 15 days of storage, the strawberry of treatment 5 significantly demon-

strated the lowest count of psychrotrophic bacteria compared to other treatments. In this regard, Saeed et al. [26] observed that the pomegranate peel extract and chitosan were successfully utilized for coating of tomato as antifungal agents. Azam et al. [41] attributed these results to the bioactive components in pomegranate peel oil that inhibit the growth of fungi and bacteria. Hence, the coated strawberries contained lower bacteria and fungi counts than the uncoated strawberries. Nazeam et al. [42] reported that phloretin and coumaric acid gained from pomegranate peels showed strong antimicrobial activity, particularly against *Staphylococcus epidermidis*, and punigratane featured the most essential antibacterial impact on *Micrococcus kristinae*. Nazeam et al. [42] and Charalampia and Koutelidakis [43] pointed out that pomegranate extracts are powerful inhibitors of *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*, *Penicillium citrinum*, and *Mucor indicus*. They attributed that to the high content of tannins, flavonoids, and phenolic components in pomegranate peels.

Table 2. Psychrotrophic bacteria and fungi counts (log CFU/g) on the strawberry treated with laser irradiation and coated with chitosan and pomegranate peel extract

Таблица 2. Количество психротрофных бактерий и грибов ((log КОЕ/г) на клубнике, обработанной лазерным излучением и покрытой хитозаном и экстрактом кожуры граната

Treatments	Psychrotrophic bacteria (means ± SD)			
	Storage period (day)			
	0	5	10	15
Treatment 1	ND	3.71 ± 0.49 ^c	4.14 ± 0.32 ^b	5.05 ± 0.06 ^a
Treatment 2	ND	2.48 ± 0.38 ^e	2.99 ± 0.37 ^d	3.83 ± 0.50 ^{bc}
Treatment 3	ND	ND	2.17 ± 0.27 ^{ef}	2.89 ± 0.22 ^d
Treatment 4	ND	ND	1.83 ± 0.05 ^{fg}	1.98 ± 0.01 ^f
Treatment 5	ND	ND	ND	1.49 ± 0.02 ^g
Treatments	Fungi counts (log CFU/g)			
	Storage period (day)			
	0	5	10	15
Treatment 1	2.26 ± 0.46 ^{cd}	2.61 ± 0.46 ^c	3.38 ± 0.39 ^b	4.38 ± 0.48 ^a
Treatment 2	1.70 ± 0.32 ^{efg}	1.84 ± 0.09 ^{ef}	2.39 ± 0.30 ^{cd}	3.68 ± 0.18 ^b
Treatment 3	ND	1.56 ± 0.27 ^{fg}	1.85 ± 0.20 ^{ef}	2.07 ± 0.40 ^{de}
Treatment 4	ND	1.33 ± 0.18 ^{gh}	1.58 ± 0.09 ^{fg}	1.85 ± 0.08 ^{ef}
Treatment 5	ND	ND	ND	1.09 ± 0.23 ^h

Means with different superscript letters differ significantly.

Treatment 1: untreated strawberry; treatment 2: strawberry irradiated with laser; treatment 3: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan; treatment 4: strawberry irradiated with laser and coated with pomegranate peel extract, and treatment 5: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan + pomegranate peel extract.

3.5. Color attributes

The effect of laser irradiation, and coating with chitosan and PPE on strawberry color properties during storage period is shown in Figure 3. The L* values indicate the grade of strawberry shine, while positive +a* values denote to redness. Hue (h°) values point out the visible spectrum color, whilst Chroma (C*) values refer to the purity or intensity of hue related to neutral gray. There were no significant differences among all treatments in all color characteristics at the beginning of storage period. During storage period, the L*, +a*, and h° values of all treatments significantly decreased, but C* values showed the opposite trend. After 15 days of storage period, strawberry in treatment 5 reliably demonstrated the highest values of L*, +a*, and h°, and the lowest value of C* compared to other treatments. Low values of L* refer to more intense color and storage effect, but high values indicate less tincture accumulation and less storage effect [44]. Positive a* values are referred to the anthocyanin content of strawberry [45]. Ali et al. [25] reported that low exposure period of laser irradiation prevented darkening of strawberry, while value of chroma remained the same.

3.6. Sensory evaluation

Using laser irradiation and coating with fruit or vegetable waste-based materials for preservation of fruits or vegetables quality may change their sensory properties that might lead to a deterioration in their acceptability for the consumers. Hence, it was important to monitor the changes in taste, odor, texture, and overall acceptability of strawberry as a result of laser irradiation and coating with chitosan and PPE (Figure 4). Storage

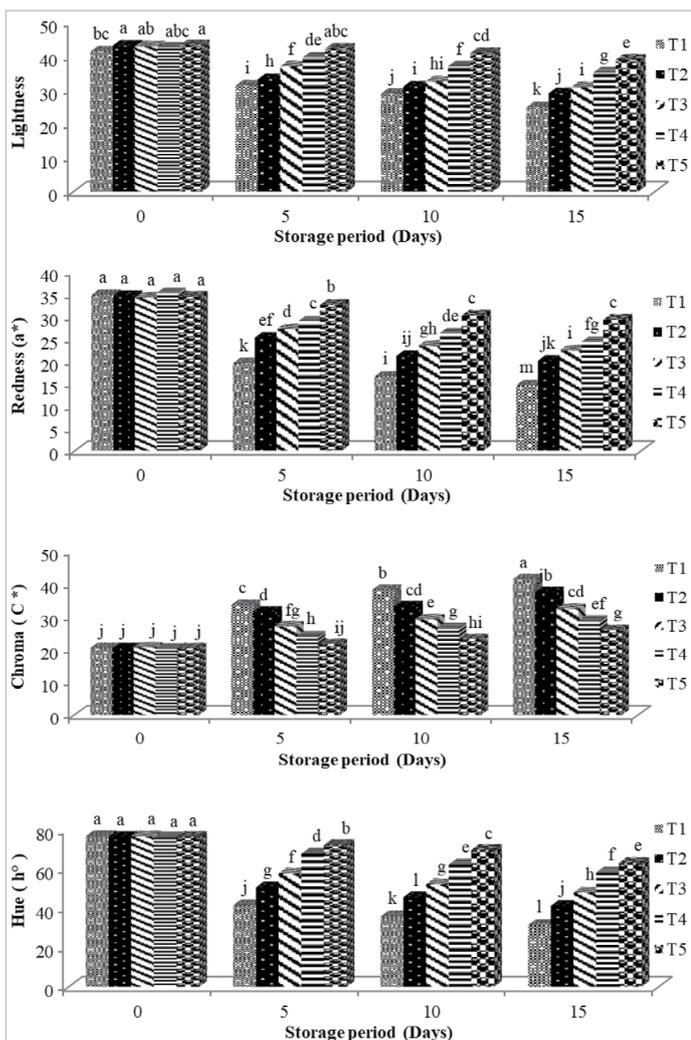


Figure 3. Color characteristics of strawberry treated with laser irradiation and coated with chitosan and pomegranate peel extract. Treatment 1: untreated strawberry; treatment 2: strawberry irradiated with laser; treatment 3: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan; treatment 4: strawberry irradiated with laser and coated with pomegranate peel extract, and treatment 5: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan + pomegranate peel extract

Рисунок 3. Цветовые характеристики клубники, обработанной лазерным излучением и покрытой хитозаном и экстрактом кожуры граната. Обработка 1: необработанная клубника; обработка 2: клубника, облученная лазером; обработка 3: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном; обработка 4: клубника, облученная лазером и покрытая экстрактом кожуры граната; обработка 5: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном + экстракт кожуры граната

period provides negative effects on the sensory properties of strawberry fruits, particularly in the control treatment. Laser irradiation for 6 min protected the strawberry fruits somewhat from the effect of storage period. Furthermore, the coating with PPE or chitosan and PPE greatly mitigated the negative effect of storage period on the sensory characteristics of strawberry fruits. These findings are in consistency with the above strawberry properties, especially the weight loss and color. In this regard,

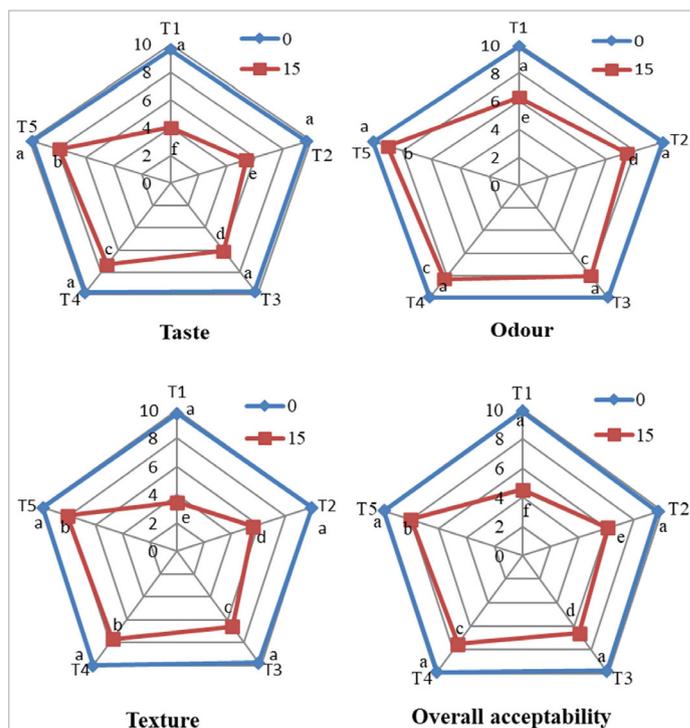


Figure 4. Sensory attributes of strawberry treated with laser irradiation and coated with chitosan and pomegranate peel extract. Treatment 1: untreated strawberry; treatment 2: strawberry irradiated with laser; treatment 3: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan; treatment 4: strawberry irradiated with laser and coated with pomegranate peel extract, and treatment 5: strawberry irradiated with laser and coated with chitosan + pomegranate peel extract

Рисунок 4. Сенсорные характеристики клубники, обработанной лазерным излучением и покрытой хитозаном и экстрактом кожуры граната. Обработка 1: необработанная клубника; обработка 2: клубника, облученная лазером; обработка 3: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном; обработка 4: клубника, облученная лазером и покрытая экстрактом кожуры граната; обработка 5: клубника, облученная лазером и покрытая хитозаном + экстракт кожуры граната

Jiang et al. [47] reported that the coating of blueberries with chitosan did not affect negatively the flavor attribute. Alqahtani et al. [48] found that the dipping of Barhi date fruits in PPE preserved sensory characteristics during storage period.

4. Conclusion

During cold storage period, the ability of laser irradiation and coating with chitosan and pomegranate peel extract (PPE) to hinder the negative changes in quality characteristics of strawberry fruits was researched. The exposure to laser irradiation at 632.8 nm following by coating with chitosan and PPE enhanced the shelf-life of strawberry by decreasing the weight loss and preventing the undesirable changes in color, microbial growth, and sensory properties. Also, treated strawberry fruits exhibited the highest values of total content of phenolic compounds, ascorbic acid, and antioxidants. However, further studies are required to illustrate the impact of laser irradiation on the functional and quality characteristics of various vegetables and fruits. Moreover, this research will urge the researchers and food producers to utilize laser irradiation and coating the fruit and vegetables with waste-based coating materials for preservation fruits quality characteristics during their storage.

REFERENCES

- Sami, R., Khojah, E., Elhakem, A., Benajiba, N., Helal, M., Alhuthal, N. et al. (2021). Performance study of Nano/SiO₂ films and the antimicrobial application on cantaloupe fruit shelf-life. *Applied Sciences*, 11(9), 3879–3891. <https://doi.org/10.3390/app11093879>
- Kumar, N., Pratibha, Trajkovska Petkoska, A., Khojah, E., Sami, R., Al-Mushhin, A. A. M. (2021). Chitosan edible films enhanced with pomegranate peel extract: Study on physical, biological, thermal, and barrier properties. *Materials*, 14(12), 3305–3322. <https://doi.org/10.3390/ma14123305>
- Piekarska, K., Sikora, M., Owczarek, M., Jóźwik-Pruska, J., Wiśniewska-Wrona, M. (2023). Chitin and chitosan as polymers of the future-obtaining, modification, life cycle assessment and main directions of application. *Polymers*, 15(4), Article 795. <https://doi.org/10.3390/polym15040795>
- Gupta, N., Poddar, K., Sarkar, D., Kumari, N., Padhan, B., Sarkar, A. (2019). Fruit waste management by pigment production and utilization of residual as bio-adsorbent. *Journal of Environmental Management*, 244, 138–143. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.055>

5. Arun, K. B., Madhavan, A., Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A., R. R., Sirohi, R. (2020). Remodeling agro-industrial and food wastes into value-added bioactives and biopolymers. *Industrial Crops and Products*, 154, Article 112621. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112621>
6. Akhtar, S., Ismail, T., Fraternali, D., Sestili, P. (2015). Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food Chemistry*, 174, 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.035>
7. Pirzadeh, M., Caporaso, N., Rauf, A., Shariati, M. A., Yessimbekov, Z., Khan, M. U. et al. (2020). Pomegranate as a source of bioactive constituents: A review on their characterization, properties and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(6), 982–999. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1749825>
8. Pandiselvam, R., Mayoorka, V. P., Kothakota, A., Ramesh, S. V., Thirumdas, R., Juvvi, P. (2020). Bio-speckle laser technique—a novel nondestructive approach for food quality and safety detection. *Trends in Food Science and Technology*, 97, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.028>
9. Shabir, I., Khan, S., Dar, A. H., Dash, K. K., Shams, R., Altaf, A. et al. (2022). Laser beam technology interventions in processing, packaging, and quality evaluation of foods. *Measurement: Food*, 8, Article 100062. <https://doi.org/10.1016/j.meas-foo.2022.100062>
10. Hernández, A. C., Rodríguez, P. C. L., Domínguez-Pacheco, F. A., Hernández, A. A. M., Cruz-Orea, A., Carballo, C. A. (2011). Laser light on the mycoflora content in maize seeds. *African Journal of Biotechnology*, 10(46), 9280–9288. <https://doi.org/10.5897/ajb11.605>
11. Hernandez, A. C., Dominguez, P. A., Cruz, O. A., Ivanov, R., Carballo, C. A., Zepeda, B. R. (2010). Laser in agriculture. *International Agrophysics*, 24(4), 407–422.
12. Sandhu, A. K., Miller, M. G., Thangthaeng, N., Scott, T. M., Shukitt-Hale, B., Edirisinghe, I. et al. (2018). Metabolic fate of strawberry polyphenols laser chronic intake in healthy older adults. *Food and Function*, 9(1), 96–106. <https://doi.org/10.1039/C7FO01843F>
13. Miller, K., Feucht, W., Schmid, M. (2019). Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview. *Nutrients*, 11(7), Article 1510. <https://doi.org/10.3390/nu11071510>
14. El-Hawary, S. S., Mohammed, R., El-Din, M. E., Hassan, H. M., Ali, Z. Y., Rateb, M. E. et al. (2021). Comparative phytochemical analysis of five Egyptian strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) and antidiabetic potential of Festival and Red Merlin cultivars. *RSC Advances*, 11(27), 16755–16767. <https://doi.org/10.1039/D0RA10748d>
15. Almeida, M.L.B., Moura, C.F.H., Innecco, I., dos Santos, A., de Miranda, F.R. (2015). Postharvest shelf-life and fruit quality of strawberry grown in different cropping systems. *African Journal of Agricultural Research*, 10(43), 4053–4061. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10239>
16. Hammad, K. S. M., Elsayed, N., Elkashef, H. (2021). Development of a whey protein concentrate/apple pomeace extract edible coating for shelf life extension of fresh-cut apple. *International Food Research Journal*, 28(2), 377–385. <http://dx.doi.org/10.47836/ifrj.28.2.19>
17. Zambrano-Zaragoza, M. L., Mercado-Silva, E., Ramirez-Zamorano, P., Cornejo-Villegas, M. A., Gutierrez-Cortez, E., Quintanar-Guerrero, D. (2013). Use of solid lipid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidium guajava* L.) shelf-life. *Food Research International*, 51(2), 946–953. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.012>
18. Elsayed, N., Hassan, A. A. M., Abdelaziz, S. M., Abdeldaym, E. A., Darwish, O. S. (2022). Effect of whey protein edible coating incorporated with mango peel extract on postharvest quality, bioactive compounds and shelf life of broccoli. *Horticulture*, 8(9), Article 770. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8090770>
19. AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th Edition. The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA, 2000.
20. Tonutare, T., Moor, U., Szajdak, L. (2014). Strawberry anthocyanin determination by pH differential spectroscopic method — How to get true results? *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 13(3), 35–47.
21. APHA. (2004). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 17th Edition. American Public Health Association, Washington, 2004.
22. Pilon, L., Spricigo, P. C., Miranda, M., de Moura, M. R., Assis, O. B. G., Mattoso, L. H. C. et al. (2015). Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes. *International Journal of Food Science Technology*, 50(2), 440–448. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12616>
23. Tanada-Palmu, P. S., Grosso, C. R. F. (2005). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Postharvest Biology and Technology*, 36(2), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.12.003>
24. Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V. D., Velez, D., Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria×ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 110(2), 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.020>
25. Ali, L. M., Saleh, S. S., Ahmed, A. E.-R. A. E.-R., Hasan, H. E.-S., Suliman, A. E.-R. E. (2020). Novel postharvest management using laser irradiation to maintain the quality of strawberry. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(6), 3615–3624. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00600-3>
26. Saeed, M., Azam, M., Ahmad, T., Akhtar, S., Hussain, M., Nasir, S. et al. (2022). Utilization of pomegranate peel extract as antifungal coating agent against *Fusarium oxysporum* on tomatoes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, Article e17157. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17157>
27. Taha, L. S., Taie, H. A. A., Metwally, S. A., Fathy, H. M. (2014). Effect of laser radiation treatments on in vitro growth behavior, antioxidant activity and chemical constituents of *Sequoia sempervirens*. *Research Journal of Pharmaceutical Biological*, 5(4), 1024–1304.
28. Cordenunsi, B. R., Genovese, M. I., do Nascimento, J. R.O., Hassimotto, N. M.A., dos Santos, R.J., Lajolo, F. M. (2005). Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chemistry*, 91(1), 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.054>
29. Pirvu, L. C., Nita, S., Rusu, N., Bazdoaca, C., Neagu, G., Bubueanu, C. et al. (2022). Effects of laser irradiation at 488, 514, 532, 552, 660, and 785 nm on the aqueous extracts of *Plantago lanceolata* L.: A comparison on chemical content, antioxidant activity and Caco-2 viability. *Applied Sciences*, 12(11), Article 5517. <https://doi.org/10.3390/app12115517>
30. Salyaev, R. K., Dudareva, L. V., Lankevich, S. V., Makarenko, S. P., Sumtsova, V. M., Rudikovskaya, E. G. (2007). Effect of low-intensity laser irradiation on the chemical composition and structure of lipids in wheat tissue culture. *Doklady Biological Sciences*, 412(1), 87–88. <https://doi.org/10.1134/S0012496607010280>
31. Maraie, R. W., Elsayy, K. M. (2017). Chemical quality and nutrient composition of strawberry fruits treated by γ -irradiation. *African Journal of Agricultural Research*, 10(1), 80–87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2016.12.004>
32. Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244–248. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.002>
33. Kaderides, K., Mourtzinou, I., Goula, A. M. (2020). Stability of pomegranate peel polyphenols encapsulated in orange juice industry by-product and their incorporation in cookies. *Food Chemistry*, 310, Article 125849. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125849>
34. Cruz-Valenzuela, M. R., Ayala-Soto, R. E., Ayala-Zavala, J. F., Espinoza-Silva, B. A., González-Aguilar, G. A., Martín-Belloso, O. et al. (2022). Pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts as antimicrobial and antioxidant additives used in alfalfa sprouts. *Foods*, 11(17), Article 2588. <https://doi.org/10.3390/foods11172588>
35. Opara, L. U., Al-Ani, M. R., Al-Shuaibi, Y. S. (2009). Physico-chemical properties, vitamin C content, and antimicrobial properties of pomegranate fruit (*Punica granatum* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 2(3), 315–321. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0095-5>
36. Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719–1726. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2003.08.005>
37. Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.033>
38. Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B. et al. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496–1547. <https://doi.org/10.3390/12071496>
39. Zhao, X., Yuan, Z. (2021). Anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum* L.) and their role in antioxidant capacities in vitro. *Chemistry and Biodiversity*, 18(10), Article e2100599. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100599>
40. Darwish, O. S., Ali, M. R., Khojah, E., Samra, B. N., Ramadan, K. M. A., El-Mogy, M. M. (2021). Pre-harvest application of salicylic acid, abscisic acid, and methyl jasmonate conserve bioactive compounds of strawberry fruits during refrigerated storage. *Horticulturae*, 7(12), Article 568. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120568>
41. Azam, M., Saeed, M., Pasha, I., Shahid, M. (2020). A prebiotic-based biopolymeric encapsulation system for improved survival of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Bioscience*, 37, Article 100679. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100679>
42. Nazeam, J. A., Al-Shareef, W. A., Helmy, M. W., El-Haddad, A. E. (2020). Bioassay-guided isolation of potential bioactive constituents from pomegranate agrifood by-product. *Food Chemistry*, 326, Article 126993. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126993>
43. Charalampia, D., Koutelidakis, A. E. (2017). From pomegranate processing by-products to innovative value-added functional ingredients and bio-based products with several applications in food sector. *BAOJ Biotechnology*, 3(1), Article 025.
44. El-Mogy, M. M., Ali, M. R., Darwish, O. S., Rogers, H. J. (2019). Impact of salicylic acid, abscisic acid, and methyl jasmonate on postharvest quality and bioactive compounds of cultivated strawberry fruit. *Journal of Berry Research*, 9(2), 333–348. <https://doi.org/10.3233/JBR-180349>
45. Dzhanezova, T., Barba-Espín, G., Müller, R., Joernsgaard, B., Hegelund, J. N., Madsen, B. et al. (2020). Anthocyanin profile, antioxidant activity and total phenolic content of a strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch) genetic resource collection. *Food Bioscience*, 36, Article 100620. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100620>
46. Jiang, H., Sun, Z., Jia, R., Wang, X., Huang, J. (2016). Effect of chitosan as an antifungal and preservative agent on postharvest blueberry. *Journal of Food Quality*, 39(5), 516–523. <https://doi.org/10.1111/jfq.12211>
47. Alqahtani, N. K., Alnemr, T. M., Ali, S. A. (2023). Effects of pomegranate peel extract and/or lactic acid as natural preservatives on physicochemical, microbiological properties, antioxidant activity, and storage stability of Khalal Barhi date fruits. *Foods*, 12(6), 1160–1174. <https://doi.org/10.3390/foods12061160>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p>Nesren Elsayed, Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University 1, Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: + 2-0112-244-58-88 E-mail: nesrensayed@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7040-3142 * corresponding author</p>	<p>Эльсайед Нерсен — адъюнкт-профессор, кафедра науки о питании, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: + 2-0112-244-58-88 E-mail: nesrensayed@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7040-3142 * автор для контактов</p>
<p>Hany Elkashef, Associate Professor, Dairy Science Department, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-0112-570-95-80 E-mail: hany.ahmed@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6991-8130</p>	<p>Элькашиф Хейни — адъюнкт-профессор, кафедра науки о молоке, сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: + 2-0112-570-95-80 E-mail: hany.ahmed@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6991-8130</p>
<p>Shaimaa R. Ali, PhD, Lecturer, Department of the Laser Application in Metrology, Photochemistry and Agriculture, LAMPA National Institute of Laser Enhanced Sciences (NILES), Cairo University 1 Gamaa Street, 12613, Giza, Egypt Tel.: +2-01000-355-31-11 E-mail: shaimaa.rabee.ali@niles.edu.e ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4974-4399</p>	<p>Али Шаймаа Раби — PhD, лектор, Отдел применения лазеров в метрологии, фотохимии и сельском хозяйстве, Национальный институт лазерных технологий (NILES), Каирский университет, Гиза, Египет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 1 Тел.: +2-01000-355-31-11 E-mail: shaimaa.rabee.ali@niles.edu.e ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4974-4399</p>
Contribution	Критерии авторства
<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p> <p>Nesren Elsayed: Conceived and designed the experiments; Performed the experiments; Analyzed and interpreted the data; Contributed reagents, materials, analysis tools, or data.</p> <p>Hany Elkashef: Conceived and designed the experiments; Analyzed and interpreted the data; Wrote the paper.</p> <p>Shaimaa R. Ali: Conceived and designed the experiments; Performed the experiments.</p>	<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p> <p>Эльсайед Нерсен: Разработал и проектировал эксперименты; Проводил эксперименты; Анализировал и интерпретировал данные; Предоставлял реагенты, материалы, инструменты анализа или данные.</p> <p>Элькашиф Хейни: Разработал и проектировал эксперименты; Анализировал и интерпретировал данные; Написал статью.</p> <p>Али Шаймаа Раби: Разработал и спланировал эксперименты; Провел их.</p>
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest.	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-612-619>



Received 09.09.2024
 Accepted in revised 19.12.2024
 Accepted for publication 24.12.2024
 © Ammar A. S.M., Hegab K. K., 2024

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

FLAT BREADS QUALITIES AND ATTRIBUTES – OVENS DESIGN, ENERGY CONSUMPTION, AND ENVIRONMENTAL CONSERVATION: A REVIEW

Abdalla S. M. Ammar^{1*}, Khaled K. Hegab²

¹Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt
²Agricultural Engineering Department, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza, Egypt

KEY WORDS:
 bread quality,
 physical properties,
 flat bread, bread
 staling, oven design,
 energy consumption,
 environmental
 conservation

ABSTRACT

Flat bread is considered a staple food worldwide and especially balady bread in Egypt and the Middle East region. The most common flat bread types produced all over the world, contents, used leavening agents, properties, and countries were reviewed. Also, balady bread ingredients, formula, preparation, dough rheology, baking conditions, as well as physical characteristics, color attributes, sensory evaluation, and freshness or staling retardation of loaves were presented. Flat bread (balady bread) is processed from flattened dough of wheat flour, sodium chloride, water, and yeast and is often served freshly baked and produced in both bakeries and homes. The main features of a balady bread oven, such as composition, construction, dimensions, fuels, emissions, and its effect on the environment and energy consumption, were also mentioned. The common specifications and general design of a balady bread industry oven in Egypt on a commercial scale were presented as follows: Oven length could be more or less than 600 cm depending on available space in the baking building. Also, oven width could be more or less than 90 cm, depending on the needed productivity of bread per hour. To “keep the environment, minimize heat losses, maximize quantity and quality of production, and assure economic visibility,” the determination of oven dimensions, selecting construction materials and transmission systems must be done by oven designers using the oven general model.

