Кемеровский государственный университет
Объединяем знания и людей

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

# Техника и технология пищевых производств

# Food Processing: Techniques and Technology

Том 52
Номер 3
2022

Национальный, рецензируемый научный журнал, посвященный вопросам пищевой промышленности и включенный в SCOPUS и Russian Science Citation Index.

Миссия: создание, агрегация, поддержка и распространение научно-образовательного контента в области пищевой промышленности, объединение усилий различных категорий исследователей, вузовской и научной интеллигенции, 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, а также оказывать содействие в подготовке высококвалифицированных специалистов.

В журнале публикуются научные и обзорные статьи, рецензии и краткие научные сообщения по направлениям: пищевые системы; биотехнология; технология пищевых производств; санитария и гигиена; экология; биобезопасность; частная зоотехния; электротехнологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса. Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте https://fptt.ru

*Главный редактор:*

**А.Ю. Просеков**, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия.

*Зам. главного редактора:*

**А.Н. Петров**, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

**О.О. Бабич**, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия.

*Редакционная коллегия:*

**Е.В. Абакумов**, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

**И.В. Алтухов**, Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского, Молодежный, Россия;

**В.В. Бахарев**, Самарский государственный технический университет, Самара, Россия;

**С.М. Бычкова**, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Пушкин, Россия;

**А.Г. Галстян**, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

**И.А. Ганиева**, Министр науки и высшего образования Кузбасса, Кемерово, Россия;

**И.Ф. Горлов**, Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции, Волгоград, Россия;

**Г.М. Гриценко**, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Россия;

**Н.И. Дунченко**, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

**И.А. Евдокимов**, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия;

**Ж.С. Есимбеков**, Университет имени Шакарима города Семей, Семей, Казахстан;

**А.В. Заушинцена**, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

**А.П. Каледин**, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

**А.Б. Капранова**, Ярославский государственный технический университет, Ярославль, Россия;

**В.Г. Лобанов**, Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия;

**Г.О. Магомедов**, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

**О.А. Неверова**, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

**В.Н. Попов**, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

**С.Л. Тихонов**, Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург, Россия;

**О.А. Фролова**, Нижегородский государственный инженерно-экономический университет, Княгинино, Россия;

**В.Н. Хмелев**, Бийский технологический институт, Алтайского государственного технического университета, Бийск, Россия;

**Ю.С. Хотимченко**, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия;

**А.Г. Храмцов**, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия;

**С.В. Шахов**, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

**И.В. Юдаев**, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Пушкин, Россия.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0.

Выпускающий редактор А.И. Лосева
Ответственный за выпуск А.А. Кирякова
Литературный редактор А.Ю. Курникова
Литературный редактор (англ. язык) Н.В. Рабкина
Дизайн и компьютерная верстка Е.В. Волкова
Редактор онлайн версии Е.В. Дмитриева

*Учредитель, издатель и редакция:* Кемеровский государственный университет, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, Красная, 6,
тел.: +7 (3842) 58-80-24, e-mail: fptt98@gmail.com.
*Адрес типографии:* Кемеровский государственный университет, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, пр. Советский, 73.

Дата выхода в свет 06.10.22.
Усл. п. л. 23,25. Тираж 500 экз.
Цена свободная. Выходит 4 раза в год.
*Подписной индекс по объединенному каталогу «Пресса России» – 41672.*
Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-72313 выдано Роскомнадзор.
© КемГУ, 2022. © Авторы, 2022.

The Journal is an open access, double-blind peer-reviewed quarterly journal that encompasses a wide range of food research areas in Russia and neighboring regions.

The journal is accepted by SCOPUS and Russian Science Citation Index.

The Journal's mission is to present, integrate and disseminate the most important results of fundamental and applied research in the food industry of Russia and the CIS countries. We aim to create scientific content that would reflect the current state of food science in the post-Soviet space.

The Journal is addressed to practicing professionals, scientists, academics, and students.

The Journal publishes scientific articles, reviews, and research brieves in the following areas: food systems; biotechnology; food production technology; sanitation and health; ecology; biosecurity; zootechnics; electrotechnologies, agro-industrial machines and equipment. For submission instructions, subscription and all other information visit this journal online at https://fptt.ru/en

*Editor-in-Chief*

**Alexander Yu. Prosekov**, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia.

*Deputy Editor-in-Chief*

**Andrey N. Petrov**, All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

**Olga O. Babich**, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia.

*Editorial Board Member*

**Evgeny V. Abakumov**, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia;

**Igor V. Altukhov**, Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky, Molodezhny, Russia;

**Vladimir V. Bakharev**, Samara State Technical University, Samara, Russia;

**Svetlana M. Bychkova**, St. Petersburg State Agrarian University, Pushkin, Russia;

**Aram G. Galstyan**, All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

**Irina A. Ganieeva**, Minister of Science and Higher Education of Kuzbass, Kemerovo, Russia;

**Ivan F. Gorlov**, Povolzhsky Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russia;

**Galina M. Gritsenko**, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia;

**Nina I. Dunchenko**, Timiryazev Russian State Agrarian University, Moscow Agricultural Academy, Moscow, Russia;

**Ivan A. Evdokimov**, North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia;

**Zhanibek S. Yessimbekov**, Shakarim University of Semey, Semey, Kazakhstan;

**Alexandra V. Zaushintsena**, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

**Anatoly P. Kaledin**, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

**Anna B. Kapranova**, Yaroslavl State Technical University, Yaroslavl, Russia;

**Vladimir G. Lobanov**, Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia;

**Gazibeg O. Magomedov**, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

**Olga A. Neverova**, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

**Vasily N. Popov**, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

**Sergei L. Tikhonov**, Ural State University of Economics, Yekaterinburg, Russia;

**Olga A. Frolova**, Nizhni Novgorod Ingineering-economic State University, Knyaginino, Russia;

**Vladimir N. Khmelev**, Biysk Technological Institute, Altai State Technical University, Biysk, Russia;

**Yuri S. Khotimchenko**, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia;

**Andrey G. Khramtsov**, North-Caucasian Federal University, Stavropol, Russia;

**Sergey V. Shakhov**, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

**Igor V. Yudaev**, St. Petersburg State Agrarian University, Pushkin, Russia.

All articles are licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits their use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as appropriate credit is given to the original author(s) and the source.

Executive Editor A.I. Loseva, Publishing Editor A.A. Kiryakova, Literary Editor A.Yu. Kurnikova, Literary Editor (Eng) N.V. Rabkina, Computer layout and design E.V. Volkova, Online Editor E.V. Dmitrieva.

*Founder, Publisher and Editorial:* Kemerovo State University, 6, Krasnaya Str., Kemerovo, Kemerovo region – Kuzbass, 650000, Russia, phone: +7(3842) 58-80-24, e-mail: fptt98@gmail.com.

*Printing Office:* Kemerovo State University, Sovetskiy Ave. 73, Kemerovo, Kemerovo region – Kuzbass, 650000, Russia.

Date of issue October 06, 2022
Printed sheet 23,25 conventional printed
Circulation 500 cop.
Open price. Issued