Поступила 09.09.2024
 Поступила после рецензирования 19.12.2024
 Принята в печать 24.12.2024
 © Аммар А. С.М., Хераб К. К., 2024

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

ОСОБЕННОСТИ И СВОЙСТВА ПЛОСКИХ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ – ДИЗАЙН ПЕЧЕЙ, ЭНЕРГОПОТРЕБЛЕНИЕ И ОХРАНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ: ОБЗОР

Аммар А. С. М^{1*}, Хераб К. К.²

¹Кафедра науки о питании и технологии, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет, Гиза, Египет
²Кафедра сельскохозяйственного машиностроения, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет, Гиза, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

качество хлеба,
 физические
 свойства, плоский
 хлеб, черствение
 хлеба, дизайн печей,
 энергопотребление
 и охрана окружающей
 среды

Плоский хлеб считается главным продуктом питания во всем мире и особенно хлеб балади в Египте и ближневосточном регионе. Сделан обзор наиболее распространенных видов плоского хлеба, производимых во всем мире, составов, используемых разрыхлителей, свойств и стран. Также представлены ингредиенты хлеба балади, рецептура, приготовление, реология теста, условия выпечки, а также физические характеристики, цветовые характеристики, сенсорная оценка, свежесть или замедление черствения хлеба. Плоский хлеб (хлеб балади) вырабатывается из раскатанного теста из пшеничной муки, хлорида натрия, воды и дрожжей, и часто подается свежеспеченным и изготавливается как в пекарнях, так и в домашних условиях. Также рассматриваются основные характеристики печи для хлеба балади, такие как структура, конструкция, размеры, топливо, эмиссии, и её влияние на окружающую среду и потребление энергии. Распространенные спецификации и общий дизайн промышленной печи для хлеба балади в Египте, работающей в промышленном масштабе, представлены следующим образом: длина печи может быть более или менее 600 см в зависимости от доступного пространства здания пекарни. Также ширина печи может быть более или менее 90 см в зависимости от требуемого объема выпечки хлеба в час. Для «сохранения окружающей среды, минимизации теплопотерь, максимального повышения количества и качества продукции и обеспечения экономической видимости», разработчики печей должны определять размеры печи, выбирать конструкционные материалы и системы передачи, используя общую модель печи.

1. Introduction

Balady bread, widely consumed in the Middle East region, especially in Egypt, is flat bread [1]. Balady bread is the most strategically important food commodity in Egypt. The consumption of wheat (2019/2020) was 20.4 million metric tons, from such an amount 270 million balady bread loaves were baked every day [2]. There are many differences between flat and pan breads (Table 1), as reported by Gocmen et al. [3]. Based on the previous publications, there is a lack of information about flat bread, especially Egyptian balady bread, therefore, this study reviews flat bread types, balady bread quality characteristics of both raw materials and end products, as well as balady bread oven constituents, structures, dimensions, specifications, emissions, and design used in balady bread making.

Table 1. Differences between flat and pan breads [3]

Таблица 1. Различия между плоским и формовым хлебом [3]

Flat bread	Pan bread
Lower specific volume	Higher specific volume
High crust and crumb ratio	Low crust and crumb ratio
Leavened flat bread has a shorter fermentation time	Leavened pan bread has longer fermentation time
Higher baking temperature	Lower baking temperature
Shorter baking time	Longer baking time

FOR CITATION: Ammar, A. S. M., Hegab, K. K. (2024). Flat breads qualities and attributes – ovens design, energy consumption, and environmental conservation: A review. *Food Systems*, 7(4), 612–619. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-612-619>

Для ЦИТИРОВАНИЯ: Аммар, А. С. М., Хераб, К. К. (2024). Особенности и свойства плоских хлебобулочных изделий – дизайн печей, энергопотребление и охрана окружающей среды: обзор. *Пищевые системы*, 7(4), 612–619. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-612-619>

2. Objects and methods

The sources of information were the following scientific databases: PubMed, Scopus, Science Direct, Google Scholar and Research Gate. The search strategy included the following keywords: bread quality, physical properties, flat bread, bread staling, oven design, energy consumption, environmental conservation. The following acceptance criteria for research characterization were considered: The most common flat bread types, contents, used leavening agents, properties, the main features of a balady bread oven and the common specifications and general design of a balady bread industry oven in Egypt on a commercial scale. All of the figures in this article are the authors' own.

The parameters of the publications were as follows: publication from 1979 until 2024 (58 references were selected for this review); language: English. Exclusion criteria: no access to the full text articles. Based on the review, the authors compiled information on discussion of flat breads qualities and attributes — ovens design, energy consumption, and environmental conservation.

3. Background on flat bread

3.1. Bread raw materials

Raw materials used for balady bread making include extracted wheat (*Triticum aestivum*) flour (85–87%) with protein content (10–12%) and prepared using starter (previously fermented dough containing microbes) [1]. Table 2 shows the proximate chemical composition of hard wheat flour (82% extraction) used for balady bread processing. Flat bread (balady bread) is processed from a flattened dough of wheat flour, sodium chloride, water, and yeast and is often served freshly baked and produced in both bakeries and homes [4]. Table 3 presents raw materials (formula) used for balady bread manufacturing as mentioned by Mousa et al. [5] and Hussein et al. [6]. Likewise, Table 4 shows the formula used for Arabic (pita) bread processing as stated by Elkhatry et al. [7].

Table 2. Proximate chemical composition of hard wheat flour (82% extraction) used in balady bread making (on a dry weight basis)

Таблица 2. Приближённый химический состав муки из твердой пшеницы (82% экстракции), используемой для приготовления хлеба балади (в пересчёте на сухую массу)

Parameters	%	References
Moisture	13.02	
Ash	1.47	
Fiber	1.65	[6]
Protein	11.75	
Lipid	1.81	
CHO	83.32	
Protein	6–12	
Lipid	1–4	
Starch	55–75	[8]
Soluble CHO	1–2	
Fiber	3–7	
Ash	1–2	
Protein	13.07	
Fat	1.85	
Fiber	1.28	[9]
Ash	1.05	
CHO	82.75	

Table 3. Formula of balady bread

Таблица 3. Рецепт хлеба балади

Raw material	%	References
Flour	100	
Water	70–80	[5]
Salt	0.5–1.5	
Starter (fermented dough)	12–17	
Hard wheat (82% ext.)	100	
Salt	1	
Dry yeast *	1.5	[6]
Water	70–80	

* *Saccharomyces cerevisiae*.

Table 4. Formula of Arabic (pita, shamy) bread

Таблица 4. Рецепт арабского хлеба (пита, шами)

Raw material	%	References
Wheat flour 72%	100	
Water	60	
Salt	2	[7]
Yeast	1.5	
Sugar	2	

3.2. Rheological properties of dough

Various rheological parameters of farinograph and extensograph are listed in Table 5. These parameters include water absorption, arrival time, dough development time, dough stability, and weakening of Balady bread dough (wheat flour 82% extraction). Also, parameters of extensogram (Table 5) include dough extensibility, resistance to extension, maximum resistance to extension, dough energy, and proportional number as reported by Hussein et al. [6].

Table 5. Farinograph and Extensograph parameters of balady bread flour [6]

Таблица 5. Фаринографические и экстенсографические параметры муки для хлеба балади [6]

Sample	Farinograph parameters				
	Water absorption (%)	Arrival time (min)	Dough development (min)	Dough stability (min)	Weakening (BU)
Balady bread flour (82% Extr)	66.4	1.0	2.5	13.5	20
Extensograph parameters					
	Dough extensibility (E) (cm)	Resistance to extension (R) (BU)	Maximum resistance to extension (BU)	Proportional number (R/E)	Dough energy (cm ²)
	155	490	410	2.64	97

3.3. Preparation of balady bread

To one thousand gram of wheat flour (82% extraction), 10 g of dry yeast, 15 g of sodium chloride, and 760 ml of water were added and mixed in a mixer for 25 min. The formed dough was left for 45 min for fermentation at 30 °C and 85% relative humidity. The dough was divided into pieces (160 g each), sprinkled with a bran layer, and left for another 45 min to complete the fermentation. The fermented dough pieces were flattened to about 20 cm in diameter and 0.5 cm thickness and baked at 450–500 °C for 1.5–2 min. Bread loaves were allowed to cool on wooden racks for 30 min at room temperature and then packed in polyethylene bags [6,10].

3.4. Bread baking

Bread baking is the critical step in which the dough is transformed into a light, porous, readily digestible, and flavorful product, under the impact of heat. Thus, good quality bread production requires a carefully controlled baking process, including the rate and amount of heat application and the humidity level in the baking chamber and baking time [11]. Balady bread is a flat, circular loaf consisting of two layers and usually baked at high temperatures for a few minutes [10].

Also, Al-Hajji et al. [12] indicated that temperatures inside the Arabic flat bread during baking do not increase more than a few degrees Celsius above 100. However, this is enough to provide sufficient generation of steam with a high enough internal pressure to drive the characteristic puffing that occurs in successful bread baking. The end point of the baking process depends on quality aspects that are critical in the acceptance of the bread by a consumer, such as color, texture, and flavor [13,14]. Furthermore, Table 6 exhibits baking temperatures and times used for balady bread making as reported by El-Samahy and Tsen [1] and Hallab et al. [15].

Table 6. Balady bread baking conditions

Таблица 6. Условия выпечки хлеба балади

Baking temperature, °C	Time, min.	References
400–600	0.66–1	[15]
300–350	3–4	[1]
450–500	1–2	[10]

3.5. The common types of flat breads produced in worldwide

Balady bread is flat and circular, formed from two separated thin layers (crust: upper layer; and crumb: lower layer), 1 cm thick, the loaf diameter ranged from 15 to 20 cm, and the weight ranged from 70 to 90 gm (Table 7). It characteristically consists of two layers, which form

as a result of internal puffing during baking [12]. Table 8 illustrates some types of flat breads (their formulas and characteristics) produced in different countries. Also, Figure 1 shows the classification of flat bread in various countries.

Table 7. Proximate chemical composition of balady bread

Таблица 7. Приближённый химический состав хлеба балади

Parameters	%	References
Moisture	34.52	[6]
Ash	1.50	
Fiber	1.65	
Protein	11.60	
Lipid	1.62	
CHO	83.63	

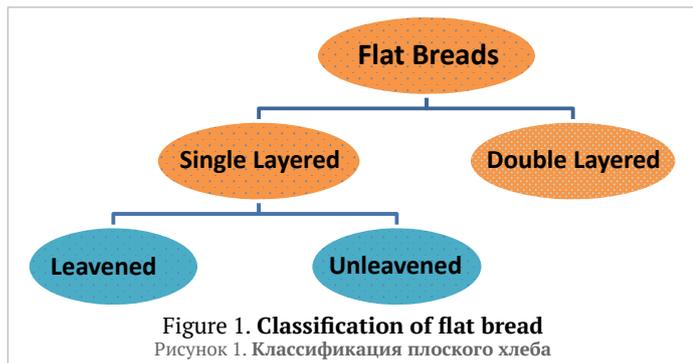


Table 8. The most common flat bread types produced worldwide

Таблица 8. Наиболее распространенные виды плоского хлеба, производимого в мире

Bread name	Contents	Raising agents	Properties	Zone	References
Balady bread	Hard wheat (82% ext.), salt, starter (fermented dough), or dry yeast and water	Yeast or starter (fermented dough)	Flat, circular, separated two thin layers (crust: upper layer; and crumb: lower layer), 1 cm thickness, loaf diameter ranged from 15 to 20 cm and weight ranged from 70 to 90 gm.	Egypt and the Middle East	[6]
Arabic (pita, shamy, Syrian, pocket) bread	Flour, water, baker's yeast and salt	Yeast	Round, leavened two (double) layered flat breads	The Middle East	[3]
Egyptian Shamsi bread	Flour, water, baker's yeast and salt	Yeast + sun heat, i. e., open air, under the direct sunlight	Round in shape, single layered, of about 15–20 cm diameter and 10 cm thickness.	Egypt	[16]
Tandoori (Taftoon)	Wheat flour, yeast, or sour dough	Yeast or sour dough	A single layer, circular in shape, 40–50 cm diameter	Iran, Pakistan, and India	[17]
Parotta	Whole wheat flour with 2.5% salt, 65% water, and 40% shortening	unleavened	Flexible handfeel, soft and slightly chewy texture, one layer	India	[18]
Puri	Fried product (deep-fat-fried in preheated oil at 180–200 °C for 25 s) prepared from whole wheat flour	unleavened	Fried product and consumed as snacks	India, Pakistan, and Bangladesh	
Lavash	Hard wheat (82% ext.)	unleavened	Single-layered, has an oval or rectangular (60–70 cm long, 30–40 cm wide) shape and a 2 to 3 mm thickness with a creamy white color	South Asia	
Barbari	Wheat flour, baking soda, mixed in the boiling water	baking soda	The bread is usually 70 to 80 cm long and 25 to 30 cm wide with a thickness of about 3.5 cm	Iran	
Chapatti	Whole wheat flour, salt, oil, and an appropriate amount of water	unleavened	Single layered round in shape of about 15 cm diameter and 0.2 cm thickness	India	[3]
Sangak	Flour of 95% extraction rate, salt (1.5%), sourdough (20%), yeast (0.5%), and water (85%)	Yeast and sour dough	Sourdough flat bread, 70–80 cm long, 40–50 cm wide, and 3–5 mm thick; its surface is sprinkled with sesame	Iran	
Rye flat bread	Barley, oat, rye, and wheat flours, yeast, salt, and sugar with water	Yeast	0.7 to 1.0 cm thickness. Round (5.0 cm diameter)	Scandinavian countries	
Tortilla	Finely ground maize (corn) or wheat flour	unleavened	Thin, one (single) layered flat bread, a flexible texture	Central and South America	
Bazlama	Wheat flour, yeast, salt, sugar, yoghurt, and water	Yeast	Single layered, flat, circular, thickness 3 cm and diameter (10 to 20 cm)	Turkey and the Middle East	
Pide	Flour, salt, water, shortening, sugar, yeast	Yeast	Round shaped flat bread, thickness 1.5–2 cm and diameter 20–25 cm	Turkey	
Yufka	Flour, water, salt, a little vinegar or lemon juice, very little olive oil	unleavened	Round, cream-colored, and single layered flat bread, thickness 1 to 2 mm, diameter 40 to 50 mm	Turkey	

3.6. Bread quality

3.6.1 Physical characteristics of bread

In Egypt, as well as the Middle East, the most popular type of bread is a flat (balady bread), circular loaf (1 cm thickness, 10 to 30 cm diameter) consisting of two layers [19].

Physical characteristics include weight (g), volume (cm³), and specific volume (cm³/g) of prepared bread samples.

3.6.2. Color attributes of balady bread

Lightness (L), red content (a) and yellow content (b) values of crust and crumb of different prepared bread samples were determined by using a Hunter Lab color measurement system.

Color analysis of food is an important field, always related strongly to market and consumer acceptability, as it controls the first impression of any food product. L* a* b* values (L* value is a measure of lightness ranging from 0 (black) to 100 (white), a* value ranges from –100 (greenness) to +100 (redness) and b* value ranges from –100 (blueness) to +100 (yellowness) describe the color differences between samples (either crust or crumb colors).

Changes in bread color may be due to baking at different temperatures and times and consequently the browning reaction that occurs in bread samples. Elawad et al., [11] stated that the color of bread depends on the moisture evaporation from dough and Millard reaction during the baking process. The lower crust lightness (L*) of bread crust was probably related to baking temperature. Baking temperature and time reduced all the color values [20]. Increasing baking temperature and time caused an obvious reduction in L* value thus, darker bread color. Temperature and time of baking process had negative linear relationship with L*, a* and b* of bread color values [11]. Breads baked at a higher temperature were generally of better quality than those baked at a lower temperature. Lower baking temperatures failed to yield breads with desirable bread crust and crumb color [10].

3.6.3. Sensory evaluation of bread

Fresh samples of the different substitutes of balady bread were given three-digit codes and organoleptically evaluated by semi-trained panelists. All samples were evaluated for crust color, crumb color, taste, odor, and overall acceptability on a ten-point hedonic scale, on which a score of 10 represented attributes most liked; 5 represented attributes at an unacceptable margin; and 1 represented attributes most disliked, according to Stone and Sidel [21].

3.6.4. Freshness of Balady bread (staling retardation)

Bread staling is a mix of physical and chemical changes in the bread quality, i. e., crumb hardening, crust softening, and loss of fresh flavor [22,23,24]. Up to date, staling mechanisms have not been well understood. However, the retrogradation of starch (recrystallization) and the water loss have been considered by many authors to be the most important factors affecting the staling [24,25,26].

Various procedures were used for assessing the bread staling rate during storage, such as the traditional Alkaline Water Retention Capacity (AWRC), Texture Profile Analysis (TPA), Thermal Analysis [27], calorimetric methods [28], X-ray crystallography [29], NMR spectroscopy [30,31]. Staling was retarded using either different antistaling agents during the preparation of bread dough as a pretreatment or bread freezing as a post-treatment.

4. Bread oven and its effect on environment, energy consumption

The traditional baking ovens are built by local labors without any design principles, which are used to build the improved baking oven. Therefore, the improved baking oven is more efficient than traditional baking ovens in terms of heat and mass transfer, baking time, and product quality [32]. Energy efficiency of solid fuel bread ovens is 49% at a permanent temperature value in the baking chamber of 220 °C [33]. Local bakers prefer baking as a career but are hindered by financing options and need help as they could not meet microfinance requirements that guarantee the loan payback [34]. The consumed specific energy was 3.57, 2.92, 2.54 and 1.93 kWh/kg-1 for Magr Baladi bread oven, while it was 4.35, 3.54, 3.11 and 2.53 kWh/kg-1 for Mawi Baladi bread oven at belt speeds 1.18, 1.97, 2.40 and 3.55 ms⁻¹, respectively [35]. In a small-scale bread production oven, the baking capacity, baking efficiency, weight loss and optimum baking temperature were: 101.9 kg/h, 46.44% (wood-fired); 70.34% (gas-fired), 13.5 g (wood-fired); and 25.5 g (gas-fired), 150 °C, respectively [36]. Combustion of biomass in small-scale bakery ovens (Wood-Fired Bakery Oven) is widely used in many countries. Although there have been three decades of policies against biomass-based cooking in Africa, demand for fuel wood continues to increase. They depend mainly on fuel wood, collected manually from the surrounding forests, or purchased from (mostly female) suppliers, retailers, or wholesalers [37]. Design and construction of ovens for baking bread are considered complex scientific and industrial problems. Therefore, using simulation models in motion studies of heating gases inside oven spaces is very important in heat uniformity distribution to increase bread quality and decrease both fuel consumption and bad environmental impact [38]. Baking requires air temperatures ranging from 200 °C to 250 °C. Such temperatures can be achieved using solar energy, which is abundant in the developing countries suffering from high energy costs [39].

Traditional cooking methods using fuel woods cause air pollution and land degradation on the local and regional levels. Therefore, using four-reflector solar baking oven is considered a suitable solution for overcoming these problems [40]. A huge part of energy obtained from fuelwood is wasted in non-conventional ovens. Therefore, improvements in efficient utilization of fuelwood in nonconventional bakery ovens are needed [41]. Volatile compounds are lost in the high temperature oven during baking and toasting of gluten-free bread dough in comparison with wheat bread, which could partially explain the richer aroma in wheat bread [42]. The small-scale single-powered baking oven using wood fuel was successfully modified and optimized into a dual-powered oven using fuel gas [36]. The bread is considered one of the basic elements of people life and the main part of their food throughout the historical eras [43]. Temperature uniformity inside the oven leads to good bread quality and is more energy-efficient due to low specific energy consumption [44]. Good thermal insulation of the walls, closing the handling gates using transparent panels, and placing temperature sensors inside the ovens are important design criteria to reduce heat loss and increase the efficiency of energy use for bread baking [45]. Baking time is very important, since the porosity, mean pore volume, and mean coordination number of spaces in bread increase with increasing time inside the oven; and local cell wall thickness decreases with time increase [46]. Electric resistance (ER) baking is a

method of baking bread in many countries. This method is based on heating dough as an electric resistor. Briefly, when a current is passed through a dough, heat is generated inside the dough; the amount of generated heat depends on the used current, resistance of used dough and current passage time [47]. Indirect radiation-cyclotherm, indirect convection, hybrid, and industrial tunnel-ITO are used for baking bread with modification of the quality parameters of the crackers [48].

Optimization of the bread-baking process depends on supply and control of heat within the oven with minimal loss. While, the available data on optimizing burner designs for efficient heat supply is very limited [49]. The bread weight loss is increased with increasing oven temperature. Due to increasing oven temperatures from 180 to 220 °C, the bread temperature increased from 112.73 to 168.49 °C and the bread weight loss increased from 22.40 to 52.46% [50]. Wood specific consumptions were found to be 0.55 and 0.90 kg of wood per kg of wheat flour baked using the indirect and semi-direct ovens, respectively. Also, variation of the temperature distribution during the baking process was influencing the quality of the baked bread [51]. The charcoal ovens for baking bread could be constructed with locally available materials (mild steel and angle bars). The maximum temperature attainable with an oven with an area of 315000 mm² is about 500 °C and capable of generating 1488 KJ of heat energy [52]. The thermal efficiency of volumetric ceramic (porous) oven technology can be reached at 60% of the total exchanged thermal energy. But, its application in the food industry is not found [53].

The bread baking ovens are thermally insulated chambers. It is the most widely used appliance in the food industry [45]. An electric coil heater and the gas burner with temperature regulator are used in one chamber of a locally made oven. The maximum temperature of 220 °C was recorded through the baking process. Insulated material (slag wool) that has a thermal conductivity of 0.042 W/m °C was used [54]. Weight loss of bread is increasing with increasing oven temperature. Whereas with increasing oven temperature from 180 to 220 °C, the bread increased temperature from 112.73 to 168.49 °C and the weight loss of bread increased from 22.40 to 52.46% [50]. Using electrical resistors and heat regulators in baking ovens gives great potential for controlling the quality of bread in comparison with other sources [55]. In the evaluation process of the effect of wheat flour substitution by different levels of whole barley flour, the flat loaves were proofed at temperatures from 380 to 450 °C for 1–2 min inside the oven [56]. The optimum baking time and temperature were (20 min) and 200 °C for a rotary oven at 10 rpm oven rack speed. The rotary oven could be used for both domestic and industrial production of bread and other bakery products [57]. Numerical results in using ohmic heating technology showed that the linear evolution of temperature with heating time was mainly caused by heat losses [58]. Energy source and control of heat within ovens chambers with minimal loss are considered integral processes in optimizing both quality and quantity of the bread-baking process [49].

5. General model of balady bread ovens in Egypt

A field survey in Egypt was done to determine the main features of balady bread ovens in Egypt. Oven dimensions, construction materials, heating systems, and mechanical tools were recorded and analyzed to produce a general model. Concrete footings with a thickness of 30 cm are constructed to cover soil under the ovens. Oven walls and ceilings are constructed from double layers of thermal clay bricks separated with natural isolation materials. Natural cement made of clay soil is used between bricks in the construction process of both walls and ceilings. Oven ceilings are constructed as cylindrical arc made of thermal bricks and natural cement. The oven external cover made of stainless steel sheets is constructed to improve the external appearance and protect the oven. A steel conveyor made of grades and chains is used to move breads from entrance and exit gates through the baking process. Three phase electric motor contacted with gearbox to move the steel conveyor at linear suitable speed. Gas flammers are used as energy sources inside ovens for the baking process. Exhaust systems consist of a stuck and chimney that is used to divert oven exhaust gases outside in high points over the building.

Usually, the balady bread ovens are constructed in three stages. Figure 2 shows the construction of oven walls from zero level to 40 cm above the concrete footing. The concrete footing dimensions are 230×600×30 cm for width, length, and height, respectively. Oven dimensions at the first stage are 180×400×40 cm for width, length and height respectively. Dimensions of oven internal space are 90×400×40 cm for width, length, and height. Two extensions with dimensions of 115×87.5×40 cm for width, length and height are found at the entrance and exit gates of the oven. Oven walls are constructed of double walls of thermal bricks separated by natural isolation materials called "clay soil". Figure 3 shows the construction of oven walls from 40 to 115 cm above the concrete footing.

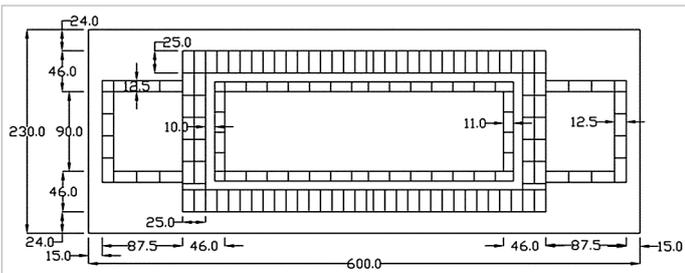


Figure 2. First stage of the oven walls construction from zero level to 40 cm above the concrete base

Рисунок 2. Первая стадия конструирования стен печи с нулевого уровня до 40 см выше бетонного основания

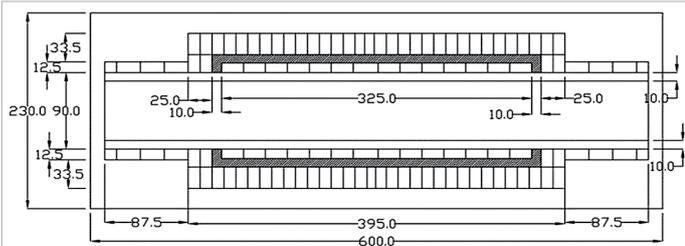


Figure 3. Second stage of the oven walls construction from 40 cm to 115 cm above the concrete base

Рисунок 3. Вторая стадия конструирования стен печи с 40 см до 115 см выше бетонного основания

At 40 cm level iron bars are installed on side walls to control movement of chain grades conveyor from the entrance gate to the exit gate. Dimensions of the chain grades conveyor are 90×585 cm for width and length, respectively. Figure 4 shows the installation process of chain grades conveyor on the fixed steel bars. A clearance of 5 cm is left between side walls and chain grades conveyor to keep flexibility to replace any part of chain grades conveyor when doing maintenance. Chain grades conveyor is extended 87.5 cm out of entrance and exit gates to keep the baker away from the direct heat.

Figure 5 shows a side view of the oven containing concrete footing, oven side wall and oven extension. Two gas flammers are installed, the first is fixed on one of the side walls between the two layers of the chain grades conveyor for heating chain grades under bread dough, but the second is fixed above the exit gate for heating air around bread dough. Chimneys with stuck are installed above the oven exit gate to ensure getting rid of exhaust gases outside the baking building. Figure 6 shows front and back view details of

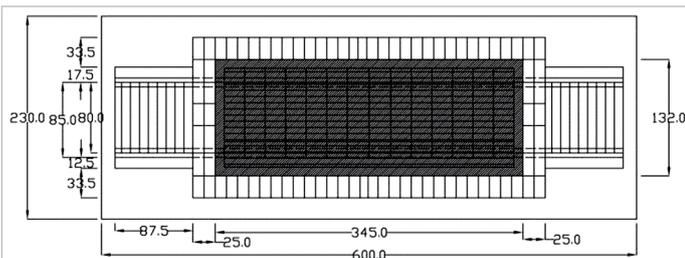


Figure 4. Final stage of the oven walls construction and chain conveyor installation

Рисунок 4. Финальная стадия конструирования стен печи и установка цепного конвейера

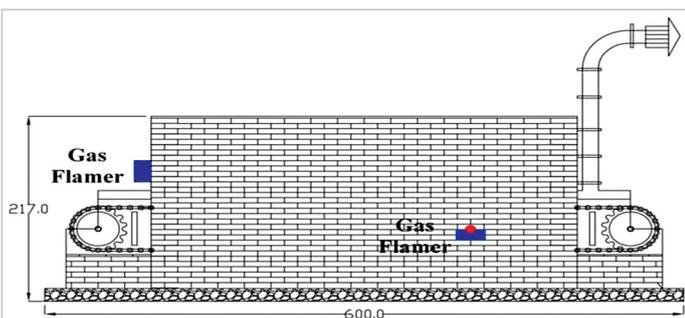


Figure 5. Side view of the oven

Рисунок 5. Боковая проекция печи

the oven containing a concrete base, brick walls, isolation material, chain grades conveyor, baking space, and bread dough at the entrance gate. It also shows concrete base, brick walls, isolation material, chain grades conveyor, gas flamer, baking space, and bread at exit gate.

Figure 7 shows a longitudinal section of the oven containing a concrete base, brick walls, isolation material, chain grades conveyor, gas flamer, baking space, and bread dough motion on the chain grades conveyor. Due to the high temperature of the chain grades conveyor under bread dough and the high temperature of air around bread dough, the bread dough is swelling in a semi sphere shape, containing vapor and gases inside. Figure 8 shows an oven cross sectional area containing all details mentioned above. Figure 9 shows the external cover and some

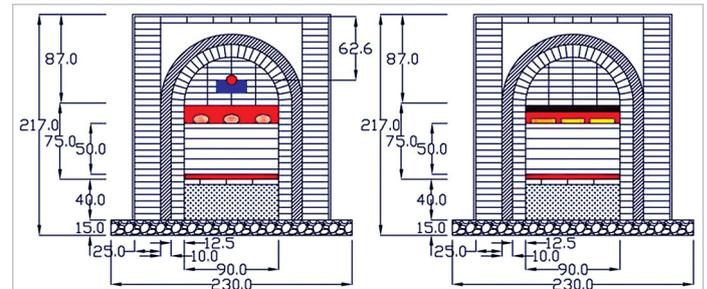


Figure 6. Front and back views of the oven

Рисунок 6. Фронтальная и задняя проекции печи

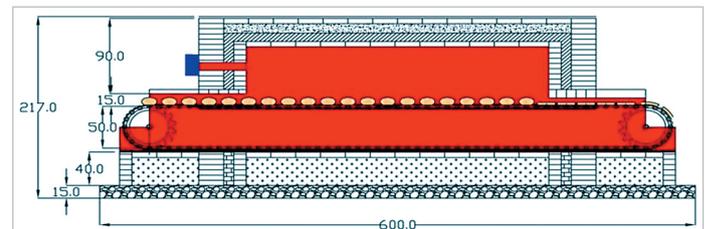


Figure 7. Longitudinal section of the oven

Рисунок 7. Продольный разрез печи

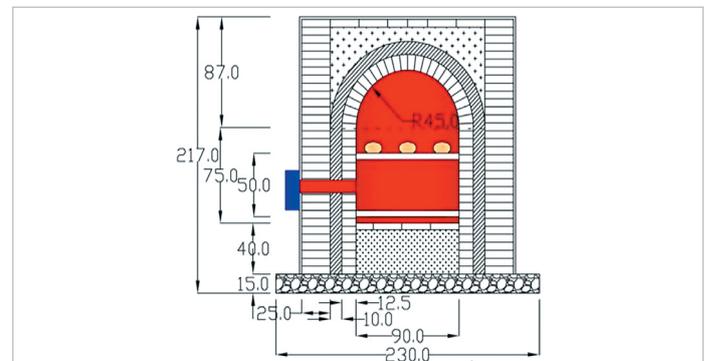


Figure 8. Cross sectional area of the oven

Рисунок 8. Поперечное сечение печи

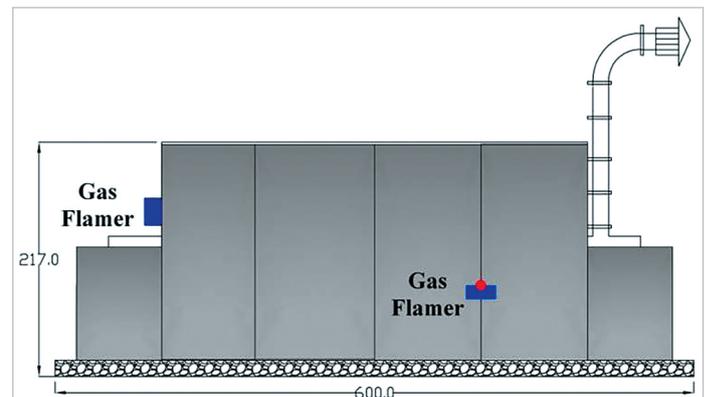
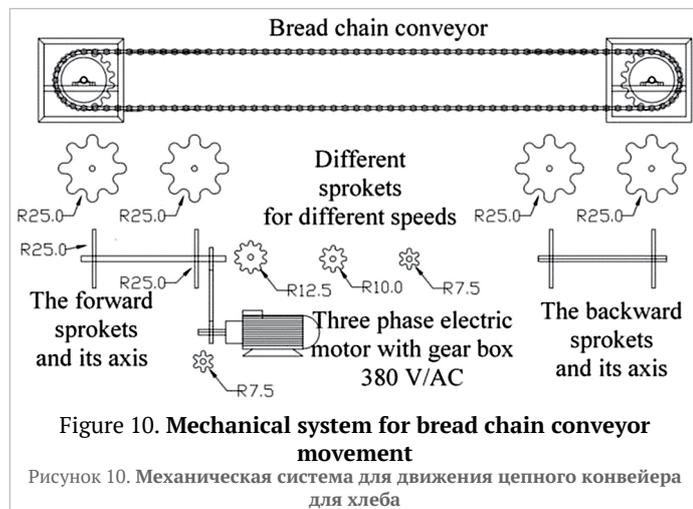


Figure 9. Side view of the oven covered with stainless steel sheets

Рисунок 9. Боковая проекция печи, покрытой листами из нержавеющей стали

components of the oven. Usually, the external cover is made of a stainless steel layer around the oven body. This cover is very important in the external cleaning and protecting process of the oven. Figure 10 shows details of the chain grades conveyor, electric motor, and transmission system from the electric motor to the chain grades conveyor through the baking process.



The mentioned above is the common specifications and general design of balady bread industry oven in Egypt on a commercial scale. Oven length could be more or less than 600 cm depending on available space in the baking building. Also, oven width could be more or less than 90 cm depending on the needed productivity of bread per hour. However, the commercial bread ovens in Egypt are working under the control of the governmental environmental associations. In general, balady bread ovens could be constructed by both ordinary construction workers and ordinary technicians in Egypt. To “keep the environment, minimize heat losses, maximize quantity and quality of production, and assure economic visibility”, the determination of oven dimensions, selecting construction materials, and transmission systems must be done by oven designers.

6. Conclusion

Flat bread is consumed with almost every meal in Egypt and the Middle East. Manufacturing of balady bread requires special characteristics in both raw materials and dough. Balady bread is made mostly from wheat flour, water, sodium chloride, and yeast. Their main technical characteristics could be summarized as follows: Flour was from hard wheat (85% extraction), the leavening agent was either compressed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) or starter (fermented dough), salt, and water. The baking temperatures were 400–500 °C for 1–2 minutes. For protecting the environment, heat loss minimization, quantity maximization, improving quality of production and assuring economic visibility, determination of oven dimensions, selecting construction materials and transmission systems must be done by oven designers. More development and further studies in flat bread raw materials, production, used ovens, and fuels are needed.

REFERENCES

1. El-Samahy, S.K., Tsen, C.C. (1981). Effect of varying baking temperature and time on the quality and nutritive value of balady bread. *Cereal Chemistry*, 58(6), 546–548.
2. Wally, A., Beillard, M.J. (2019). Egypt: Grain and Feed Annual 2019. USDA, Foreign Agricultural Service. Global Information Network. Gain Report Number: EG19002.
3. Gocmen, D., Inkaya, A. N., Aydin, E. (2009). Flat breads. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15, 298–306.
4. Eshak, N. S. (2016). Sensory evaluation and nutritional value of balady flat bread supplemented with banana peels as a natural source of dietary fiber. *Annals of Agricultural Science*, 61(2), 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2016.07.002>
5. Mousa, E.I., Ibrahim, R.H., Shuey, W.C., Maneval, R.D. (1979). Influence of wheat classes, flour extractions, and baking methods on Egyptian balady bread. *Cereal Chemistry*, 56(6), 563–566.
6. Hussein, A. M. S., El-Aal, H. A. A., Morsy, N. M., Hassona, M. M. (2024). Chemical, rheological, and sensorial properties of Baladi bread supplemented with buckwheat flour produced in Egypt. *Scientific Reports*, 14(1), Article 3127. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48686-1>
7. Elkatry, H. O., El-Beltagi, H. S., Ramadan, K. M. A., Ahmed, A. R., Mohamed, H. I., Al-Otaibi, H. H. et al. (2023). The chemical, rheological, and sensorial characteristics of Arabic bread prepared from wheat-orange sweet potatoes flour or peel. *Foods*, 12(8), Article 1658. <https://doi.org/10.3390/foods12081658>
8. Al-Snafi, P. D. A. E. (2017). A review on Fagopyrum esculentum: A potential medicinal plant. *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR)*, 07(03), 21–32. <https://doi.org/10.9790/3013-0703012132>
9. El-Kholie, E.M., Abd El-Rahman, T.M., Hamouda, A.A. (2015). Evaluation the nutritional value of Kemmak and baladi bread produced in Damietta Governorate. *Journal of Home Economics*, 25(1), 29–43.
10. Faridi, H.A., Rubenthaler, G.L. (1984). Effect of baking time and temperature on bread quality, starch gelatinization, and staling of Egyptian balady bread. *Cereal Chemistry*, 61(2), 151–154.
11. Elawad, R.M.O., Yang, T.A., Mudawi, H.A., Abdelrahim, S.M.K. (2017). Effect of superheated steam and conventional oven baking process on quality attributes of bread. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2(5), 196–202.
12. Al-Hajji, L., Nassehi, V., Stapley, A. (2016). Spatial variation of starch retrogradation in Arabic flat bread during storage. *Journal of Food Engineering*, 187, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.04.014>
13. Ahrné, L., Andersson, C.G., Floberg, P., Rosén, J., Lingnert, H. (2007). Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: Steam and falling temperature baking. *LWT-Food Science and Technology*, 40(10), 1708–1715. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.01.010>
14. Purlis, E., Salvadori, V.O. (2007). Bread browning kinetics during baking. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1107–1115. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.09.007>
15. Hallab, A.H., Khatchadourian, H.A., Jabr, I. (1974). The nutritive value and organoleptic properties of white Arabic bread supplemented with soybean and chickpea. *Cereal Chemists*, 51, 106–111.
16. Pasqualone, A., Vurro, F., Summo, C., Abd-El-Khalek, M. H., Al-Dmoor, H. H., Grgic, T. et al. (2022). The large and diverse family of Mediterranean flat breads: A database. *Foods*, 11(15), Article 2326. <https://doi.org/10.3390/foods11152326>
17. Salehifar, M., Ardebili, M. S., Azizi, M. H. (2010). Effect of wheat flour protein variations on sensory attributes, texture and staling of Taftoon bread. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(3), 833–837. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612010000300041>
18. Pahwa, A., Kaur, A., Puri, R. (2016). Influence of hydrocolloids on the quality of major flat breads: A review. *Journal of Food Processing*, 2016, Article 8750258. <http://doi.org/10.1155/2016/8750258>
19. Yaseen, A.A., Shouk, A.A., Selim, M.M. (2007). Egyptian balady bread and biscuit quality of wheat and triticale flour blends. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(1), 25–30.
20. Mohd Jusoh, Y.M., Chin, N.L., Yusof, Y.A., Rahman, R.A. (2013). Impact of humidified baking on crust and crumb properties of open bread during storage. *Food Science and Technology Research*, 19(1), 29–37.
21. Stone, H., Sidel, J.L. (1992). Sensory Evaluation Practices. Elsevier, San Diego, 1992.
22. Curti, E., Carini, E., Tribuzio, G., Vittadini, E. (2014). Bread staling: Effect of gluten on physico-chemical properties and molecular mobility. *LWT – Food Science and Technology*, 59(1), 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.057>
23. Amigo, J. M., del Olmo Alvarez, A., Engelsen, M. M., Lundkvist, H., Engelsen, S. B. (2016). Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic α -amylases. Part 1: Spatial distribution and kinetic modeling of hardness and resilience. *Food Chemistry*, 208, 318–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.162>
24. Al-Mahsaneh, M., Aljarrah, M., Rababah, T., Alu'datt, M. (2018). Using MR-FTIR and texture profile to track the effect of storage time and temperature on pita bread staling. *Journal of Food Quality*, 2018, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/8252570>
25. Fadda, C., Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Collar, C., Piga, A. (2014). Bread staling: Updating the view. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 473–492. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12064>
26. Ding, S., Peng, B., Li, Y., Yang, J. (2019). Evaluation of specific volume, texture, thermal features, water mobility, and inhibitory effect of staling in wheat bread affected by maltitol. *Food Chemistry*, 283, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.045>

27. Ribotta, P. D., Le Bail, A. (2007). Thermo-physical assessment of bread during staling. *LWT – Food Science and Technology*, 40(5), 879–884. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.023>
28. Popov-Raljić, J. V., Mastilović, J. S., Laličić-Petronijević, J. G., Popov, V. S. (2009). Investigations of bread production with postponed staling applying instrumental measurements of bread crumb color. *Sensors*, 9(11), 8613–8623. <https://doi.org/10.3390/s91108613>
29. Ribotta, P.D., Cuffini, S., León, A.E., Añón, M.C. (2004). The staling of bread: An X-ray diffraction study. *European Food Research and Technology*, 218(3), 219–223. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0835-8>
30. Curti, E., Bubici, S., Carini, E., Baroni, S., Vittadini, E. (2011). Water molecular dynamics during bread staling by Nuclear Magnetic Resonance. *LWT – Food Science and Technology*, 44(4), 854–859. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.021>
31. Carini, E., Curti, E., Fattori, F., Paciulli, M., Vittadini, E. (2016). Staling of gluten-free breads: Physico-chemical properties and ¹H NMR mobility. *European Food Research and Technology*, 243(5), 867–877. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2801-2>
32. Begum, A., Habiba, U., Aziz, M., Mazumder, M. (2023). Mazumder, design of an improved traditional baking oven and evaluation of baking performance. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, 21(2), 203–213. <http://doi.org/10.5455/JBAU.147464>
33. Kouemou Hatou, C. F., Tchuén, G., Woafó, P. (2021). Modeling, simulation and optimization of solid fuel bread ovens commonly used in developing countries. *Heliyon*, 7(2), Article e06184. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06184>
34. Kargbo, M., Bull, D. A. (2022). Baking, local dry heat mud ovens, and appropriate technology: Implications for social change. *International Journal of Thesis Projects and Dissertations (IJTPD)*, 10(4), 65–78. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7330456>
35. El-Adly, I. F., Bhansawi, A., Ali, S. A., Khater, E.-S. G. (2016). Bread baking process energy requirements as affected by oven belt speed and type of breads. *Misr Journal of Agricultural Engineering*, 33(4), 1497–1514. <http://doi.org/10.21608/mjae.2016.97618>
36. Kosemani, B. S., Ilori, A. T., Atere, A. O. (2021). Modification and optimization of a baking oven for small scale bread production. *Agricultural Sciences*, 12(06), 630–644. <https://doi.org/10.4236/as.2021.126041>
37. Salisu, A. T., Barau, A. S., Carr, J. A., Chunwate, B. T., Jew, E. K. K., Kirshner, J. D. et al. (2024). The forgotten bread oven: Local bakeries, forests and energy transition in Nigeria. *Regional Environmental Change*, 24, Article 40. <https://doi.org/10.1007/s10113-024-02194-8>
38. Litovchenko, I. (2013). The study of the baking ovens by computer simulation. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*, 17(2), 107–114.
39. Moseme Forsythe, H. D., Madyira, D. M. (2019). Experimental performance assessment of a solar powered baking oven. *Procedia Manufacturing*, 35, 535–540. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2019.05.076>
40. Gwani, M., Umar, A., Abubakar, A. (2024). Design, fabrication, and performance evaluation of four-reflector solar baking oven. *Renewable Energy Research and Applications*, 5(1), 82–92. <https://doi.org/10.22044/rera.2023.12930.1219>
41. Duvuna, G. A., Abur, B. T. (2014). Effective energy utilization in non-conventional bakery ovens (A case study of Adamawa State, Nigeria). *International Journal of Current Engineering and Technology*, 4(3), 1412–1417.
42. Pico, J., Khomenko, I., Capozzi, V., Navarini, L., Biasioli, F. (2020). Real-time monitoring of volatile compounds losses in the oven during baking and toasting of gluten-free bread doughs: A PTR-MS evidence. *Foods*, 9(10), Article 1498. <https://doi.org/10.3390/foods9101498>
43. Hamdy, H., Fekri, M., Sobhi, H., Hamam, M. (2022). The religious and societal importance of bread ovens inside the temples of the New Kingdom. *International Journal of Tourism, Archaeology, and Hospitality (IJTAH)*, 2(2), 190–202.
44. Khatir, Z., Taherkhani, A. R., Paton, J., Thompson, H., Kapur, N., Toropov, V. (2015). Energy thermal management in commercial bread-baking using a multi-objective optimisation framework. *Applied Thermal Engineering*, 80, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2015.01.042>
45. Okoronkwo E. N., Nnam R. E., Adindu P. U. (2022). Design and characterization of a gas-powered baking oven fabricated with local engineering materials. *Advanced Journal of Science, Technology and Engineering*, 2(1), 63–77. <https://doi.org/10.52589/ajste-9ccaio1b>
46. Schott, F., Isaksson, S., Larsson, E., Marone, F., Öhgren, C., Röding, M. et al. (2023). Structural formation during bread baking in a combined microwave-convective oven determined by sub-second in-situ synchrotron X-ray microtomography. *Food Research International*, 173 (Part 1), Article 113283. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113283>
47. Kulishov, B. A., Soboleva, E. V., Sergacheva, E. S., Novoselov, A. G. (February 26–29, 2020). *Electric resistance baking as a method for production of toast bread*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Volume 640, International Conference on Production and Processing of Agricultural Raw Materials. Voronezh, Russian Federation, 2020. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/7/072007>
48. Saberi, F., Kouhsari, F., Abbasi, S., Rosell, C. M., Amini, M. (2021). Effect of baking in different ovens on the quality and structural characteristics of saltine crackers. *International Journal of Food Science and Technology*, 56, 6559–6571. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15372>
49. Kofi, S. D., Kwabena, O. G., Addai, B., Anto, M. (2024). Comparative analysis of different burner concepts in a locally manufactured bread-baking oven. *International Journal of Energy and Power Engineering*, 13(3), 42–51. <https://doi.org/10.11648/j.ijep.20241303.11>
50. Khater, E.-S. G., Bahnasawy, A.H. (2014). Heat and mass balance for baking process. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*, 4(7), Article 1000190. <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000190>
51. Manhiça, F. A., Lucas, C., Richards, T. (2012). Wood consumption and analysis of the bread baking process in wood-fired bakery ovens. *Applied Thermal Engineering*, 47, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2012.03.007>
52. Asibeluo, I.S., Okeri, P.E., Onwurah, C., Adioyba M. (2015). Entrepreneurial skill development: A case study of the design and construction of charcoal baking oven. *International Journal of Engineering Research*, 4(11), 592–595. <https://doi.org/10.17950/ijer/v4s11/1103>
53. Raab, F., Zbogar-Rasic, A., Jovicic, V., Delgado, A. (November 10–12, 2015). *Characterization of the heat transfer within the baking oven based on the volumetric ceramic burner (VCB) technology*. 29th European Federation of Food Science and Technology (EFFoST) International Conference. Athens, Greece.
54. Chukwuneka, J. L., Nwuzor, I. C., Anisiji, E. O., Ditemie, I. E. (2018). Design and fabrication of a dual powered baking oven. *Advances in Research*, 16(4), 1–8. <https://doi.org/10.9734/air/2018/43219>
55. Bender, D., Gratz, M., Vogt, S., Fauster, T., Wicki, B., Pichler, S. et al. (2019). Ohmic heating – a novel approach for gluten-free bread baking. *Food and Bioprocess Technology*, 12(9), 1603–1613. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02324-9>
56. Fahmy, H., Abd-Elmaksoud, B. (2020). Production of Balady bread from wheat, barley and oat flour and its effect on blood glucose level of hyperglycemic rats. *Archives of Agriculture Sciences Journal*, 3(2), 224–238. <https://doi.org/10.21608/aasj.2020.48297.1045>
57. Sanusi, M. S., Sunmonu, M. O., Adepoju, A. L., Abodunrin, T. O., Ajibade, H. A. (2021). Development and evaluation of the operational parameters of a rotary oven. *Nigerian Journal of Technological Development*, 17(4), 239–249. <https://doi.org/10.4314/njtd.v17i4.1>
58. Gally, T., Rouaud, O., Jury, V., Le-Bail, A. (2016). Bread baking using ohmic heating technology; a comprehensive study based on experiments and modelling. *Journal of Food Engineering*, 190, 176–184. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.06.029>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p>Abdalla S. M. Ammar, Professor, Food Science and Technology Department, Faculty of Agriculture, Cairo University 1 Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2-0101-997-17-99 E-mail: abdallaammar@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9919-8760 * corresponding author</p>	<p>Аммар Абдалла С. М. — профессор, кафедра науки о питании и технологии, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа Тел.: +2-0101-997-17-99 E-mail: abdallaammar@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-99198760 * автор для контактов</p>
<p>Khaled K. Hegab, Professor, Agricultural Engineering Department, Faculty of Agriculture, Cairo University Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2-0155-951-96-28 E-mail: hegab27@yahoo.com ORCID: https://orcid.org/0009-0007-3320-5634</p>	<p>Хегаб Халед К., профессор, Кафедра сельскохозяйственного машиностроения, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа Тел.: +2-0155-951-96-28 E-mail: hegab27@yahoo.com ORCID: https://orcid.org/0009-0007-3320-5634</p>
Contribution	Критерии авторства
<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>	<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p>
Conflict of interest	Конфликт интересов
<p>The authors declare no conflict of interest.</p>	<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-620-626>



Received 15.08.2024

Accepted in revised 18.12.2024

Accepted for publication 25.12.2024

© Dyab A. S., Atieya K. M., Abdel Salam M. A., 2024

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

Original scientific article

Open access

IMPROVEMENT AND QUALITY EVALUATION OF RUTAB DATE PASTE FORTIFIED WITH WHEAT GERM

Ayman S. Dyab*, Khaled M. Atieya, Mustafa A. L. Abdel Salam

Horticultural Crops Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center, Giza, Egypt

KEY WORDS:

soft date, sensory evaluation, bioactive compounds, peroxide value, fatty acids

ABSTRACT

This investigation aimed to utilize wheat germ to improve the nutritional value and sensory properties of date pastes. Wheat germ was added to the soft date paste at different concentrations (5, 10%, and 15%). Chemical composition, bioactive compounds, browning index, fatty acids, microbiological quality, and peroxide values were estimated. Substitution with wheat germ significantly increased the ash, protein, and fat contents of the treatments, and decreased total sugars and total carbohydrates. In addition, the incorporation of wheat germ into the date paste led to a decrease in water activity. The color index of fortified date paste was improved and unsaturated fatty acids, such as oleic acid, linoleic acid, and linolenic acid, increased. A reduction in the total bacterial, yeast, and mold counts was observed. The highest score of the index of acceptance was recorded for 15%, followed by 10% and 5%, and the lowest score was for the control sample.

Поступила 15.08.2024

Поступила после рецензирования 18.12.2024

Принята в печать 25.12.2024

© Дайяб А. С., Атия К. М., Абдель Салам М. А., 2024

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

Научная статья

Open access

УЛУЧШЕНИЕ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ФИНИКОВОЙ ПАСТЫ RUTAB, ОБОГАЩЕННОЙ ЗАРОДЫШАМИ ПШЕНИЦЫ

Дайяб А. С.,* Атия К. М., Абдель Салам М. А.

Научно-исследовательский отдел технологий садоводства, Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований, Гиза, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

мягкие финики, сенсорная оценка, биоактивные соединения, пероксидное число, жирные кислоты

Целью данного исследования было использование зародышей пшеницы для улучшения пищевой ценности и сенсорных свойств финиковой пасты. Зародыши пшеницы были добавлены к пасте из мягких фиников в различной концентрации (5, 10% и 15%). Оценивали химический состав, биоактивные соединения, индекс побурения, жирные кислоты, микробиологическое качество и пероксидное число. Введение пшеничных зародышей значимо увеличивало содержание золы, белка и жира в образцах и снижало общее содержание сахаров и углеводов. Кроме того, добавление зародышей пшеницы к финиковой пасте приводило к снижению активности воды. Индекс цвета обогащенной финиковой пасты улучшался, а содержание ненасыщенных жирных кислот, таких как олеиновая кислота, линолевая кислота и линоленовая кислота, увеличивалось. Наблюдалось снижение общего количества бактерий, дрожжей и плесневых грибов. Наивысший балл индекса приемлемости был зарегистрирован для образца с 15%, за которым следовали образцы с 10% и 5%, в то время как контрольный образец получил наименьший балл.

1. Introduction

Date fruits are rich in bioactive compounds such as polyphenolic compounds, anthocyanins, sterols, and carotenoids, as well as nutritional components such as sugars, dietary fiber, certain essential vitamins, and minerals. These components can be acquired through suitable manufacturing processes as well as by converting their by-products into new products, or extracting the compounds of interest [1]. Egypt is considered the largest country for date production over the world with 1.75 million tons [2], which is around 18% of the global date production. Egyptian Amhat date variety represents 31738 tons. The Egyptian date varieties can be categorized into three groups based on moisture content: semi-dry dates (Siwi, Saidy, Amry, and Aglany), dry dates (Sakkoty, Malkaby, Gondella, Partimoda, and Tamar), and soft dates (Zaghloul, Amhat, Hayany, Bent Aisha, Samany, Oraiby, and Om Elferakh) [3]. About 43.5 to 52% of date fruits in Egypt are soft dates [4,5]. According to El-Sharabasy and Rizk [6], soft dates consumed at the Khalal or Rutab stages are Amhat and Haiani (mid-August). Additionally, semi-dry dates can be processed into Agwa (pressed whole dates) or date paste (minced pitted dates) to increase their market availability. However, since semi-dry date varieties are becoming increasingly in demand for export, processing soft dates like Amhat or other soft dates into date paste is more valuable. Abo Taleb et al. [7] reported that the chemical composition of rutab amhat date was as follows: moisture 71.35%, protein 1.5%, fat 1.3%, total soluble solids 28.65%, pH value 6.76%, total acidity 0.190% and ash content 1.84% (on DW). Also, they found that the mineral content of fresh amhat dates were potas-

sium (K) 370.12mg/100 g, magnesium (Mg) 91.756 mg/100 g, calcium (Ca) 157.56 mg/100 g, manganese (Mn) 0.70 mg/100g, iron (Fe) 0.721 mg/100 g and zinc (Zn) 0.309 mg/100 g.

Date paste is a food product made from sound, uniformly colored dates that are harvested at the right maturity stage, cleaned, pitted, and capped [8].

Wheat germ (WG) is a massive by-product of Egypt's wheat milling industry, with enormous amounts produced yearly. The amount of wheat germ produced by milling wheat was discovered to be around 120,000 tons. In a year, this amount can produce roughly 12,000 tons of wheat germ oil [9]. A healthy nutrition system is thought to start with including wheat germ in one's daily diet [10]. Wheat germ is a valuable by-product of milling and makes up 2–3% of the entire wheat kernel. In fact, WG has anticancer, antihyperlipidemic, and antioxidant properties due to its concentration of high-quality compounds, including proteins, minerals, flavonoids, sterols, and vitamins E and B. This makes WG the most advantageous part of wheat grain [11].

Wheat germ is mainly used for animal feed due to its high nutritional contents, namely, lipids (10–15%), proteins (26–35%) and 17% carbohydrates. However, its oil has a significant industrial value in food, medicine and cosmetics [12]. Significant nutritional and functional qualities found in wheat germ can raise the amount of amino acids in food. Wheat germ can also be added to food as an additive to adjust its properties. Possessing excellent emulsification, foamability, and water retention qualities, wheat germ is a safer natural food additive compared to common syn-

FOR CITATION: Dyab, A. S., Atieya, K. M., Abdel Salam, M. A. (2024). Improvement and quality evaluation of rutab date paste fortified with wheat germ. *Food Systems*, 7(4), 620–626. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-620-626>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Дайяб, А. С., Атия, К. М., Абдель Салам, М. А. (2024). Улучшение и оценка качества финиковой пасты rutab, обогащенной зародышами пшеницы. *Пищевые системы*, 7(4), 620–626. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-620-626>

thetic alternatives. As a result, wheat germ exhibits considerable potential in the food production [13].

Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are compounds responsible for the regulation of biological functions, as they are a structural component of every living cell membrane. Furthermore, they are precursors to eicosanoids, such as prostaglandins, thromboxanes, and leukotrienes, which are hormone-like chemicals affecting the immunological, circulatory, and neurological systems. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are also found in the immunocompetent cells such as neutrophils and monocytes. Generally, PUFAs are not generated in sufficient amount in the human body; therefore, they must be included in the food supply. The avoidance of PUFA depletion is necessary for life, due to the negative consequences of PUFA deficiency for the kidney, heart and skin along with the nervous, reproductive, respiratory, endocrine and immune systems [14,15]. Large quantities of soft date (Amhat date rutab) are cultivated in Egypt and wheat germ is being produced as a by-product of the wheat flour processing. One of the main problems regarding date paste is a tendency to get harder during storage. This study aimed to utilize wheat germ to improve the nutritional value (fat, proteins, fiber and mineral contents), and sensory properties of date paste.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Amhat dates were obtained from Alshaha factory in Badrashin – Giza government and wheat germ was obtained from Al-Mostathmer Milling Factory, Bader City, Sharkia Governorate, Egypt.

2.2. Technological methods

2.2.1. Date paste preparation

Date paste was made from fresh non-commercial low grade amhat date (dates with colors, shapes and sizes that are not demanded by consumers, dates damaged). Dates were washed and immersed in hot water at 80 °C for 3 min to inactive enzymes. Then, pits were removed, pitted dates were partially dried at 65 °C for 8–12 hr to decrease the moisture content and the flesh of dehydrated, pitted soft dates was minced into paste after adding lycopene as an antioxidant (0.05%). Wheat germ was added to soft date paste at different concentrations as follows: 0% (as a control), 5, 10, and 15%. The paste was packed in pouches made of polyethylene and polyamide laminate. The pouches were evacuated and heat sealed. The vacuum-packed paste was immediately cooled and stored at 5 ± 2 °C for 6 months with periodical analyses.

2.3. Analytical methods

2.3.1. Chemical analyses

Moisture and total solids (TS) were determined using the air oven-drying method according to AOAC [16]. Total acidity (as citric acid) and pH value were measured by using a pH meter model 3510 (Jenway Gransmore Green, England). Total sugars, reducing sugars and non-reducing sugars were determined according to AOAC [16]. Fat was determined using Soxhelt apparatus, protein using micro-Kjeldahl apparatus. Ash and crude fiber were determined according to AOAC [16].

Total carbohydrates were calculated by difference as follow:

$$\text{Total carbohydrates} = 100 - (\text{weight in grams [moisture} + \text{protein} + \text{lipids} + \text{ash} + \text{fiber}]) / 100 \text{ g.}$$

Water activity (a_w) was measured with a rotronic HygroLab EA10-SCS (Process Sensing Technologies company, Switzerland). Total phenols were determined using the Folin Ciocalteu reagent method, according to Ghosh et al. [17]. Total flavonoid content was determined according to the method described by Matic et al. [18]. The scavenging ability of the date paste extracts for 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals was determined according to Rojas-Ocampo et al. [19].

2.4. Browning Index

The non-enzymatic browning was measured at 420 nm with a Jenway Model 6705 UV/Visible Spectrophotometer (Jenway, England), and it was measured directly using 60% aqueous ethyl alcohol as a blank [20].

2.5. Mineral profile

The mineral content was analyzed. A microwave digester (Multiwave GO Plus 50 HZ) was used prior to spectrophotometric analysis of the samples by MPAES4210 (Microwave Plasma – Atomic Emission Spectroscopy) (Agilent, Mulgrave, Victoria, Australia) according to Amais et al. [21].

2.6. Total calories estimation

The total calorie content of the treatments was determined using the following formula established by Raymond and Morrow [22]:

$$\text{Total calories} = (\text{fat} \times 9) + (\text{protein} \times 4) + (\text{total carbohydrate} \times 4).$$

2.7. Microbial counts

Microbiological screenings were performed according to [23]. Samples were serially diluted and plated on acidified potato dextrose agar (PDA) for mold and yeast counts and on plate count agar (PCA) for aerobic plate count (APC) in order to determine microbial counts. For both yeast and mold growth as well as total plate counts, plates were incubated at 30 °C for 48 hours.

2.8. Peroxide value estimation

The peroxide value was determined according to AOCS [24] and using the following equation:

$$\text{Peroxide value (meq O}_2\text{/kg oil)} = ((S - B) \times M / W) \times 1000,$$

where: *B* is amount in ml of sodium-thiosulphate used for blank titration, *S* refers to amount in ml of sodium-thiosulphate titrated by the oil sample, *M* is the molarity of sodium-thiosulphate, and *W* is sample weight [25].

2.9. Fractionation of fatty acids

According to ISO 12966–2 [26], fatty acid methyl esters were separated. A 5ml screw-top test tube was used to put 0.1 g of the oil and then 2 ml of iso-octane was added to the tube, which was then shaken. After that, a methanolic potassium hydroxide solution (0.1 ml, 2N) was added to the cap fitted with a PTFE-joint, the cap was tightened, and the mixture was vigorously shaken for 30 seconds. The tube was left to stratify until the upper solution became clear, and the upper layer containing the methyl ester was then decanted.

Fatty acid methyl ester was injected into the HP 6890 series GC system equipped with a DB-23 column (60 m × 0.32 mm × 25 μm). Nitrogen was used as the carrier gas with a flow rate of 1.5 ml/min, utilizing a splitting ratio of 1:50. The injector temperature was 250 °C, and the Flame Ionization Detector (FID) temperature was set at 280 °C. The following temperature program was applied: starting from 150 °C, the temperature was increased to 210 °C at a rate of 5 °C/min, followed by a 25-minute hold at 210 °C. Peaks were identified by comparing the obtained retention times with standard methyl esters.

2.10. Sensory evaluation

To assess the quality attributes and acceptability of the prepared samples, ten trained sensory panelists were chosen from the staff of the Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center, Giza, Egypt. The sensory attributes of color, odor, taste, texture, general palatability and index of acceptability were determined using the scale degree from zero to ten according to Handa et al. [27].

2.11. Statistical Analysis

Data was analyzed with SPSS (Statistical Package for the Social Science) 20.0 for Windows. The mean, SD of mean and LSD were calculated. The data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA). Duncan's multiple range test was used to separate means. Significance was accepted at a probability $P \leq 0.05$.

3. Result and Discussion

The gross chemical compositions of Amhat Rutab date, date paste and wheat germ (WG) are presented in Table 1. Moisture content is considered an important factor influencing a food product. Amhat Rutab date had

Table 1. Chemical composition of Amahat (Rutab) date, date paste and wheat germ (on fresh weight basis)

Таблица 1. Химический состав фиников Amahat (Rutab), финиковой пасты и зародышей пшеницы (в пересчете на сырой вес)

Characteristics	Amahat (Rutab) date	Date paste	Wheat germ (WG)
Moisture, %	53.36 ± 0.21	27.13 ± 0.22	9.36 ± 0.18
Total solids (TS), %	46.64 ± 0.21	72.87 ± 0.22	90.64 ± 0.18
Total sugars, %	38.16 ± 0.29	62.67 ± 0.15	ND
Reducing sugars, %	36.27 ± 0.25	61.85 ± 0.11	ND
Non-reducing sugars, %	1.89 ± 0.04	0.82 ± 0.26	ND
Ash, %	0.54 ± 0.18	1.443 ± 0.21	4.61 ± 0.12
pH value	6.72 ± 0.07	6.54 ± 0.03	5.51 ± 0.06
Total acidity, % (as citric acid)	0.164 ± 0.01	0.225 ± 0.01	ND
Protein, %	1.32 ± 0.13	2.45 ± 0.27	27.85 ± 0.30
Lipids, %	0.73 ± 0.22	1.27 ± 0.18	8.72 ± 0.43
Crude fiber, %	1.34 ± 0.17	1.98 ± 0.13	1.52 ± 0.13
*Total carbohydrates, %	42.71 ± 0.49	65.73 ± 0.75	47.94 ± 0.80

Data are mean ± SD of three replicates. *Total carbohydrates calculated by difference.

the highest moisture content (53.36%), followed by date paste (27.13%), while the lowest content of moisture was recorded in wheat germ being 9.36%. Total and reducing sugars of rutab date (38.16 and 36.27%, respectively) increased to 62.67 and 61.85% in the date paste product due to the effect of the removal of water during the drying process. The lowest content of non-reducing sugars (0.82%) was observed in date paste. The ash content of Amhat date and date paste was 0.54 and 1.443%, respectively. Total acidity of rutab date (0.164%) slightly increased to 0.225% in the rutab date paste product, while in contrast, pH value reduced from 6.72 of rutab date to 6.54 for date paste. Date paste had a higher content of protein and lipids (2.45% and 1.27%, respectively) than rutab date (1.32% and 0.73%, respectively). Meanwhile, crude fiber and total carbohydrates increased from 1.34 to 1.89% and from 42.71 to 65.73% for amhat date and date paste, respectively. These results of the chemical composition are comparable to those described by Abo Taleb et al. [7], Munir et al. [28], Rabie et al. [29].

It is commonly known that wheat germ (WG) is a raw material that is rich in nutrients and can be used for manufacturing food products. Table 1 shows that wheat germ contains low moisture and has high ash, protein and fat contents being 9.36, 4.61, 27.58 and 8.72%, respectively. Additionally, it was found that wheat germ contained high amounts of carbohydrates (47.94 g/100 g). The results are near to those described by Mahmoud et al. [9] and Nurgazezova et al. [30].

The protein, lipid, and ash contents of wheat germ were higher compared to date paste. Wheat germ is often regarded as a cost-effective source of low-cost protein. In comparison to other cereals, wheat germ shows high protein and fat contents and has functional and nutritional benefits. The addition of wheat germ to foodstuffs as a food additive is important due to its high protein quality. Numerous researchers have claimed that wheat germ is an excellent source for enriching foodstuffs with proteins, thanks to its exceptional nutritional value, pleasant taste, and flavor [31].

Minor differences in date fruit quality may be attributed to various factors, including the type of date, the time of harvest, environmental conditions, and experimental variables. Additionally, genetic differences in the date palm, as well as the region where it is grown and its developmental stage, can also lead to variations in the fruit characteristics [32]. Table 2 presents the proximate analysis of the date paste and different treatments of fortified date paste (5, 10, and 15% wheat germ). Substitution with wheat germ significantly increased the ash, protein, and fat content of the treatments.

According to the data, 15% wheat germ (WG) treatment had the highest protein (6.12%) and fat (2.32%) contents, followed by 10% WG treatment (4.85 and 2.11%, respectively), representing 30% and 22.5% of total calories, respectively. In contrast, 15% WG treatment had the lowest total carbohydrate content (63.61%). However, the crude fiber content was not significantly affected by wheat germ replacement. Regarding total calories of fortified date paste, it provided 299.76, 295.58, and 289.49 kcal /100 g of daily intake for the 15, 10, and 5% treatments, respectively, while the control date paste provided 284.14 kcal /100 g. Wheat germ is regarded as a nutritious ingredient that can be incorporated into food product for-

mulations or consumed on its own. It is also a significant source of carbohydrates (47.94 g /100 g). The low moisture content of wheat germ is advantageous for preserving and storing nutrients [9]. Therefore, water activity of the fortified date paste decreased with increasing concentrations of wheat germ. Our findings align with those of another recent study [28], which found that date bars had a water activity of 0.5 to 0.6, resulting in stable microbiological quality and shelf life. Also, incorporation of WG in the date paste increased the fat, protein, and fiber content. According to RDI, the reference daily intake is 56g for males and 46 g for females for protein, 95 g for males and 70 g for females for lipids and 130 g for both males and females for carbohydrates.

Fortified date paste with 15% wheat germ had the highest content of protein and lipids. Therefore, each 100g of the aforementioned treatment can provide 10.93 and 13.30% of protein and 2.44 and 3.31% of lipids for males and females, respectively. Also, it can provide 48.93% carbohydrates of RDI for both males and females. The control date paste had the highest content of carbohydrates. Therefore, each 100g of this date paste provided 50.56% of daily intake of carbohydrates for males and females.

Date fruits are rich in nutrients and have the therapeutic value. They contain macrominerals, including calcium and potassium, dietary fiber, and carbohydrates [33]. Wheat germ is a special source of concentrated nutrients and is highly valued as a food supplement. It is rich in minerals including potassium, magnesium, calcium, zinc, and manganese, with potassium being the most abundant [12].

The body's proper functioning depends on essential minerals. For example, calcium is vital for heart and muscle function, bone formation, and blood cell activity. Meanwhile, Cu, Mo, Se, and Zn are critical components of important enzymes in the human body. Iron is needed for various protein syntheses, including hemoglobin production to prevent anemia. Magnesium is essential for ATP processing and bone strength. Sodium and potassium, as electrolytes, are crucial for ATP co-regulation and are distributed throughout the body. Phosphorus, which is present in bones and cells, contributes to energy metabolism, DNA, ATP (as phosphate), and other essential functions [34].

The study of the mineral content in date paste and wheat germ revealed that potassium, calcium, and magnesium were the most abundant minerals in date paste, while potassium, phosphorus, and magnesium were the dominant minerals in wheat germ, followed by iron and zinc (Table 3). The highest amount of potassium (510.08 mg/100 g) was found in date paste with wheat germ at 15%, followed by 10% and 5% (493.45 and 478.24 mg/100g, respectively). Similarly, there was an increasing trend in the magnesium and phosphorus contents in all treatments. However, calcium contents decreased significantly with an increase in wheat germ levels from 5% to 15%, while there was a non-significant decrease for copper. Iron and zinc concentrations in the different treatments of date paste with varying levels of wheat germ are presented in Table 3 and were found to be in a range of 2.21 to 2.90 mg/100g and 1.06 to 1.59 mg/100g, respectively. The variations in the mineral content can be attributed to the concentration levels of the components used in the samples of the fortified paste. Upon incorporation of wheat germ into the date paste, it became apparent that the levels of Mg and Zn increased.

Table 2. Chemical composition of Rutab date paste and Rutab date paste with wheat germ (5, 10 and 15%) (on fresh weight basis)

Items	Date paste (control)	Treatments wheat germ addition, %		
		5%	10%	15%
Moisture, %	27.13 ± 0.220 ^a	26.16 ± 0.227 ^b	25.19 ± 0.227 ^c	24.23 ± 0.043 ^d
Total solids, %	72.87 ± 0.220 ^d	73.85 ± 0.227 ^c	74.81 ± 0.227 ^b	75.77 ± 0.043 ^a
Water activity, %	0.72 ± 0.03 ^a	0.60 ± 0.02 ^b	0.53 ± 0.03 ^c	0.46 ± 0.02 ^d
Total sugars, %	62.67 ± 0.150 ^a	58.57 ± 0.166 ^b	56.29 ± 0.166 ^c	53.31 ± 0.568 ^d
Reducing sugars, %	61.85 ± 0.110 ^a	57.91 ± 0.416 ^b	55.57 ± 0.416 ^c	52.34 ± 0.399 ^d
Non-reducing sugars, %	0.82 ± 0.260 ^a	0.66 ± 0.265 ^a	0.73 ± 0.265 ^a	0.97 ± 0.169 ^a
pH	6.54 ± 0.030 ^a	6.49 ± 0.026 ^b	6.45 ± 0.026 ^c	6.37 ± 0.015 ^d
Total acidity, %	0.225 ± 0.007 ^a	0.231 ± 0.005 ^a	0.236 ± 0.019 ^a	0.249 ± 0.007 ^a
Ash, %	1.44 ± 0.207 ^b	1.63 ± 0.111 ^{ab}	1.67 ± 0.111 ^{ab}	1.84 ± 0.056 ^a
Protein, %	2.45 ± 0.270 ^d	3.65 ± 0.113 ^c	4.85 ± 0.113 ^b	6.12 ± 0.301 ^a
Lipids, %	1.27 ± 0.180 ^c	1.67 ± 0.060 ^b	2.11 ± 0.060 ^a	2.32 ± 0.153 ^a
Crude fiber, %	1.98 ± 0.130 ^a	1.93 ± 0.203 ^a	1.87 ± 0.210 ^a	1.89 ± 0.122 ^a
Total carbohydrates, %	65.73 ± 0.747 ^a	64.96 ± 0.198 ^{ab}	64.30 ± 0.198 ^{bc}	63.61 ± 0.439 ^c
Caloric value, kcal /100 g	284.14 ± 0.288 ^d	289.49 ± 1.199 ^c	295.58 ± 1.199 ^b	299.76 ± 1.117 ^a

Data are mean ± SD of three replicates. *Total carbohydrates calculated by difference. There is no significant difference (P < 0.05) in means within a row displaying the same letters (a, b, c) for the control and treatments.

Table 3. Mineral contents in date paste, wheat germ and date paste with wheat germ (5, 10 and 15%) (mg/100 g on fresh weight basis)

Таблица 3. Минеральный состав финиковой пасты, зародышей пшеницы и финиковой пасты с зародышами пшеницы (5, 10 и 15%) (мг/100 г в пересчете на сырой вес)

Minerals, (mg/100g)	Wheat germ (WG)	Treatments				RDI (mg)	
		Date paste (control)	5% WG	10% WG	15% WG	Males	Females
Ca	43.66 ^e ±0.612	177.79 ^a ±0.304	171.89 ^b ±0.664	165.04 ^c ±0.628	158.06 ^d ±0.667	1000	1000
Na	35.72 ^a ±1.032	23.65 ^b ±0.905	23.72 ^b ±0.540	24.60 ^b ±0.590	25.21 ^b ±0.300	2000	2000
K	780.02 ^a ±0.295	462.55 ^e ±0.523	478.24 ^d ±0.598	493.45 ^c ±0.480	510.08 ^b ±0.676	3400	2600
Mg	250.03 ^a ±0.442	125.36 ^e ±0.495	131.68 ^d ±0.567	137.35 ^c ±0.630	144.54 ^b ±0.411	420	320
P	744.52 ^a ±0.581	36.43 ^e ±0.562	71.80 ^d ±0.457	106.65 ^c ±0.495	142.09 ^b ±0.303	1250	1250
Fe	8.54 ^a ±0.413	1.97 ^c ±0.137	2.21 ^c ±0.129	2.37 ^c ±0.221	2.90 ^b ±0.133	8	18
Zn	6.43 ^a ±0.595	0.78 ^c ±0.036	1.06 ^{bc} ±0.053	1.31 ^{bc} ±0.021	1.59 ^b ±0.052	11	8
Cu	0.69 ^c ±0.046	1.56 ^a ±0.102	1.52 ^{ab} ±0.027	1.46 ^{ab} ±0.038	1.41 ^b ±0.033	0.9	0.9

Recommended Daily Intake (RDI).

Data are mean±SD of three replicates. There is no significant difference ($P \leq 0.05$) in means within a row displaying the same letters (a, b, c) for WG and treatments.

This may be attributed to the fact that wheat germ possesses a higher concentration of minerals than date paste. Consequently, these products can be used to address micronutrient deficiencies in human beings. According to the RDI, the reference daily intake is 3400 mg for males and 2600 mg for females for potassium, 1250 mg for males and females for phosphorus, 8 mg for males and 18 mg for females for iron, 11 mg for males and 8 mg for females for zinc.

Date paste with 15% wheat germ had the highest content of potassium, phosphorus, iron and zinc.

Therefore, each 100 g of date paste with 15% wheat germ provided 15 and 19.6% of the recommended daily intake of potassium for males and females, respectively, while 100g of 15% WG date paste gave the same value (11.36%) of the recommended daily intake of phosphorus for both males and females. Furthermore, each 100 g of date paste with 15% wheat germ supplies 36.25 and 16.11% of the recommended daily intake of iron for males and females, respectively. Additionally, it provides 14.45 and 19.88% of the recommended daily intake of zinc for males and females, respectively.

Bioactive substances are natural compounds present in the food chain that play a crucial role in human health, encompassing both essential and non-essential elements. Extensive research has been conducted on the diverse biological impacts of antioxidants and polyphenols. Polyphenols serve as antioxidants through their ability to act as reducing agents, donate hydrogen, and quench singlet oxygen, and they are generated in reaction to biotic or abiotic stress factors [35].

Table 4 shows that the total content of phenolic and flavonoid compounds in date paste and wheat germ ranged from 1.91 mg/g to 3.86 mg/g and 0.76 mg/g to 3.35 mg/g, respectively. Wheat germ is a source of bioactive components, including antioxidants and anti-inflammatory agents, according to Karami et al. [36].

Adding wheat germ at different concentrations resulted in higher levels of phenolic compounds (2.05, 2.18, and 2.36 mg/g in date paste with 5, 10, and 15% WG, respectively), which was a 7.3%, 14.1% and 23.6% increase compared to the control date paste. The same increasing trend was observed for the content of total flavonoid compounds, which was 0.93, 0.99, and 1.11 mg/g in date paste with 5, 10, and 15% WG, respectively, compared to 0.76 in the control date paste.

Phenolic and flavonoid compounds act as antioxidants because of their ability to donate hydrogen or electrons, which prevents food ingredients from oxidation [37]. Bioactive substances derived from plants, or phytochemicals, shield the body against many physiological dangers. Date-fruit-enriched products can be created to fight cardiovascular illnesses [33]. As can be seen from Table 4, radical scavenging activity was increased by adding wheat germ to rutab date paste at different concentrations because wheat germ can serve as a good source of natural antioxidants and nutraceuticals [38].

Also, wheat germ is rich in bioactive components with the antioxidant and anti-inflammatory activities [37]. The color index was 0.211 in wheat germ and 0.792 in rutab date paste. Adding wheat germ to date paste at different concentrations (5, 10, and 15%) led to a decrease in the color index (non-enzymatic browning) to 0.376, 0.296, and 0.242, respectively. This may be due to the color of wheat germ, which led to the samples becoming relatively lighter and more attractive [39]. In addition, reducing sugars make dates softer and would be responsible for the color changes of the pastes if subjected to thermal treatments due to their participation as substrates of the Maillard or caramelization reactions [40].

According to Table 5, it is evident that palmitic acid is the primary saturated fatty acid found in date paste (28.894%). Palmitic acid may affect cardiovascular disease (CVD) risk via mechanisms beyond increasing low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) [41]. Adding wheat germ at different concentrations (5, 10, and 15%) markedly decreased palmitic acid to a level of 19.588, 11.25, and 6.27%, respectively. The total amount of unsaturated fatty acids in WG was 80.104% (Table 5). Among unsaturated fatty acids in WG, the maximum concentration (53.966%) was found for linoleic acid, which is considered one of the most important polyunsaturated fatty acids in human food because of its prevention of cardiovascular diseases. Also, the consumption of linoleic acid is commonly thought to be capable of reducing LDL and total cholesterol [9]. Oleic acid, which belongs to omega-9 unsaturated fatty acids, was the highest in the control date paste (25.046%).

The incorporation of wheat germ into date paste at different levels resulted in elevated levels of unsaturated fatty acids, such as linoleic fatty acid (an omega-6 fatty acid) and α -linolenic fatty acid (an omega-3 fatty acid). These fatty acids are associated with a decreased risk of age-related macular degeneration (AMD), improved vision, reduced chances of coronary heart disease, and alleviation of symptoms related to rheumatoid arthritis. Furthermore, they may also lower the likelihood of developing Alzheimer's disease, dementia, depression, and asthma due to their anti-inflammatory properties [42].

The degree of lipid oxidation is typically measured by the peroxide value, which indicates the presence of aldehydes, ketones, alcohols, hydrocarbons, esters, furans, and lactones. The production of these compounds negatively affects the physical, chemical, and sensory properties of foods.

By measuring the peroxide value (PV) of wheat germ, control date paste and date paste with wheat germ at different concentrations (Table 6), it was observed that the peroxide value of date paste was slightly increased by adding wheat germ but the increase was not significant. The peroxide value (PV) ranged from 1.43 meqO₂/kg in rutab date paste to 1.75 meqO₂/kg in

Table 4. Bioactive compounds and radical scavenging activity of date paste, wheat germ and date paste with wheat germ (5, 10 and 15%) (on fresh weight basis)

Таблица 4. Биоактивные соединения и активность захвата радикалов финиковой пасты, зародышей пшеницы и финиковой пасты с зародышами пшеницы (5, 10 и 15%) (в пересчете на сырой вес)

Items	Wheat germ (WG)	Treatments			
		Date paste (control)	5% WG	10% WG	15% WG
Total phenolic compounds (as gallic acid equivalent), mg/g	3.86 ± 0.076 ^a	1.91 ± 0.078 ^d	2.05 ± 0.112 ^{cd}	2.18 ± 0.118 ^{bc}	2.36 ± 0.105 ^b
Total flavonoid compounds (as quercetin equivalent), mg/g	3.35 ± 0.661 ^a	0.76 ± 0.025 ^b	0.927 ± 0.187 ^b	0.994 ± 0.112 ^b	1.11 ± 0.135 ^b
Radical scavenging activity,% (DPPH%)	44.15 ± 0.687 ^b	28.71 ± 0.687 ^e	35.53 ± 0.843 ^d	41.21 ± 1.070 ^c	58.47 ± 1.038 ^a
Color index	0.211 ± 0.012 ^d	0.792 ± 0.024 ^a	0.376 ± 0.014 ^b	0.296 ± 0.030 ^c	0.242 ± 0.010 ^d

Data are mean±SD of three replicates. There is no significant difference ($P \leq 0.05$) in means within a row displaying the same letters (a, b, c) for WG and treatments.

Table 5. Determination of fatty acids (%) in wheat germ, date paste and date paste with wheat germ (5, 10 and 15%)

Таблица 5. Определение жирных кислот (%) в зародышах пшеницы, финиковой пасте и финиковой пасте с зародышами пшеницы (5, 10 и 15%)

Classification	Name of fatty acids	Wheat germ	Date paste (control)	Treatments		
				5% (WG)	10% (WG)	15% (WG)
Saturated fatty acids	Lauric acid (C12:0)	0.311	ND	0.856	1.213	1.596
	Myristic acid (C14:0)	0.209	5.182	0.213	0.378	0.673
	Pentadecanoic acid(C15:0)	ND	1.886	ND	ND	ND
	Palmitic acid (C16:0)	18.058	28.894	19.588	11.253	6.267
	Margaric acid (C17:0)	0.054	0.7182	0.000	0.025	0.055
	Stearic acid (C18:0)	0.846	7.925	0.258	0.765	1.032
	Arachidic acid (C20:0)	0.215	0.512	0.124	0.189	0.234
	Behenic acid (C22:0)	0.203	ND	0.095	0.132	0.224
Unsaturated fatty acids	Pentadecenoic acid (C15:1)	ND	1.728	ND	ND	ND
	Palmitooleic (C16:1)	0.202	3.682	0.058	0.124	0.246
	Heptadecenoic(C17:1)	0.065	1.226	ND	0.018	0.046
	Stearidonic acid (C18:4)	ND	1.063	ND	ND	ND
Omega 9 fatty acid	Oleic (C18:1)	19.008	25.046	5.321	9.586	17.299
Omega 6 fatty acids	Linoleic (C18:2)	53.966	13.450	17.527	30.456	52.277
	γ- Linolenic(C18:3n6)	ND	2.143	ND	ND	ND
	Gondoic (C20:1)	1.897	0.791	0.173	0.573	1.522
Omega 3 fatty acids	α-Linolenic (C18:3n3)	4.966	2.542	1.023	3.241	5.208
	Eicosatrienoic (C20:3n3)	ND	3.211	ND	ND	ND

ND: Not detected.

Table 6. Effect of storage at 5 ± 2 °C for six months on the peroxide value (meqO₂/kg) of Rutab date paste, wheat germ and Rutab date paste with wheat germ (5, 10 and 15%)

Таблица 6. Влияние хранения при 5 ± 2 °C в течение шести месяцев на пероксидное число (meqO₂/кг) в пасте из фиников Rutab, зародышах пшеницы и пасте из фиников Rutab с зародышами пшеницы (5, 10 и 15%)

Storage periods (months)	Date paste (control)	Treatments		
		5% WG	10% WG	15% WG
Zero	1.43 ± 0.06 ^{Bc}	1.52 ± 0.04 ^{Bbc}	1.60 ± 0.09 ^{Bb}	1.75 ± 0.05 ^{Ca}
3	1.52 ± 0.03 ^{Ad}	1.58 ± 0.04 ^{Bc}	1.78 ± 0.03 ^{Ab}	1.95 ± 0.04 ^{Ba}
6	1.59 ± 0.02 ^{Ad}	1.75 ± 0.04 ^{Ac}	1.85 ± 0.05 ^{Ab}	2.10 ± 0.05 ^{Aa}

Data are mean ± SD of three replicates. There is no significant difference ($P < 0.05$) in means within a column displaying the same letters (A, B, C) for storage. Similarly, there is no significant difference ($P < 0.05$) in means within a row displaying the same letters (a, b, c) for control and treatments.

date paste with 15% wheat germ at zero time. The peroxide values increased significantly in the date paste with different concentrations (5, 10 and 15%) of WG after six months of storage compared to zero time. The highest PV was found in the 15% replacement with wheat germ (2.10 meq/kg). Phenolic compounds resist and prevent oil oxidation during storage. Additionally, the quality was improved by lycopene due to its ability to act as an antioxidant against lipid oxidation. A product with a peroxide value between 1 and 5 meq/kg is classified as having low oxidation; a product with PV of 5 to 10 meq/kg is categorized as having moderate oxidation; and a product with PV of more than 10 meq/kg is classified as having a high oxidation state [43]. Both internal and external factors influence lipid oxidation. Among the internal factors, the fatty acid profile, lipid class, and fatty acid composition are the primary determinants of lipid oxidation. On the other hand, external factors such as temperature, light, moisture level, atmospheric oxygen, iron, activators, and inhibitors play a crucial role in the oxidation of food

lipids and directly impact the quality and consumer acceptance of the final product [44].

As can be seen from Table 7, total bacterial, yeast and mold counts were lower in the date paste fortified with wheat germ at different concentrations (5, 10 and 15%) compared to the control apparently due to the antibacterial effect of wheat germ oil [45]. Also, our results indicate that total bacterial, yeast and mold counts showed the lowest values (2.13 and 0.69 Log CFU/g) at a high concentration (15%) of wheat germ. The high acidity and low moisture content of date paste with 15% WG can extend its shelf life. Wheat germ is rich in bioactive components such as phenolic compounds with the antioxidant activity [37].

Most bacteria cannot grow at water activity below 0.9, molds below 0.7, and yeast below 0.85. Therefore, the blend with wheat germ can be considered microbiologically shelf stable as long as no moisture is gained during storage and water activity is decreased by increasing wheat germ addition [28,40]. However, total bacterial, yeast and mold counts increased slightly at all storage periods. The control date paste recorded the highest total bacterial, yeast and mold counts being 2.57 and 1.42 Log CFU/g at zero time, 2.64 and 1.57 Log CFU/g after three months of storage and 2.72 and 1.69 Log CFU/g at the end of storage, respectively. Addition of wheat germ, especially at the 15% level, markedly decreased the microbial counts immediately after processing and during storage. The total bacterial counts and the counts of yeasts and molds were 2.13 and 0.69 Log CFU/g, 2.26 and 0.98 Log CFU/g, 2.32 and 1.12 Log CFU/g at zero time, three and six months of storage, respectively. In the present study, all date paste treatments showed microbial counts (for all microbial groups evaluated) lower than 10⁴ CFU/g, meaning that they were stable during the study. These microbial counts are within the range of those reported by Ogodo et al. [46] for fruit samples. Actually, the high sugar content at the rutab stage rendered the fruits extremely resistant to microbial spoilage and gives them a good storability [47].

The primary difficulty faced by the food industry is the need to meet existing standards for the foods they produce. Consumers prefer foods

Table 7. Effect of storage at 5 ± 2 °C for six months on total counts of bacteria, yeast and molds in Rutab date paste, wheat germ and Rutab date paste with wheat germ (5, 10 and 15%) (Log CFU/g)

Таблица 7. Влияние хранения при 5 ± 2 °C в течение шести месяцев на общие количества бактерий, дрожжей и плесеней в пасте из фиников Rutab, зародышах пшеницы и пасте из фиников Rutab с зародышами пшеницы (5, 10 и 15%) (Log КОЕ/г)

Storage periods (months)	Total count (Log CFU/g)				Yeast and molds (Log CFU/g)			
	Date paste (control)	5% WG	10% WG	15% WG	Date paste (control)	5% WG	10% WG	15% WG
Zero	2.57 ± 0.068 ^{BA}	2.33 ± 0.061 ^{BB}	2.20 ± 0.061 ^{BC}	2.13 ± 0.04 ^{BC}	1.42 ± 0.050 ^{CA}	1.22 ± 0.060 ^{BB}	0.72 ^C ± 0.060	0.69 ± 0.070 ^{BC}
3	2.64 ± 0.064 ^{abA}	2.39 ± 0.031 ^{abB}	2.34 ± 0.046 ^{abBC}	2.26 ± 0.038 ^{ac}	1.57 ± 0.050 ^{ba}	1.24 ± 0.040 ^{abB}	1.05 ^{bc} ± 0.060	0.98 ± 0.100 ^{aC}
6	2.72 ± 0.010 ^{aA}	2.55 ± 0.150 ^{aA}	2.51 ± 0.160 ^{aAB}	2.32 ^{ab} ± 0.100	1.69 ± 0.020 ^{aA}	1.33 ± 0.010 ^{ab}	1.19 ^{ac} ± 0.030	1.12 ± 0.030 ^{aC}

Data are mean ± SD of three replicates. There is no significant difference ($P < 0.05$) in means within a column displaying the same letters (a, b, c) for storage. Similarly, there is no significant difference ($P < 0.05$) in means within a row displaying the same letters (A, B, C) for treatments.

that are delicious, low in fat and/or calories, and give additional health benefits while being convenient and economical [48]. Table 8 shows the mean sensory assessment scores for the three fortified date pastes (5, 10, and 15% wheat germ) as well as the control date paste. All formulas were acceptable in terms of color, taste, texture, and overall acceptance. There was no significant difference in odor at zero time.

Table 8. Sensory evaluation of the control rutab date paste and rutab date paste fortified with wheat germ

Таблица 8. Сенсорная оценка контрольной пасты из фиников Rutab и пасты из фиников Rutab, обогащенной зародышами пшеницы

Storage periods (months)	Treatments			
	Date paste (control)	5% WG	10% WG	15% WG
Color				
Zero	8.7 ± 0.632 ^{Aab}	7.9 ± 0.738 ^{Ac}	8.2 ± 0.632 ^{Abc}	8.8 ± 0.632 ^{Aa}
3	7.8 ± 0.919 ^{Bb}	7.7 ± 0.823 ^{Ab}	7.9 ± 0.740 ^{Ab}	8.7 ± 0.675 ^{Aa}
6	6.9 ± 0.738 ^{Cc}	7.4 ± 0.843 ^{Abc}	7.8 ± 0.789 ^{Aab}	8.2 ± 0.632 ^{Aa}
Odor				
Zero	8.1 ± 0.740 ^{Aa}	8.1 ± 0.568 ^{Aa}	8.4 ± 0.516 ^{Aa}	8.6 ± 0.516 ^{Aa}
3	7.7 ± 0.675 ^{ABb}	7.8 ± 0.789 ^{Ab}	8.2 ± 0.422 ^{ABab}	8.5 ± 0.527 ^{Aa}
6	7.2 ± 0.919 ^{Ba}	7.6 ± 0.699 ^{Aa}	7.8 ± 0.632 ^{Ba}	8.2 ± 0.789 ^{Aa}
Taste				
Zero	8.2 ± 0.753 ^{Aab}	7.9 ± 0.876 ^{Ab}	8.5 ± 0.707 ^{Aab}	8.6 ± 0.699 ^{Aa}
3	7.6 ± 0.497 ^{Bb}	7.6 ± 0.516 ^{Ab}	8.3 ± 0.675 ^{Aa}	8.4 ± 0.699 ^{Aa}
6	7.2 ± 0.632 ^{Bb}	7.3 ± 0.949 ^{Ab}	8.1 ± 0.762 ^{Aa}	8.3 ± 0.635 ^{Aa}
Texture				
Zero	7.7 ± 0.675 ^{Ab}	7.9 ± 0.876 ^{Ab}	8.3 ± 0.540 ^{Aab}	8.7 ± 0.412 ^{Aa}
3	6.7 ± 0.818 ^{Bc}	7.5 ± 0.527 ^{Ab}	7.8 ± 0.589 ^{ABab}	8.3 ± 0.675 ^{Aa}
6	6.2 ^{Bc} ± 0.350	6.6 ± 0.516 ^{Bc}	7.4 ± 0.677 ^{Bb}	8.2 ± 0.669 ^{Aa}
General palatability				
Zero	8.2 ± 0.290 ^{Abc}	8.0 ± 0.307 ^{Ac}	8.3 ± 0.354 ^{Ab}	8.7 ± 0.270 ^{Aa}
3	7.4 ± 0.453 ^{Bc}	7.7 ± 0.316 ^{Ac}	8.0 ± 0.359 ^{ABb}	8.5 ± 0.399 ^{ABa}
6	6.9 ± 0.456 ^{Cd}	7.2 ± 0.407 ^{Bc}	7.8 ± 0.351 ^{Bb}	8.2 ± 0.206 ^{Ba}
Index of acceptability				
Zero	90.8 ± 3.221 ^{Abc}	88.3 ± 3.415 ^{Ac}	92.6 ± 3.931 ^{Ab}	96.3 ± 3.004 ^{Aa}
3	82.5 ± 5.038 ^{Bc}	85.0 ± 3.514 ^{Ac}	89.3 ± 3.985 ^{ABb}	94.2 ± 4.431 ^{ABa}
6	76.4 ± 5.072 ^{Cd}	80.3 ± 4.527 ^{Bc}	86.2 ± 3.899 ^{Bb}	91.1 ± 2.287 ^{Ba}

Data are mean ± SD of three replicates. There is no significant difference ($P \leq 0.05$) in means within a column displaying the same letters (A, B, C) for storage. Similarly, there is no significant difference ($P \leq 0.05$) in means within a row displaying the same letters (a, b, c) for treatments.

During the storage period, no noticeable differences in sensory quality were observed (Table 8). Specifically, there were no significant variations in color among the three fortified samples at zero time and after six months of storage when compared to the control date paste. This demonstrates that the ratio of wheat germ addition in the treatments did not have a noticeable impact on the product color, but slightly enhanced it. The samples containing more wheat germ appeared lighter and more attractive due to their yellowish hue [40].

Regarding the taste characteristics, statistically significant ($p < 0.05$) differences were observed among the date pastes. The 15% treatment yielded higher scores compared to the other treatments, with no significant differences in the taste of the control date paste and the 5% and 10% wheat germ treatments. Wheat germ has a positive effect on taste and overall acceptability, particularly when 15% wheat germ is added, which can improve the taste and flavor [49].

Furthermore, the texture of the date paste with 15% and 10% wheat germ had the highest score, followed by the treatment with 5% wheat germ, and the control sample recorded the lowest scores. The addition of wheat germ enhanced the texture of the paste. Date pastes enriched with 15% wheat germ exhibited a significantly greater elastic modulus compared to the other treatments.

The data of sensory evaluation demonstrated that the addition of wheat germ in the date paste played a significant role in improving the taste and texture acceptance, while it had no impact on the odor acceptance of the treatments. As shown by the index of acceptability (IA), 15% treatment and then 10% treatment had the highest score for the index of acceptability of 96.3% and 92.6%, respectively, at zero time. It is noteworthy that all samples had an index of acceptance above 80.3%, except for the control date paste, which had an acceptance rate of 76.4% at the end of the storage period. Furthermore, the statistical analysis of the data revealed significant ($p \leq 0.05$) differences in general palatability among the samples, with treatments 15% and 10% obtaining the highest scores, followed by 5% treatment and the control sample.

4. Conclusion

Date paste with wheat germ provides adequate levels of both macro- and micronutrients, making it an ideal choice for meeting the energy and nutrition needs of athletes, children, and individuals with active lifestyles. Incorporating wheat germ into food products could be beneficial in providing essential nutrients to support sports performance and overall health, reducing fatigue, and lowering the risk of disease and injury. By adding wheat germ to date paste, the nutritional value is enhanced with increased protein, unsaturated fatty acids, total mineral contents, and total calories, while decreasing total carbohydrates. Additionally, sensory characteristics are improved through this fortification.

REFERENCES

- Muñoz-Tebar, N., Viuda-Martos, M., Lorenzo, J.M., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A. (2023). Strategies for the valorization of date fruit and its co-products: A new ingredient in the development of value-added foods. *Foods*, 12(7), Article 1456. <https://doi.org/10.3390/foods12071456>
- FAO. (2022). Crops and livestock products. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Accessed July 17, 2024
- Abd-El Hamed, K., Darwesh, R.S.S., Zayed, E.M.M. (2017). Evaluation physical and chemical characteristics of some seedlings date palm fruits (Meghal) in the North Delta Egypt. *International Journal of Advances in Agricultural Science and Technology*, 4(7), 13–32.
- Ministry of Agriculture and land reclamation. (2017). Economic Affairs Sector (EAS), Agriculture Planning Central Administration, General Administration of Agric. Economic Resources, National Agricultural Income, 2017.
- Abd El-Baky, M.A. (2012). Using morphological and anatomical features as taxonomical evidences to differentiate between some soft and semi-dry Egyptian cultivars of date palm. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants*, 4(2), 195–200. <https://doi.org/10.5829/idosi.jhsop.2012.4.2.247>
- El-Sharabasy, S.S.H, Rizk, R. M. (2019). Atlas of date palm in Egypt. FAO, 2019.
- Abo Taleb, H.M., Abd El-Aziz, H.A., Abd ElHameed, A.K. (2017). Novel products from Amhate Date. *Journal of Food Sciences; Suez Canal University*, 5(1), 1–10. <https://doi.org/10.21608/scuj.2018.59313>
- CODEX STAN314R – 2013. Regional standard for date paste (near east). Codex Alimentarius Commission, 1–2. Retrieved from <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius>. Accessed July 17, 2024
- Mahmoud, A.A., Mohdaly, A.A.A., Elneairy, N.A.A. (2015). Wheat Germ: An overview on nutritional value, antioxidant potential and antibacterial characteristics. *Food and Nutrition Sciences*, 6(2), 265–277. <https://doi.org/10.4236/fns.2015.62027>
- Belokurova, E.S., Pankina, I.A., Asfondyarova, I., Abdizhapparova, B.T. (January 22, 2021). Possibilities of using sprouted wheat grain in meat semi-finished products for a healthy diet. International Conference "Sport and Healthy Lifestyle Culture in the XXI Century". Prague, Czech Republic, 2021. <https://doi.org/10.1051/bio-conf/20212901024>
- Boukid, F., Folloni, S., Ranieri, R., Vittadini, E. (2018). A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 120–133. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.001>
- Brandolini, A., Hidalgo, A., (2011). Wheat germ: Not only a by-product. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(1), 71–74. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.633898>
- Zhang, Z.-h., Cheng, W.-l., Li, X.-d., Wang, X., Yang, F.-w., Xiao, J.-s. et al. (2023). Extraction, bioactive function and application of wheat germ protein/peptides: A review. *Current Research in Food Science*, 6, Article 100512. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100512>
- Aita, B.C., Spannemberg, S.S., Kuhn, R.C., Mazutti, M.A. (2018). Production of Polyunsaturated Fatty Acids by Solid State Fermentation. Chapter in a book: Principles and Applications of Fermentation Technology. Scrivener Publishing LLC, 2018. <https://doi.org/10.1002/9781119460381.ch12>
- Ferreira, M., Fernandes, H., Peres, H., Oliva-Teles, A., Belo, I., Salgado, J.M. (2021). Polyunsaturated fatty acids production by solid-state fermentation on polyurethane foam by *Mortierella alpina*. *Biotechnology Progress*, 37(3), Article e3113. <https://doi.org/10.1002/btpr.3113>
- AOAC (2019). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis of AOAC International. 21st Edition, AOAC, Washington DC, 2019.
- Ghosh, R., Barua, P., Sikder, O., Saha, S., Mojumder, S., Sikdar, D. (2021). Comparison of phenolic content and antioxidant activity of two common fruits of Bangladesh in solvents of varying polarities. *Food Research*, 5(6), 187–196. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(6\).253](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(6).253)
- Matic, P., Sabljic, M., Jakobek, L. (2017). Validation of spectrophotometric methods for the determination of total polyphenol and total flavonoid content. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1795–1803. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0066>
- Rojas-Ocampo, E., Torrejón-Valqui, L., Muñoz-Astecker, L.D., Medina-Mendoza, M., Mori-Mestanza, D., Castro-Alayo, E.M. (2021). Antioxidant capacity, total phenolic content and phenolic compounds of pulp and bagasse of four Peruvian berries. *Heliyon*, 7(8), Article e07787. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07787>

20. Sobral, M.M.C., C. Nunes, C., Maia, A., Ferreira, P., Coimbra, M.A. (2017). Conditions for producing long shelf life fruit salads processed using mild pasteurization. *LWT – Food Science and Technology*, 85(2), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.055>

21. Amais, R. S., Garcia, E. E., Monteiro, M. R., Nóbrega, J. A. (2012). Determination of Ca, Mg, and Zn in biodiesel micro-emulsions by FAAS using discrete nebulization. *Fuel*, 95(1), 167–171. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.10.042>

22. Raymond, J.L., Morrow, K. (2020). Krause and Mahan's Food and the Nutrition Care Process. Elsevier Health Sciences, 2020.

23. Salfinger, Y. and M. L. Tortorello. (2015). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.

24. AOCS Official Method Cd 8b-90 (2009). Peroxide value Acetic Acid-Isooctane Method. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. AOCS Press, Champaign, IL, USA, 2009.

25. Ramadhas, A., Jayaraj, S., Muraleedharan, C. (2004). Use of vegetable oils as IC engine fuels – A review. *Renew Energy*, 29(5), 727–742. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2003.09.008>

26. ISO 12966-2. Animal and vegetable fats oils- Gas chromatography of fatty acid methyl esters. Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. Technical Committee: ISO/TC34/SC11, 2017.

27. Handa, C., Goomer, S., Siddhu, A. (2012). Physicochemical properties and sensory evaluation of fructooligosaccharide enriched cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 192–199. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0277-4>

28. Munir, M., Nadeem, M., Qureshi, T.M., Qayyum, A., Suhaib, M., Zeb, F. et al. (2018). Addition of oat enhanced the physico-chemical, nutritional and sensory qualities of date fruit based snack bars. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(4), 271–276.

29. Rabie, S.M., Salem, M.E., Assouf, M.T.M., Affi, M.F.M., Mohamed, Y.I.A. (2021). Technological and economical studies on production of date powder and paste from some low quality Egyptian dates. *Egyptian International Journal of Palms*, 1(1), 109–123. <https://doi.org/10.21608/ESJP.2021.233544>

30. Nurgazeyova, A., Assenova, B., Smolnikova, F., Nurymkhan, G., Serikova, A., Mustafayeva, A. et al. (2018). Chemical and mineral composition of wheat germ of East Kazakhstan Region. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 471–475.

31. Çetinkaya, A., Öz, F. (2019). The effect of wheat germ on the chemical properties and fatty acids of white cheese during the storage time. *Food Science Nutrition*, 8(2), 915–920. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1370>

32. Iboukri, M., Azouguigh, F., Jadouali, S.M., Sakar, E.H., Bijla, L., Majourhat, K. et al. (2021). Physical fruit traits, nutritional composition, and seed oil fatty acids profiling in the main date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Morocco. *Journal of Food Quality*, 1, Article 5138043. <https://doi.org/10.1155/2021/5138043>

33. Bano, Y., Rakha, A., Khan, M.I., Asgher, M. (2022). Chemical composition and anti-oxidant activity of date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties at various maturity stages. *Food Science and Technology*, 42, Article e29022. <https://doi.org/10.1590/fst.29022>

34. Godswill, A.G., Somtochukwu, I.V., Ikechukwu, A.O., Kate, E.C. (2020). Health benefits of micronutrients (Vitamins and Minerals) and their associated deficiency diseases: A systematic review. *International Journal of Food Sciences*, 5(1), 1–32. <https://doi.org/10.47604/ijf.1024>

35. Costa, D.C., Costa, H.S., Albuquerque, T.G., Ramos, F., Castilho, M.C., Sanches-Silva, A. (2015). Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends in Food Science and Technology*, 45(2), 336–354. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.009>

36. Karami, Z., Peighambari, S.H., Hesari, J., Akbari-Adergani, B., Andreu, D. (2019). Identification and synthesis of multifunctional peptides from wheat germ hydrolysate fractions obtained by proteinase K digestion. *Journal of Food Biochemistry*, 43(4), Article e12800. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12800>

37. Al-Farisi, M.A., Lee, C.Y. (2014). Enrichment of date paste. *Journal of Human Nutrition and Food Science*, 2(2), Article 1032.

38. Liaqat, H., Kim K. J., Park, S.-y., Jung, S.K., Park, S.H., Lim, S. et al. (2021). Antioxidant effect of wheat germ extracts and their antilipidemic effect in palmitic acid-induced steatosis in HepG2 and 3T3-L1 cells. *Foods*, 10, Article 1061. <https://doi.org/10.3390/foods10051061>

39. Ammar, A.S.M. (2012). Effect of wheat germ addition on physicochemical and antioxidant properties of date syrup. *American Journal of Food Technology*, 7(8), 479–486. <https://doi.org/10.3923/ajft.2012.479.486>

40. Ghnimi, S., Al-Shibli, M., Al-Yammahi, H.R., Al-Dhaheer, A., Al-Jaberi, F., Jobe, B. et al. (2018). Reducing sugars, organic acids, size, color, and texture of 21 Emirati date fruit varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *NFS Journal*, 12, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2018.04.002>

41. Annevelink, C.E., Sapp, P.A., Petersen, K.S., Kris-Etherton, P.M. (2023). Diet-derived and diet-related endogenously produced palmitic acid: Effects on metabolic regulation and cardiovascular disease risk. *Journal of Clinical Lipidology*, 17(5), 577–586. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2023.07.005>

42. Marcus, J.B. (2019). Nutritional and Physical Concerns in Aging. Chapter in a book: Nutrition, Food Science and Culinary Perspectives for Aging Tastefully. Academic Press, Cambridge, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813527-3.00002-8>

43. Rezig, L., Chouaib, M., Msaada, K., Hamdi, S. (2012). Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.12.004>

44. Wu, H., Yin, J., Zhang, J., Richards, M.P. (2017). Factors affecting lipid oxidation due to pig and turkey hemolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(36), 8011–8017. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02764>

45. Al-Rimawi, F., Alayoubi, M., Elama, C., Jazzar, M., Çakıcı, A. (2020). Use of cinnamon, wheat germ, and eucalyptus oil to improve quality and shelf life of concentrated yogurt (Labneh). *Cogent Food and Agriculture*, 6(1), Article 1807810. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1807810>

46. Ogodo, A.C., Ugbogo, O., Ekeleme, U., Nwachukwu, N. (2016). Microbial quality of commercially packed fruit juices in South-East Nigeria. *Journal of Basic and Applied Research*, 2(3), 240–245.

47. El Arem, A., Saafi, E.B., Flamini, G., Issaoui, M., Ferchichi, A., Mohamed Hamami, M. et al. (2012). Volatile and nonvolatile chemical composition of some date fruits (*Phoenix dactylifera* L.) harvested at different stages of maturity. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(3), 549–555. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02876.x>

48. Golob, T., Micovic, E., Bertoneclj, J., Jamnik, M. (2004). Sensory acceptability of chocolate with inulin. *Acta Agriculturae Slovenica*, 85(2), 221–231. <https://doi.org/10.14720/aas.2004.83.2.15426>

49. Majzoobi, M., Farhoodi, S., Farahnaky, A., Taghipour, M.J. (2012). Properties of dough and flat bread containing wheat germ. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(5), 1053–1065.

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p>Ayman S. Dyab, PhD, Associate Professor, Horticultural Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center 9 Al Gamaa street, 12619, Giza, Egypt Tel.: +2-0114-876-05-32 E-mail: aymandyab@ymail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0004-0602-8837 * corresponding author</p>	<p>Дайаб Айман Сайед — PhD, доцент, Научно-исследовательский отдел технологий садоводства, Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований 12619, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 9 Тел.: +2-0114-876-05-32 E-mail: aymandyab@ymail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0004-0602-8837 * автор для контактов</p>
<p>Khalid M. Atieya, PhD, Researcher, Horticultural Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center 9 Al Gamaa street, Giza, Egypt Tel.: +2-0100-294-20-60 E-mail: khalidatieya1986@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0008-1024-9009</p>	<p>Атия Халид Мохамед — PhD, научный сотрудник, Научно-исследовательский отдел технологий садоводства, Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований 12619, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 9 Тел.: +2-0100-294-20-60 E-mail: khalidatieya1986@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0008-1024-9009</p>
<p>Mustafa A. L. Abdel Salam, PhD, Researcher, Horticultural Technology Research Department, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center 9 Al Gamaa street, Giza, Egypt Tel.: +2-0101-520-29-36 E-mail: mostafaabdellatif2020@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1824-1983</p>	<p>Абдель Салам Мустафа Абдель Латиф — PhD, научный сотрудник, Научно-исследовательский отдел технологий садоводства, Научно-исследовательский институт пищевых технологий, Центр сельскохозяйственных исследований 12619, Египет, Гиза, ул. Гамаа, 9 Тел.: +2-0101-520-29-36 E-mail: mostafaabdellatif2020@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1824-1983</p>
Contribution	Критерии авторства
<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>	<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p>
Conflict of interest	Конфликт интересов
<p>The authors declare no conflict of interest.</p>	<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-627-633>



Received 13.06.2024

Accepted in revised 25.12.2024

Accepted for publication 27.12.2024

© Agustina A. N., Ansori A. N.M., Puspita R., Citrawati M., Wahyuningsih S., Tuba S., Herdiansyah M. A., Kristanti M., 2024

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

Original scientific article

Review access

THE POTENTIAL OF RICE BRAN (*ORYZA SATIVA*) NUTRITIONAL COMPONENTS AS A FUNCTIONAL FOOD FOR HEALTHY CONSUMPTION: A REVIEW

Ayuda N. Agustina¹, Arif N. M. Ansori^{2,3,4*}, Ratna Puspita⁵, Mila Citrawati⁶, Sri Wahyuningsih⁷, Syahrul Tuba⁸, Mochammad A. Herdiansyah^{4,9}, Melly Kristanti⁷

¹ Study Program of Nursing, STIKes Fatmawati, Jakarta, Indonesia

² Postgraduate School, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

³ Uttaranchal Institute of Pharmaceutical Sciences, Uttaranchal University, Dehradun, India

⁴ Medical Biotechnology Research Group, Virtual Research Center for Bioinformatics and Biotechnology, Surabaya, Indonesia

⁵ Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, Indonesia

⁶ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, Jakarta, Indonesia

⁷ Department of Public Health, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, Jakarta, Indonesia

⁸ Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Military Pharmacy, Universitas Pertahanan Republik Indonesia, Bogor, Indonesia

⁹ Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

KEY WORDS:

bioactive compounds, food systems, functional food, paddy, rice bran

ABSTRACT

Indonesia produced 56.54 million tons of paddy (*Oryza sativa*) dried grain in 2018, with rising demand leading to increased production of by-products such as rice bran. Rice bran, a nutrient-rich by-product, contains high levels of dietary fiber and bioactive compounds with notable anti-cholesterol and anti-diabetic properties. Numerous *in vitro* and *in vivo* studies highlight the antioxidant capabilities of rice bran, mainly due to tocopherol, γ -oryzanol, and β -carotene, which function as primary and secondary antioxidants. Effective extraction and fractionation techniques can isolate these antioxidants from rice bran. Cultivation practices significantly impact the nutritional composition of rice bran. The nitrate reductase enzyme (NRA) test can assess growth conditions, which may reflect metabolic activity in paddy plants. Enhanced dietary fiber components (hemicellulose, cellulose, and lignin) and niacin levels make rice bran a promising alternative nutrient source in Indonesia, where unhealthy lifestyles are prevalent. With Indonesia's significant rice production and bran demand, processed rice bran products hold substantial potential as functional foods for routine consumption, promoting a healthier diet and aiding in prevention of degenerative diseases.

ACKNOWLEDGEMENTS: We would like to express our sincere gratitude to the College of Health Sciences (STIKes Fatmawati), Universitas Airlangga, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, and the Universitas Pertahanan Indonesia for their valuable support. Additionally, we extend our thanks to Jalan Tengah, Indonesia (www.jalantengah.site) for their assistance in editing the manuscript.

Поступила 13.06.2024

Поступила после рецензирования 25.12.2024

Принята в печать 27.12.2024

© Агустина А. Н., Анзори А. Н. М., Пuspита Р., Читравати М., Вахюнингсх Ш., Туба С., Хердиансиах М. А., Кристанти М. 2024

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

Научная статья

Open access

ПОТЕНЦИАЛ ПИТАТЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ РИСОВЫХ ОТРУБЕЙ (*ORYZA SATIVA*) КАК ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОДУКТА ПИТАНИЯ ДЛЯ ЗДОРОВОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ: ОБЗОР

Аюда Н. Агустина¹, Ариф Н. М. Анзори^{2,3,4*}, Ратна Пuspита⁵, Мила Читравати⁶, Шри Вахюнингсх⁷, Сяхрул Туба⁸, Мохаммад А. Хердиансиах^{4,9}, Мелли Кристанти⁷

¹ Колледж медицинских наук (STIKes Fatmawati), Джакарта, Индонезия

² Аспирантура, Университет Айрлангга, Сурабая, Индонезия

³ Уттаранчалский институт фармацевтических наук, Уттаранчалский университет, Дехрадун, Индия

⁴ Виртуальный исследовательский центр биоинформатики и биотехнологий, Сурабая, Индонезия

⁵ Кафедра биохимии, медицинский факультет, Национальный университет развития "Ветеран" в Джакарте, Джакарта, Индонезия

⁶ Кафедра физиологии, медицинский факультет, Национальный университет развития "Ветеран" в Джакарте, Джакарта, Индонезия

⁷ Кафедра общественного здравоохранения, медицинский факультет, Национальный университет развития "Ветеран" в Джакарте, Джакарта, Индонезия

⁸ Кафедра клинической фармации, факультет военной фармации, Университет обороны Республики Индонезия, Богор, Индонезия

⁹ Кафедра биологии, факультет науки и технологии, Университет Айрлангга, Сурабая, Индонезия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

биоактивное соединение, пищевые системы, функциональные продукты питания, рис-сырец, рисовые отруби

Производство риса-сырца (*Oryza sativa*) в Индонезии составило 56,54 млн тонн сухого зерна в 2018 году с увеличением спроса, что привело к росту производства побочных продуктов, таких как рисовые отруби. Рисовые отруби — продукт, богатый питательными веществами, содержит большое количество пищевых волокон и биоактивных соединений, которые обладают антихолестеринными и антидиабетическими свойствами. Многие исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что рисовые отруби обладают антиоксидантными свойствами, в основном благодаря токоферолу, γ -оризанолу и β -каротину, которые являются первичными и вторичными антиоксидантами. Эти антиоксиданты могут быть выделены из рисовых отрубей с помощью эффективной экстракции и фракционирования. Процедуры выращивания

FOR CITATION: Agustina, A.N., Ansori, A.N.M., Puspita, R., Citrawati M., Wahyuningsih, S., Tuba, S., Herdiansyah, M.A., Kristanti, M. (2024). The potential of rice bran (*Oryza sativa*) nutritional components as a functional food for healthy consumption: A review. *Food Systems*, 7(4), 627–633. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-627-633>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Агустина, А. Н., Анзори, А. Н. М., Пuspита, Р., Читравати, М., Вахюнингсх, Ш., Туба, С., Хердиансиах, М. А., Кристанти, М. (2024). Потенциал питательных компонентов рисовых отрубей (*Oryza sativa*) как функционального продукта питания для здорового потребления: обзор. *Пищевые системы*, 7(4), 627–633. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2024-7-4-627-633>

риса оказывают значительное влияние на состав питательных веществ рисовых отрубей. Тест NRA может использоваться для оценки условий роста растений, которые могут отражать метаболическую активность рисового растения. Повышенное содержание пищевых волокон (гемицеллюлоза, целлюлоза и лигнин) и ниацина делают рисовые отруби перспективным источником питательных веществ в Индонезии, где распространен нездоровый образ жизни. При высоком уровне производства риса и спроса на отруби в Индонезии переработанные продукты из рисовых отрубей имеют большие перспективы в качестве функциональных продуктов для регулярного употребления в пищу, стимулируя более здоровое питание и способствуя предотвращению дегенеративных заболеваний.

БЛАГОДАРНОСТИ: Мы выражаем искреннюю благодарность Колледжу медицинских наук (STIKES Fatmawati), Университету Айрлангга, Национальному университету развития “Ветеран” в Джакарте и Университету обороны Республики Индонезия за их поддержку. Мы также благодарим компанию PT JalanTengah (Индонезия, www.jalantengah.site) за их помощь в редактировании статьи.

1. Introduction

One of the main staple foods for almost half the world's population is rice made from paddy plants (*Oryza sativa*). The amount of dry grain produced by Indonesian paddy in 2018 was 56.54 million tons, while the amount of dry grain produced by rice was 32.42 million tons [1]. Paddy harvests are processed in around three batches of milling. The first batch will result in raw rice bran, the second will produce rice bran, and the third will produce rice ready to cook. The major product of the milling process is rice (endosperm), which accounts for roughly 70% of total production, as well as by-products, including crude rice bran and rice bran. Polished rice is milled rice that is less nutritionally valuable than crude and processed rice bran [2]. Rice bran, a by-product of rice milling, is a nutrient-dense layer between the rice grain and husk. Rice bran is well known for its relatively high contents of bioactive substances and nutrients, which are important in human and animal nutrition industries [3–6].

Traditional application of rice bran is frequently limited to its use as animal feed, underutilizing its potential for processing into nutritional supplements for humans and other food products [3–5,7]. The likelihood of providing more nutritional value is increased by the potential of rice bran as a dietary supplement in the national diet [6,8]. Anticholesterol, antidiabetic, and antioxidant qualities of rice bran may enhance personal health by reducing the risk of developing degenerative diseases. Based on statistics published by RISKESDAS in 2013, Indonesia's prevalence of hypertension among adults aged 18 and older was 9.5%, an increase from the data gathered in 2007 when the figure was 7.6% [9]. The data also revealed that stroke happened in 12.1 per 1000 persons, while cardiovascular disease claimed up to 1.5% of the population, and diabetes mellitus prevalence grew to 2.1% from 1.1% in 2007. Unbalanced eating habits and an unhealthy lifestyle have been discovered to be the main causes of this issue. Thus, it is better to address these issues head-on by employing the nutritional benefits of rice bran as a staple food [2,10].

Functional foods contain biologically active (bioactive) substances intended to treat or prevent health problems in consumers and help them maintain optimal health [11]. Rice bran has a high nutritional content and offers advantages such as lowering blood cholesterol and the risk of atherosclerotic disease and protecting against heart disease, kidney stones, and cancer. The bioactive components found in rice bran, including phenolic acids, flavonoids, gamma oryzanol, tocopherol, tocotrienols, β -sitosterol, and phytic acids, are thought to be responsible for the potential health benefits of the grain [12]. The content of bioactive chemicals in rice bran can be increased using various techniques, including germination with enzyme treatment, microbial fermentation, and subcritical water treatment [13]. In Indonesia, the nutritional value of active components of rice bran as a functional diet has considerable promise.

2. Objects and methods

This review paper systematically analyzes recent findings on the potential of rice bran (*Oryza sativa*) as a functional food. We searched several databases, including PubMed, ScienceDirect, and Google Scholar. Specific search terms, including “rice bran,” “bioactive compounds,” “functional food,” “antioxidant properties,” and “nutritional composition,” were used to find relevant studies.

Inclusion criteria were studies based on the biochemical composition, bioactive properties, health benefits, or promise of rice bran in its potential application as a functional food. The following criteria were used to exclude studies: focusing only on rice cultivation techniques with no reference to nutritional or functional attributes of rice bran and the absence of empirical data (for example, opinion articles). Data sources were drawn from peer-reviewed journal publications, government reports, and scientific reviews to gather a comprehensive view of the subject.

The review is geographically focused and highlights studies done mainly in Indonesia and other rice-producing countries where rice bran is also produced due to rice cultivation, processing, and consumption systems. It covers research on rice bran bioactivity, including *in vitro* and *in vivo* (animal) studies, as well as epidemiological studies and clinical trials that have been performed on the health benefits of rice bran.

in vivo (animal) studies, as well as epidemiological studies and clinical trials that have been performed on the health benefits of rice bran.

The analysis techniques in the reviewed studies were heterogeneous, ranging from biochemical assay methods for antioxidant and bioactive compound analysis to animal and human trials to assess health impacts. Thus, such methods offer a multilevel approach to characterizing rice bran and its components for nutrition applications and functional food constituents.

3. Rice plants

Paddy (*Oryza sativa*) is Indonesia's staple food and product. Rice is produced from paddy grain that has dropped from its panicle. Brown rice is a product of removing the husk from paddy grains. It retains the bran and germ layers, which makes it nutritionally superior to white rice. The process of milling, which transforms brown rice into white rice, removes these layers, leading to a significant loss of nutrients. Brown rice is rich in proteins, vitamins, minerals, and bioactive compounds, largely concentrated in the grain's outer layers. This makes it a valuable dietary component, especially in addressing micronutrient deficiencies and promoting health [14–16].

To increase the shelf life and enhance the beauty of rice, a technique known as winnowing involves separating rice bran from the endosperm components of the grain. The total paddy milling output comprises roughly 60% endosperm (white rice), 16–28% husk, 6–11% crude rice bran, and 2–4% rice bran. Rice bran has a light appearance and tastes slightly sweet, nutty, and bitter. It has a discernible amount of oil and, if powdered, would have a chunky flour consistency. The presence of bioactive compounds such as phenolic compounds, tocotrienols, tocopherols, and γ -oryzanol contributes to its health-promoting properties [16].

In many fermentation processes (e. g., ethanol fermentation), the effects of rice bran composition on the microbial activity and accessibility of substrates are considered central factors. When using *Saccharomyces cerevisiae*, higher concentrations of rice bran will give more nutrients and fermentable substrate, resulting in a better ethanol yield. However, the high fiber composition of rice bran also brings challenges to its use as it is highly water absorbent, which can change the pH of the fermentation medium and make it a less favorable environment for some microbes. Rice bran is a complex carbohydrate substrate compared with simpler substrates. Therefore, sugars released would be more slowly available for microbial fermentation, reducing the potential for acid production and microbial growth rates.

Moreover, bran contributes as a sink for CO₂ by limiting the availability of fermentable sugars at high bran concentrations, affecting dough expansion in baking applications. In the case of wheat bran, optimized conditions for simultaneous saccharification and fermentation have been shown to produce significant ethanol yields, demonstrating the importance of managing fiber content and substrate distribution [17]. Rice bran, with its high cellulose and hemicellulose content, has been effectively used for ethanol production when appropriate pretreatment and fermentation strategies are employed, highlighting the potential of bran as a substrate for bioethanol production [18].

4. Rice bran composition

Saponins in rice bran impart a slightly bitter taste, but their sugar content can give them a slight sweetness. Reports further declare that rice bran oil has both nutritional and industrial value because its fatty acid profile is excellent. The saponifiable portion of rice bran oil is between 90 and 96%; however, rice bran oil has around 4% of the non-saponifiable fat. The saponifiable fraction constitutes the majority of energy and nutritional value with 68–71% triglycerides. It also contains 2–3% diglycerides, 2–3% waxes, 5–7% glycolipids, 5–6% monoglycerides, 2–3% free fatty acids, and 3–4% phospholipids that provide stability and functional properties. These distinctive lipid profiles prolong the shelf life and oxidative stability of rice bran oil and confirm its heart health benefits and cholesterol-lowering characteristics [19].

For health, functional foods, and ingredients in industrial applications, rice bran from Indonesian paddy hybrids possesses quite varied characteristics. The fat content varied from 16.80 to 23.75% DB in various hybrids, the best being the Sintanur hybrid. Therefore, if such hybrids show high-fat contents in some studies, they could be a good source of rice bran oil with polyunsaturated fatty acids. Another parameter of importance is the proportion of insoluble fiber, which significantly differs among hybrids with Sintanur containing maximum (30.44% DB). The content of soluble fiber in four varieties of rice was similar (4.04–4.14% DB). Menthikwangi variety was distinguished by the highest polyphenolic content (2794.28 EAG/g) and antioxidant activity of 41.28%, which are responsible for some health benefits such as anti-inflammatory and anticancer properties associated with the consumption of rice bran. Such variations highlight the need for targeted breeding and processing strategies to harness nutritional and functional properties of rice bran, which may facilitate its use in functional foods as well as obesity and cardiovascular disease control [20–22].

Rice bran serves as a functional food because it is packed with health-promoting components such as lysine-rich dietary protein indispensable for muscle integrity and body needs [23]. It is rich in carbohydrates and lipids such as palmitic, oleic, and linoleic essential fatty acids, which have been shown to improve cardiovascular and metabolic health [24]. Dietary fibers, including hemicellulose, cellulose, and starch, are beneficial for digestive health. Furthermore, rice bran is rich in bioactive compounds, such as tocotrienols and γ -oryzanol, with antioxidant activities, thus treating oxidative stress and inflammation, whereas the presence of anti-inflammatory and anticancer properties may inhibit cancer cell growth [24–26]. These elements enhance physical performance through improvements in endurance, oxidative stress regulation, and cardiovascular health support [27–29]. For various reasons, individual dietary needs, possible allergies, and health conditions precluding intake should be further studied so that a maximized application of rice bran in the continuum between optimal health status and diseases can be accomplished. Finally, bioactive compounds such as γ -oryzanol, ferulic acid, and vitamin E isoforms found in rice bran offer chemopreventive effects [30], whereby the antioxidant and anti-inflammatory effects associated with these compounds may resist some types of cancer. These features make rice bran attractive for dietary applications targeting heart disease risk factors, antioxidant status, and long-term health.

Tocopherols, γ -oryzanol, and β -carotene are bioactive ingredients that can be combined to produce functional food [30,31]. Tocopherol and γ -oryzanol are primary antioxidants, and β -carotene is a secondary antioxidant. Antioxidants work together, both primary and secondary. Each one serves as a complement and mutually strengthens the antioxidant quality. The main active component of crude bran oil, γ -oryzanol, is an antioxidant that can lower plasma cholesterol levels and treat menopausal problems [32–34]. Crude bran oil was found to be rich in tocotrienols in another study that included non-polar antioxidants [30]. Except for the distinction inside chains, tocopherols and tocotrienols have comparable bioactive chemical formulas [13]. Milling significantly reduces the protein, fat, and dietary fiber content of brown rice while increasing the starch content. This process also decreases the levels of γ -oryzanol, vitamin B1, and phenolic compounds, which are crucial for health [14].

Tocotrienols have been shown to have better antioxidant activity than tocopherols, with bran oil having a higher tocotrienol content (336 ppm) than tocopherol amount (81 ppm). By acting as lipid peroxides, singlet oxygen, oxygen-free radical scavengers, and antioxidants that prevent oxidation of oil and its carotenoids, tocopherols help to maintain the integrity of membranes. High temperatures do not affect the stability of tocopherols. Crude bran oil has a greater tocopherol and γ -oryzanol concentration than other vegetable oils [19,34,35]. Due to its chemical ability to bind singlet oxygen and inhibit radical-induced lipid peroxidation, β -carotene in rice bran plays a critical role in reducing the risk of cancer and cardiovascular disease. This powerful antioxidant acts by neutralizing free radicals, which are implicated in cellular damage and the development of chronic diseases. Notably, significant amounts of β -carotene are primarily found in colored varieties of rice bran, such as red and black rice bran, where the pigmentation indicates higher concentrations of this and other carotenoids. Pigmented rice brans contain high levels of anthocyanins responsible for their color and antioxidant activity. Black rice, for instance, is particularly rich in anthocyanins, contributing to its high antioxidant capacity. The consumption of pigmented rice brans is associated with numerous health benefits, including reducing obesity risk, anticancer properties, and improved blood sugar control [30,31,36,37].

It is necessary to consider the efficient usage of tocopherols, γ -oryzanol, and β -carotene in crude rice bran oil. In the study by Mumpuni *et al.*, the extracted rice bran oil, known as crude bran oil, underwent stabilization

but no additional processing during the refining stage. As a result, it was possible to maintain the levels of three antioxidants better and prevent their loss. It is believed that high quantities of antioxidants, including tocopherol, γ -oryzanol, and β -carotene, can be obtained from this kind of crude bran oil to maximize the nutritional value of functional foods [34].

5. Benefits of rice bran for health

Functional foods contain biologically active (bioactive) substances intended to treat or prevent health problems in consumers and help them maintain optimal health. When used within the range of the prescribed amount, functional foods must not cause any interactions with other nutritional intake or adverse metabolic effects [33,38]. In addition, consumer-perceived sensory qualities of functional food, such as appearance, color, texture, and taste, must be acceptable. Rice bran has significant levels of vitamins, unsaturated fats, and minerals essential for human body cells' metabolic function [8].

Research advances towards understanding the nutritional quality of rice bran, especially regarding the discovery of thiamine (vitamin B1) in terms of disease prevention, including beriberi. This nutrient is required for energy metabolism and normal functioning of the nervous and cardiovascular systems. The discovery of the role of thiamine in beriberi, a disease that results from thiamine deficiency, was demonstrated by Christiaan Eijkman with his initial findings on rice bran. A lack of thiamine can result in serious complications involving neurological and cardiovascular systems resulting in the necessity of adequate thiamine [39]. His research highlighted rice bran as a vital dietary component for populations dependent on rice as a staple, underscoring its importance beyond basic nutrition. The presence of thiamine, along with other essential B vitamins in rice bran, supports a variety of metabolic processes, contributing to energy production, nervous system health, and cellular function. This recognition has paved the way for including rice bran in fortified foods and supplements to improve public health in regions where vitamin B1 deficiency is prevalent. In addition to the dietary fiber and phytosterols, which, according to nutritionists, have a hypocholesterolemic impact, stabilized rice bran contains several vital fatty acids, tocopherols, and ferulic acid derivatives. It is a good source of energy [5].

The rich phenolic and flavonoid content in rice bran contributes to its ability to inhibit HMG-CoA reductase, an enzyme involved in cholesterol biosynthesis, thus imparting both anti-hypercholesterolemic and antioxidant effects. Studies show that a blend of rice bran and red yeast rice extracts, particularly in a 3:1 ratio, achieves optimal cholesterol-lowering effects by effectively inhibiting HMG-CoA reductase activity. This combination maximizes the health benefits of rice bran bioactive compounds, such as gamma oryzanol, tocopherol, and tocotrienol, all known to support cardiovascular health by reducing cholesterol levels. These compounds synergize to enhance antioxidant and anti-inflammatory responses, further contributing to lipid-lowering. A mixture of rice bran and red yeast rice (RYR) in a ratio of 3:1, which reduced cholesterol synthesis and increased antioxidant activity, might be useful for hypercholesterolemia patients, improving their medication adherence, reducing side effects compared to commercial RYR products, and providing heart health benefits. The highest phenolic content was found at a ratio of rice bran extract and red yeast rice extract of 2:2, and the highest flavonoid content was found at a ratio of 1:3. The overall amount of phenolic compounds in rice bran was found to be 14.54 mg GAE/g, while the total amount of rice bran flavonoids was only 4.26 mg QE/g. The phenolic compound content in rice bran influences its antioxidant activity [40]. Red yeast rice (RYR) is a natural product obtained from the fermentation of specific strains of white rice with *Monascus purpureus*. It has monacolin K, an active compound identified as being structurally similar to lovastatin. Effects of RYR on cholesterol and cardiometabolic health are well-known [41,42].

A specific functional food that was made as an antihypercholesterolemic snack by mixing 0.8 grams of red yeast rice with 30 grams of rice bran and 7 grams of gelatin has been shown to have the ability to bind cholesterol. The cholesterol-binding ability of this functional food is 60.11% higher than that of commercial gelatin products without the rice bran component, according to *in vitro* test results. Additionally, rice bran increased dietary fiber content by 8.92% [43]. Rice bran suggests possible hypocholesterolemic effects, as it may modulate lipid metabolism and increase bile acid excretion, interrupting the enterohepatic circulation of bile acids, and leading to decreased circulating levels of cholesterol. These effects have been reported in both animal and human studies, indicating the role of rice bran in improving lipid profile and metabolic health [44].

Rice bran oil contains antioxidant compounds such as tocopherol, tocotrienol, and oryzanol. Depending on the bran type, bran oil can range in color from dark green to bright yellow. Pigments and the existence of the Maillard reaction products are two elements that influence the color

of rice bran oil. The primary pigments of bran oil are beta-carotene and chlorophyll. Rice bran oil turns brown due to the Maillard reaction [45]. The dietary fiber and antioxidant compounds in rice bran are recognized for their health benefits, including hypocholesterolemic and hypolipidemic effects and potential anticancer properties. Microencapsulated rice bran (MRB) has been shown to reduce serum lipid levels and hepatic lipid accumulation in hyperlipidemic mice. This is achieved by decreasing the expression of genes related to lipogenesis and increasing those related to lipid catabolism and oxidation [46]. Because rice bran is high in antioxidants, it has the potential as a free radical scavenger. Experiments on mice have shown that rice bran oil can lower total blood cholesterol by lowering low-density lipoprotein (LDL) and very low-density lipoprotein (VLDL) levels [47]. The cholesterol-lowering effect of rice bran was demonstrated in an experiment with hamsters, where including rice bran in the diet significantly reduced plasma cholesterol levels compared to a cellulose control diet. The reduction was dose-dependent: the greater the amount of rice bran consumed, the more pronounced the decrease in cholesterol levels. Clinical studies have also shown notable reductions in both liver and plasma cholesterol levels when rice bran is processed or fermented. While rice bran is recognized as a potent lipid-lowering dietary modifier, the claim that high-temperature processing (stabilization) enhances its hypocholesterolemic properties is not supported by the information found in [48].

The total antioxidant activities of rice bran were discovered to be greater than those of tomatoes. Total antioxidant activities measured were 60.74% in tomato juice and 83.89% in the rice bran extract, indicating that rice bran has a higher ability to reduce harmful oxidative processes. One hundred grams of tomato juice can reduce DPPH free radicals equivalent to vitamin C by up to 1.87 times, while rice bran can reduce DPPH free radicals equivalent to vitamin C by 28.74 times. The antioxidant capacity of a beverage based on rice bran extract has been shown to cause a significant reduction in oxidative stress markers measured in the blood serum of women with breast cysts, suggesting its potential therapeutic benefits in managing oxidative stress-related conditions [26].

Oryzanol is a valuable compound derived from rice bran. Oryzanol has a higher antioxidant activity than tocopherol (vitamin E) and can stimulate human growth, improve blood circulation, and facilitate hormone secretion. Recently, γ -oryzanol, a powerful antioxidant mainly found in rice bran oil, has been recognized for its ability to treat many human diseases as it can scavenge free radicals and inhibit cholesterol synthesis. Cyclopentenyl ferulate has the highest antioxidant activity among its constituents after other ferulate esters [49].

Through progressive extraction and fractionation methods, rice bran yields significant antioxidants, enhancing its potential as a functional food ingredient. Compounds such as tricin and β -sitosterol, which can be effectively isolated from rice bran, demonstrate powerful antioxidant properties, specifically in scavenging superoxide radicals. This activity is essential in mitigating oxidative stress, as superoxide radicals are highly reactive and can contribute to cellular damage if not neutralized. The efficacy of these compounds can vary based on the extraction solvents and times used, suggesting that optimizing these conditions is critical for maximizing the antioxidant yield and activity of rice bran extracts. Refining extraction techniques can enhance the concentration of beneficial antioxidants in rice bran, making it a valuable source for nutraceuticals to reduce oxidative stress and support overall health [49–52].

The total phenolic content and ferulic acid content in rice bran are mostly responsible for this action [52]. In chemical tests and mammalian cells (human leukemia HL-60, lymphoblastoid B95-8 B marmoset B, and Chinese hamster lung cells V79), the rice bran extract has been found to have antioxidant, antimutagenic, and anticarcinogenic substances. The following tests were used to evaluate the antioxidant, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts: inhibition of 4-nitroquinoline N-oxide-induced mutagenesis; inhibition of xanthine oxidase activity; chelation of ferrous ions; reduction of potassium ferricyanide; scavenging of superoxide anions, hydroxyl radicals, and intracellular peroxides; and inhibition of tumor promotion induced by phorbol esters. The results demonstrated that bran from pigmented rice varieties can produce antioxidants and anti-carcinogens [53]. To combat oxidative cell damage, natural plant-based antioxidant supplements are crucial. The antioxidant and antiproliferative properties of rice bran from several rice varieties have been described by Rao *et al.* [54]. IC₅₀ values for scavenging DPPH and nitric oxide ranged from 30.85 to 87.72 $\mu\text{g/ml}$ and 52.25 to 107.18 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The total phenolic and flavonoid content range in rice bran was 3.2–12.4 mg GAE/g bran and 1.68–8.5 mg QEE/g bran, respectively. IC₅₀ values in the MTT assay were 17.53–57.78 $\mu\text{g/ml}$. Rice bran from the Njavara variety had high amounts of polyphenolic compounds showing superior antioxidant activity. It demonstrated the highest reducing power activity and antiproliferative properties in C6 glioma cells.

A highly substantial association was found between total antioxidant and free radical reduction levels. The significant levels of polyphenolic components with exceptional antioxidant activity were demonstrated in rice bran extracts [47]. The dietary fiber of rice bran, with a relatively high level in it (25.3%) has an important function in controlling blood glucose levels. This largely happens because of its ability to bind with glucose and pull off water, making less glucose and carbohydrates available for absorption into the body. Several studies have shown that this trait contributes to keeping blood glucose levels lower [55]. Rice varieties, such as black rice, have a high anthocyanin content in the pericarp layer, imparting a dark purple appearance. Anthocyanin functions as an antioxidant that regulates blood cholesterol levels, prevents anemia, may increase the body's resistance to disease, lessens liver cell damage from hepatitis and cirrhosis, prevents impaired kidney function, has anticancer/tumor and anti-aging activities, and prevents the development of atherosclerosis and cardiovascular disease. Anthocyanins present in rice bran play a protective role in vascular health by supporting the integrity of endothelial cells, which line blood vessel walls, and preventing cellular damage due to oxidative stress [56]. Additionally, rice bran extract has demonstrated cholesterol-lowering effects *in vitro*, with its ability to bind cholesterol increasing as the extract concentration rises. At a concentration of 20 ppm, rice bran extract achieved a notable reduction in free cholesterol, binding up to 47.46% of available cholesterol. This cholesterol-binding capacity of rice bran extract suggests its potential as a natural supplement for managing cholesterol levels, which could be particularly beneficial for cardiovascular health. The efficacy of rice bran in binding cholesterol appears to be dose-dependent, highlighting the importance of optimizing extract concentrations to maximize its hypocholesterolemic benefits [20,57].

Triglycerides and serum cholesterol have a positive or unidirectional association. Triglycerides rise along with cholesterol when cholesterol levels rise [2]. After giving white rats nata de coco mixed with rice bran for two weeks of treatment, it was found that the fiber content of the nata de coco mixture can lower the triglyceride level to 23.09 mg/dl [2]. Oryzanol, a bioactive component of rice bran, can bind with insoluble cholesterol to form complex molecules. Through its ability to absorb peroxy radicals, tocopherol inhibits lipid peroxidation. The most effective isomer of fat-soluble vitamin E, α -tocopherol, is a formidable free radical scavenger [22]. Additionally, as demonstrated in animal research, tocotrienols block cholesterol synthesis, lower serum cholesterol levels, and decrease the growth of tumor cells [2,5].

Furthermore, lipid peroxidation in rats was reduced when red yeast rice (anggak) and rice bran were combined. The combination of these two ingredients also helped prevent and improve histopathological conditions in the pancreatic, liver, and renal tissues. The study by Hasim *et al.* demonstrated that the formation of malondialdehyde (MDA) and the activity of alanine/aspartate aminotransferase (ALT/AST) enzymes in the rat blood serum were inhibited. These medicinal properties provide compelling evidence that rice bran and anggak have significant potential as functional foods [10].

Due to its relatively high fiber content (25–35%), rice bran is an important source of dietary fiber and can be considered a functional food ingredient. Although the relative proportions of soluble and insoluble dietary fiber vary, rice bran typically contains a significant amount of insoluble dietary fiber, which assists in bowel health by facilitating fecal bulk, increasing fecal water content, and eliminating intestinal wastes. Soluble fiber contained in rice bran helps control cholesterol and contributes to heart health. The main monosaccharides in rice bran fibers include xylose, glucose, arabinose, and galactose, contributing to their functional properties [15,55,57]. Compared to wheat bran, highland barley bran, and tartary buckwheat bran, rice bran exhibits a unique rugged microscopic structure that contributes to its functional properties. While highland barley and tartary buckwheat brans show higher glucose and cholesterol adsorption capacities, overall functional profile of rice bran, including its antioxidant and metal ion binding capabilities, is nevertheless noteworthy [55,58].

Rice bran, a by-product of the rice milling process, is a versatile ingredient utilized across various industries, including fuel, fertilizer, medication and soap production, as well as the food and beverage sector. Its inclusion in food products is particularly notable, as it offers both nutritional value and functionality. Rice bran is widely used in products such as snack bars, breakfast cereals, fiber drinks, cakes, cookies, bread, and other foods, due to its unique combination of bioactive phytochemicals and health benefits [5,31,35]. Consumer acceptance studies have shown optimal results when rice bran was incorporated into food products at a substitution level of 10–15% of wheat flour, particularly in items like cookies and sweetbreads. This substitution significantly enhances the nutritional profile of

the final product by increasing levels of essential nutrients such as niacin and dietary fiber fractions, including hemicellulose, cellulose, and lignin. Additionally, the high fiber content of rice bran influences texture characteristics, often improving the mouthfeel and overall sensory appeal of the product. Beyond its functional contributions, rice bran offers substantial health benefits, making it an attractive ingredient for health-conscious consumers. It is linked to improved digestive health due to its high fiber content and has been associated with lowering cholesterol levels and reducing the risk of chronic diseases, such as cardiovascular disease and type 2 diabetes. Its rich profile of antioxidants, including tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol, further enhances its appeal in food formulations targeting wellness and preventive healthcare. The incorporation of rice bran into various food formulations not only provides a cost-effective way to utilize this nutrient-dense by-product but also aligns with the growing consumer demand for functional and health-promoting foods. As research advances, the potential applications of rice bran are expanding, offering exciting opportunities for innovation in the food industry [59–61]. Recent research has highlighted the unique properties of rice bran, emphasizing its potential in preventing and managing chronic diseases. The synergy of its bioactive compounds contributes significantly to its therapeutic effects, including modulation of metabolic pathways, enhancement of gut microbiota, and regulation of immune responses. Moreover, its application in functional food formulations has expanded due to its affordability, sustainability, and versatility, making it an attractive option for both researchers and the food industry [20,62–65].

Furthermore, rice bran oil (RBO), which is rich in γ -oryzanol, tocopherols, and unsaturated fatty acids, is also suggested for better cardiovascular health due to the regulation of the level of LDL and HDL cholesterol, and it has been used in formulations of functional food [63]. Comparative studies on diverse Thai rice bran varieties highlight a range of nutrient profiles, including some with high levels of anthocyanins and γ -oryzanol, which are implicated in chronic disease prevention and mitigation of metabolic complications [64,65]. A comprehensive metabolomic profiling study identified more than 450 metabolites, including rare amino acids, cofactors, and secondary metabolites that support immunity, lower oxidative stress, and offer protection against cardiovascular diseases [66]. These studies highlight and support various health benefits of rice bran and its versatility as a functional food ingredient that can be marketed to promote human health through many different food applications. This body of evidence supports the restorative capacity of rice bran and facilitates changes in its perception as low-value rubbish to a high-value preventive health functional food.

However, rice bran is highly susceptible to rancidity due to lipase and lipoxygenase activity. This problem can be overcome with the help of processing techniques such as microwave stabilization and enzymatic

extraction, which lead to a marked improvement in the stability and functionalities of stabilized rice bran compared to raw rice bran. Microwave treatment effectively stabilizes rice bran by inactivating lipase enzymes, reducing free fatty acid (FFA) content, and improving oxidative stability. This method has been shown to maintain high levels of total phenolic content and γ -oryzanol, which are crucial for antioxidant activity [16,62,67].

The rice variety and cultivation practices affect metabolic processes occurring within the plant and also lead to variation in compositions of bioactive substances due to the activity of nitrate reductase enzyme (NRA), which plays a key role in nitrogen metabolism that ultimately impacts amino acids and proteins generated in the seed thus affecting the nutrient profile of rice bran [68]. The activity of this enzyme differs among rice varieties, leading to differences in nitrogen assimilation efficiency and affecting the final nutrient composition in rice bran. The concentration and types of metabolites, such as amino acids, considerably vary between different rice cultivars, which critically determine the nutritional quality of rice bran [69]. Methods of cultivation and the application of fertilizers can play a significant role in improving the bioactive components, fatty acids, and volatile oils of rice grains. While some studies suggest potential benefits of nanomaterials in agricultural applications, the effect of cerium oxide nanoparticles ($n\text{CeO}_2$) on rice quality, as reported by Rico *et al.* [70], raises concerns. Their findings indicate that $n\text{CeO}_2$ may compromise the quality of rice grains.

Rice bran is rich in proteins, fibers, lipids, and contains minerals; however, the compositions depend upon rice cultivars and processing techniques [59]. Bioactive components like γ -oryzanol and tocopherols benefit human health due to their antioxidant and anti-inflammatory properties [60,61]. Although the composition of bioactive compounds, including flavonoids, phenolic acids, and ferulic acid in rice bran depends largely upon the activity of nitrate reductase enzyme, other factors such as cultivation practices, environmental conditions, and post-harvest processing have a significant influence on it eventually affecting prospectively functional aspects of rice-bran in food/ pharmaceutical applications.

6. Conclusion

Rice bran has the potential to be used as a functional food to improve national health. To prevent damage caused by rancid hydrolysis or oxidation, effective processing methods, such as stabilizing the rice bran, must be employed. Consumer acceptance should be prioritized during the stabilization and processing of rice bran. As a result, it is recommended that researchers develop functional food products from rice bran with long-lasting stability and high quality. Rice bran represents a significant market opportunity for the paddy milling industry in terms of providing healthy food to consumers.

REFERENCES

- Badan Pusat Statistik (BPS). (2018). Executive summary of rice harvest and production area in Indonesia 2018. Jakarta: BPS Press, 2018. (In Indonesian)
- Jufri, N. N., Wirjatmadi, B., Adriani, M. Combined food (rice bran and fat) reduce of the total cholesterol levels, triglycerides, and LDL of wistar strain rats. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(3), 208. <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2015.028.03.8>
- Attia, Y. A., Ashour, E. A., Nagadi, S. A., Farag, M. R., Bovera, F., Alagawany, M. (2023). Rice bran as an alternative feedstuff in broiler nutrition and impact of liposorb[®] and vitamin E-Se on sustainability of performance, carcass traits, blood biochemistry, and antioxidant indices. *Veterinary Sciences*, 10(4), Article 299. <https://doi.org/10.3390/vetsci10040299>
- Tufail, T., Ain, H. B. U., Chen, J., Virk, M. S., Ahmed, Z., Ashraf, J. et al. (2024). Contemporary views of the extraction, health benefits, and industrial integration of rice bran oil: A prominent ingredient for holistic human health. *Foods*, 13(9), Article 1305. <https://doi.org/10.3390/foods13091305>
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Chan, L. C. (2023). Rice bran: From waste to nutritious food ingredients. *Nutrients*, 15(11), Article 2503. <https://doi.org/10.3390/nu15112503>
- Arun, K. B., Dhanya, R., Chandran, J., Abraham, B., Satyan, S., Nisha, P. (2020). A comparative study to elucidate the biological activities of crude extracts from rice bran and wheat bran in cell line models. *Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 3221–3231. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04353-1>
- Nunoi, A., Wanapat, M., Foiklang, S., Ampapon, T., Viennasay, B. (2019). Effects of replacing rice bran with tamarind seed meal in concentrate mixture diets on the changes in ruminal ecology and feed utilization of dairy steers. *Tropical Animal Health and Production*, 51(3), 523–528. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1719-z>
- Sajidan, S., Adi, F. P., Atmojo, I. R. W., Ardiansyah, R., Saputri, D. Y. (2021). Empowerment of non-productive communities in Demangan Hamlet, Sukoharjo Regency through MSMEs based on bran-based materials to realize economic resilience. *International Journal of Community Service Learning*, 5(2), 185–191. <https://doi.org/10.23887/ijcs.v5i2.34394> (In Indonesian)
- Agency of Health Research and Development (Indonesia). (2013). Indonesia Basic Health Research. Retrieved from <https://ghdx.healthdata.org/record/indonesia-basic-health-research-2013> Accessed March 12, 2024. (In Indonesian)
- Hasim, H., Nuris, M. A., Setyono, A., Qomaliyah, E. N., Faridah, D. N. (2020). Red yeast rice and rice bran extract to prevent lipid peroxidation in hyperglycemic Sprague-Dawley rats. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 9(2), 62–69. <https://doi.org/10.17728/jatp.6077> (In Indonesian)
- Temple, N. J. (2022). A rational definition for functional foods: A perspective. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 957516. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.957516>
- Colombo, R., Moretto, G., Barberis, M., Frosi, I., Papetti, A. (2023). Rice byproduct compounds: From green extraction to antioxidant properties. *Antioxidants*, 13(1), Article 35. <https://doi.org/10.3390/antiox13010035>
- Rashid, N. Y. A., Razak, D. L. A., Jamaluddin, A., Sharifuddin, S. A., Long, K. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran fermented with lactic acid bacteria. *Malaysian Journal of Microbiology*, 11(2), 156–162. <https://doi.org/10.21161/mjm.12714>
- Saleh, A. S. M., Wang, P., Wang, N., Yang, L., Xiao, Z. (2019). Brown rice versus white rice: Nutritional quality, potential health benefits, development of food products, and preservation technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 1070–1096. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12449>
- Mir, S. A., Shah, M. A., Bosco, S. J. D., Sunooj, K. V., Farooq, S. (2020). A review on nutritional properties, shelf life, health aspects, and consumption of brown rice in comparison with white rice. *Cereal Chemistry*, 97(5), 895–903. <https://doi.org/10.1002/cche.10322>
- Yilmaz, T. N. (2023). Stabilization of rice bran: A review. *Foods*, 12(9), Article 1924. <https://doi.org/10.3390/foods12091924>
- Katileviciute, A., Plakys, G., Budreviciute, A., Onder, K., Damiati, S., Kodzius, R. (2019). A sight to wheat bran: High value-added products. *Biomolecules*, 9(12), Article 887. <https://doi.org/10.3390/biom9120887>
- Musa, H., Abdullahi, A. I., El-Yakub, R. I., Yerima, I. A. (2020). Potential of bran from two varieties of rice (*Oryza*) spp for bioethanol production. *Journal of Advances in Biology and Biotechnology*, 23(9), 1–9. <https://doi.org/10.9734/jabb/2020/v23i930175>
- Hidayat, C., Wina, E., Sopiyan, S. (2021). Beneficial bioactive compounds of rice bran for chicken's functional feed. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 31(2), Article 75. <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v31i2.2676>

20. Sapwarobol, S., Saphyakhajorn, W., Astina, J. (2021). Biological functions and activities of rice bran as a functional ingredient: A review. *Nutrition and Metabolic Insights*, 14, Article 11786388211058559. <https://doi.org/10.1177/11786388211058559>
21. Hartati, S., Khusnah, Y. K., Tari, A. I. N., Budi, H. C. (2023). The rice bran-based traditional foods: Study of existence, antioxidant activity, and consumer preference. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 1228(1), Article 012010. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1228/1/012010>
22. Hartati, S., Marsono, Y., Suparmo, S., Santoso, U. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of rice bran hydrophilic extract of selected rice variety. *Jurnal Agritech*, 35(1), 35–42. <https://doi.org/10.22146/agritech.9417> (In Indonesian)
23. Alauddin, M., Sultana, A., Faruque, M. O., Islam, F., Kabir, M. A., Shozib, H. B. et al. (2024). Functional evaluation of fermented rice bran and extracted rice bran oil addressing for human health benefit. *Journal of Oleo Science*, 73(4), 467–477. <https://doi.org/10.5650/jos.ess23192>
24. Shramko, V. S., Polonskaya, Y. V., Kashtanova, E. V., Stakhneva, E. M., Ragino, Y. I. (2020). The short overview on the relevance of fatty acids for human cardiovascular disorders. *Biomolecules*, 10(8), 1127. <https://doi.org/10.3390/biom10081127>
25. Talib, W. H., Mahmud, A. I., Awajan, D., Hamed, R. A., Al-Yasari, I. H. (2022). Immunomodulatory, anticancer, and antimicrobial effects of rice bran grown in Iraq: An *in vitro* and *in vivo* study. *Pharmaceuticals*, 15(12), Article 1502. <https://doi.org/10.3390/ph15121502>
26. Kustiyah, L., Dewi, M., Damayanthi, E., Dwiriani, C. M., Alamsah, D. (2019). Lipid profile improvement of overweight-obese adults after high antioxidant tomato and rice bran drinks intervention. *Indian Journal of Public Health Research and Development*, 10(6), 551. <https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.01332.9>
27. Chaikul, P., Kanlayavattanakul, M., Khongkow, M., Jantimaporn, A., Lourith, N. (2024). Anti-skin ageing activities of rice (*Oryza sativa*) bran soft and hard waxes in cultured skin cells. *International Journal of Cosmetic Science*, 46(2), 162–174. <https://doi.org/10.1111/ics.12918>
28. Ahn, J., Son, H. J., Seo, H. D., Ha, T. Y., Ahn, J., Lee, H. et al. (2021). γ -oryzanol improves exercise endurance and muscle strength by upregulating PPAR δ and ERR γ activity in aged mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 65(14), e2000652. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202000652>
29. Perez-Tertero, C., Alvarez de Sotomayor, M., Herrera, M. D. (2017). Contribution of ferulic acid, γ -oryzanol, and tocotrienols to the cardiometabolic protective effects of rice bran. *Journal of Functional Foods*, 32, 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.02.014>
30. Henderson, A. J., Ollila, C. A., Kumar, A., Borresen, E. C., Raina, K., Agarwal, R. et al. (2012). Chemopreventive properties of dietary rice bran: Current status and future prospects. *Advances in Nutrition*, 3(5), 643–653. <https://doi.org/10.3945/an.112.002303>
31. Espinales, C., Cuesta, A., Tapia, J., Palacios-Ponce, S., Peñas, E., Martínez-Villaluenga, C. et al. (2022). The effect of stabilized rice bran addition on physicochemical, sensory, and techno-functional properties of bread. *Foods*, 11(21), Article 3328. <https://doi.org/10.3390/foods11213328>
32. Shibata, A., Kawakami, Y., Kimura, T., Miyazawa, T., Nakagawa, K. (2016). α -Tocopherol attenuates the triglyceride- and cholesterol-lowering effects of rice bran tocotrienol in rats fed a western diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(26), 5361–5366. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02228>
33. Liu, R., Xu, Y., Chang, M., Tang, L., Lu, M., Liu, R., Jin, Q., Wang, X. (2021). Antioxidant interaction of α -tocopherol, γ -oryzanol and phytosterol in rice bran oil. *Food Chemistry*, 345, 128431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128431>
34. Mumpuni, P. D., Ayustaningwarno, F. (2013). Analysis of tocopherol, γ -oryzanol, and β -carotene content and antioxidant activity of crude rice bran oil. *Journal of Nutrition College*, 2(3), 350–357. <https://doi.org/10.14710/jnc.v2i3.3436> (In Indonesian)
35. Siswanti, N., Anandito, R. B. K., Nurhartadi, E., Agustiani, R. B. (2021). Formulation of snack bars made from black rice bran (*Oryza sativa* L.) and sweet potato flour (*Ipomoea batatas* L.). *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 828(1), 012028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/828/1/012028>
36. Bhat, F. M., Sommano, S. R., Riar, C. S., Seesuriyachan, P., Chaiyaso, T., & Prom-U-Thai, C. (2020). Status of bioactive compounds from bran of pigmented traditional rice varieties and their scope in production of medicinal food with nutraceutical importance. *Agronomy*, 10(11), 1817. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111817>
37. Priya, T. R., Nelson, A. R. L. E., Ravichandran, K., et al. (2019). Nutritional and functional properties of coloured rice varieties of South India: A review. *Journal of Ethnic Foods*, 6(11). <https://doi.org/10.1186/s42779-019-0017-3>
38. Sharif, M. K., Butt, M. S., Anjum, F. M., Khan, S. H. (2014). Rice bran: A novel functional ingredient. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(6), 807–816. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.608586>
39. Carpenter K. J. (2012). The discovery of thiamin. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(3), 219–223. <https://doi.org/10.1159/000343109>
40. Hasim, H., Hasanah, Q., Andrianto, D., Faridah, D. N. (2018). *In vitro* antioxidant and anti-hypercholesterolemia activity of a mixture of red yeast rice and rice bran extracts. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 29(2), 145–154. <https://doi.org/10.6066/jtip.2018.29.2.145> (In Indonesian)
41. Buzzelli, L., Segreti, A., Di Gioia, D., Lemme, E., Squeo, M. R., Nenna, A., Di Gioia, G. (2024). Alternative lipid-lowering strategies: State-of-the-art review of red yeast rice. *FitoTerapia*, 172, 105719. <https://doi.org/10.1016/j.ftote.2023.105719>
42. Pestana-Bauer, V. R., Zambiazzi, R. C., Mendonça, C. R., Beneito-Cambra, M., Ramis-Ramos, G. (2012). γ -Oryzanol and tocopherol contents in residues of rice bran oil refining. *Food Chemistry*, 134(3), 1479–1483. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.059>
43. Hasim, Faridah, D.N. and Mithania, D. (2019). Addition of red yeast rice and rice bran to agar-agar as an alternative cholesterol-binding snack. *Jurnal Mutu Pangan*, 6(2), 85–90. <https://doi.org/10.29244/jmpi.2019.6.85> (In Indonesian)
44. Govindarajan, S., Vellingiri, K. (2016). Effect of red yeast rice and coconut, rice bran or sunflower oil combination in rats on hypercholesterolemic diet. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(4), BF05–BF7. <https://doi.org/10.7860/JCDDR/2016/18623.7624>
45. Djaeni, M., Listyadevi, Y. L. (2019). Improvement of process speed and quality of rice bran oil through ultrasonic-assisted extraction. *Teknik*, 40(1), 18. <https://doi.org/10.14710/teknik.v39i3.22826> (In Indonesian)
46. Wang, D., Liu, X., Luo, T., Wei, T., Zhou, Z., Deng, Z. (2024). Microencapsulated rice bran alleviates hyperlipidemia induced by high-fat diet via regulating lipid metabolism and gut microbiota. *Journal of Food Science*, 89(9), 5870–5883. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17174>
47. Tuarita M. Z., Sadek N. F., Sukarno S., Yuliana N. D., Budijanto S. (2017). Rice bran development as functional foods: The opportunities, obstacles, and challenge. *Jurnal Pangan*, 26, 1–11.
48. Kahlon, T. S., Chow, F. I., Sayre, R. N., Betschart, A. A. (1992). Cholesterol-lowering in hamsters fed rice bran at various levels, defatted rice bran and rice bran oil. *The Journal of Nutrition*, 122(3), 513–519. <https://doi.org/10.1093/jn/122.3.513>
49. Xu, Z., Godber, J. S. (2001). Antioxidant activities of major components of γ -oryzanol from rice bran using a linoleic acid model. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 78(6). <https://doi.org/10.1007/s11746-001-0320-1>
50. Nugrahani, R. A., Hendrawati, T. Y., Hasyim, U. H., Sari, F., Ramadhan, A. I. (2024). Kinetic parameter for scale-up and γ -oryzanol content of rice bran oil as antioxidant: Comparison of maceration, ultrasonication, pneumatic press extraction. *Heliyon*, 10(10), Article e30880. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30880>
51. Verschoyle, R. D., Greaves, P., Cai, H., Edwards, R. E., Steward, W. P., Gescher, A. J. (2007). Evaluation of the cancer chemopreventive efficacy of rice bran in genetic mouse models of breast, prostate and intestinal carcinogenesis. *British Journal of Cancer*, 96(2), 248–254. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603539>
52. Jannah, D. W., Maunatin, A., Jannah, A. (2020). Identification and toxicity test of shrimp larvae (*Artemia salina* L.) bran extract using variation of solvent type and extraction time. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 8(2), 16–23. <https://doi.org/10.18860/al.v8i2.11512> (In Indonesian)
53. Nam, S. H., Choi, S. P., Kang, M. Y., Kozukue, N., Friedman, M. (2005). Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 816–822. <https://doi.org/10.1021/jf0490295>
54. Rao, A. S., Reddy, S. G., Babu, P. P., Reddy, A. R. (2010). The antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from Njavara rice bran. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10, 4. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-4>
55. Zhang, X., Dong, L., Jia, X., Liu, L., Chi, J., Huang, F., Ma, Q. et al. (2020). Bound phenolics ensure the antihyperglycemic effect of rice bran dietary fiber in db/db mice via activating the insulin signaling pathway in skeletal muscle and altering gut microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(15), 4387–4398. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00584>
56. Kristantini, K., Wiranti, E. W. (2017). Clustering of 18 local black rice varieties based on total anthocyanin. *Biology, Medicine, and Natural Product Chemistry*, 6(2), 47–51. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2017.62.47-51>
57. Kurnia, D., Lismiawati, N. A., Dinata, D. I. (2019). Cholesterol binding test by methanol extract of black glutinous rice bran *in vitro*. *Jurnal Kimia Riset*, 4(1), 74–80. <https://doi.org/10.20473/jkr.v4i1.13198>
58. Wu, Q., Zhang, M., Hu, H., Tu, Y., Gao, P., Li, T. et al. (2024). Comparative study on chemical composition, functional properties of dietary fibers prepared from four China cereal brans. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257(Part 2), Article 128510. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128510>
59. Iqbal, S., Bhangar, M. I., Anwar, F. (2005). Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry*, 93(2), 265–272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.024>
60. Ronie, M. E., Abdul Aziz, A. H., Kobun, R., Pindi, W., Roslan, J., Putra, N. R., Mamat, H. (2024). Unveiling the potential applications of plant by-products in food – A review. *Waste Management Bulletin*, 2(3), 183–203. <https://doi.org/10.1016/j.wmb.2024.07.008>
61. Liu, Z., Liu, X., Ma, Z., Guan, T. (2023). Phytosterols in rice bran and their health benefits. *Frontiers in Nutrition*, 10, Article 1287405. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1287405>
62. Bultum, L. E., Emire, S. A., Tufa, L. T. (2022). Physicochemical characterization of microwave-stabilized rice bran oil from Ethiopian small-scale rice-processing plants. *Frontiers in Food Science and Technology*, 2, Article 1011445. <https://doi.org/10.3389/ffst.2022.1011445>
63. Pal, Y. P., Pratap, A. P. (2017). Rice bran oil: A versatile source for edible and industrial applications. *Journal of Oleo Science*, 66(6), 551–556. <https://doi.org/10.5650/jos.ess17061>
64. Phongthai, S., Homthawornchoo, W., Rawdkuen, S. (2017). Preparation, properties and application of rice bran protein: A review. *International Food Research Journal*, 24(1), 25–34.
65. Wisetkomolmat, J., Arjin, C., Satsook, A., Seel-Audom, M., Ruksiriwanich, W., Prom-U-Thai, C., Sringarm, K. (2022). Comparative analysis of nutritional components and phytochemical attributes of selected Thai rice bran. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 833730. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.833730>
66. Zarei, I., Brown, D. G., Nealon, N. J., Ryan, E. P. (2017). Rice bran metabolome contains amino acids, vitamins and cofactors, and phytochemicals with medicinal and nutritional properties. *Rice*, 10(1), Article 24. <https://doi.org/10.1186/s12284-017-0157-2>
67. Huang, W., Liu, B., Shi, D., Cheng, A., Chen, G., Liu, F. et al. (2024). Research progress on the quality, extraction technology, food application, and physiological function of rice bran oil. *Foods*, 13(20), Article 3262. <https://doi.org/10.3390/foods13203262>
68. Siswanti, D. U., Asri, N. S., Arlinda, M., Rochman, A. P. S., Syahidah, A. (2018). Physiological response of 'Segreng' rice plant (*Oryza sativa* L.) to biogas sludge at Wukirsari Village, Cangkringan, Sleman. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, 7(1), 21–26. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2018.71.21-26>
69. Gul, K., Yousuf, B., Singh, A. K., Singh, P., Wani, A. A. (2015). Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food – A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 6(1), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2015.06.002>
70. Rico, C. M., Morales, M. I., Barrios, A. C., McCreary, R., Hong, J., Lee, W. Y., Nunez, J., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Effect of cerium oxide nanoparticles on the quality of rice (*Oryza sativa* L.) grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(47), 11278–11285. <https://doi.org/10.1021/jf404046v>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Ayuda N. Agustina , Bachelor, Study Program of Nursing, STIKes Fatmawat Jl. Andara Raya No.16 B, RT.2/RW.3, Pd. Labu, County Cilandak, South Jakarta City, Special Capital Region of Jakarta, 12450, Indonesia Tel.: +6221-2781-10-31 E-mail: ayudania.agustina@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4522-8514	Агустина Аюда Ниа — Бакалавр, Колледж медицинских наук (STIKes Fatmawati) 12450, Индонезия, Округ Чиландак, Южная Джакарта, Специальный Столичный Регион Джакарта, Jl. Andara Raya No.16 B, RT.2/RW.3, Pd. Labu Тел.: +6221-2781-10-31 E-mail: ayudania.agustina@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4522-8514
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
Ratna Puspita , Lecturer, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu, County Cilandak, South Jakarta City, Special Capital Region of Jakarta, 12450, Indonesia Tel.: +895-42-288-20-92 E-mail: ratnapuspita@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5190-0736	Пуспита Ратна — преподаватель, кафедра биохимии, медицинский факультет, Национальный университет развития “Ветеран” в Джакарте 12450, Индонезия, Округ Чиландак, Южная Джакарта, Специальный Столичный Регион Джакарта, Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu Тел.: +895-42-288-20-92 E-mail: ratnapuspita@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5190-0736
Mila Citrawati , Lecturer, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu, County Cilandak, South Jakarta City, Special Capital Region of Jakarta, 12450, Indonesia Tel.: +6221-765-69-71 E-mail: milacitrawati@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9711-1238	Читравати Мила — преподаватель, кафедра физиологии, медицинский факультет, Национальный университет развития “Ветеран” в Джакарте 12450, Индонезия, Округ Чиландак, Южная Джакарта, Специальный Столичный Регион Джакарта, Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu Тел.: +6221-765-69-71 E-mail: milacitrawati@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9711-1238
Sri Wahyuningsih , Lecturer, Department of Public Health, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu, County Cilandak, South Jakarta City, Special Capital Region of Jakarta, 12450, Indonesia Tel.: +6221-765-69-71 E-mail: sriwahyuningsih@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0777-3949	Вахюнингсих Шри , преподаватель, кафедра общественного здравоохранения, медицинский факультет, Национальный университет развития “Ветеран” в Джакарте 12450, Индонезия, Округ Чиландак, Южная Джакарта, Специальный Столичный Регион Джакарта, Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu Тел.: +6221-765-69-71 E-mail: sriwahyuningsih@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0777-3949
Syahrul Tuba , Lecturer, Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Military Pharmacy, Universitas Pertahanan Republik Indonesia FVEJ+G4H, Kawasan IPSC Sentul, Sukahati, County Citeureup, Bogor, West Java, 16810, Indonesia Tel.: +6221-87-95-15-55 E-mail: kedaiakademik@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3082-8891	Туба Сиахрул — преподаватель, кафедра клинической фармации, факультет военной фармации, Университет Пертаханана Индонезии 16810, Индонезия, Западная Ява, провинция Богор, Богор, Район IPSC Sentul, Сукавати, FVEJ+G4H Тел.: +6221-87-95-15-55 E-mail: kedaiakademik@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3082-8891
Mochammad Aqilah Herdiansyah , Bachelor, 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: https://orcid.org/0009-0006-9383-6203	Хердиансиях Мохаммад Акилах — Бакалавр, кафедра биологии, факультет науки и технологии, Университет Айрлангга 60115, Индонезия, Восточная Ява, Сурабая, округ Мулиорехо, Джл. Айрлангга 4-6 Тел.: +628-880-700-02-22 E-mail: aqilahherdiansyah123@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0009-0006-9383-6203
Melly Kristanti , Lecturer, Department of Public Health, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu, County Cilandak, South Jakarta City, Special Capital Region of Jakarta, 12450, Indonesia Tel.: +6221-765-69-71 E-mail: mellyk@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9668-5750	Кристанти Мелли — преподаватель, кафедра общественного здравоохранения, медицинский факультет, Национальный университет развития “Ветеран” в Джакарте 12450, Индонезия, Округ Чиландак, Южная Джакарта, Специальный Столичный Регион Джакарта, Jl. RS. Fatmawati Raya, Pd. Labu Тел.: +6221-765-69-71 E-mail: mellyk@upnvj.ac.id ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9668-5750
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.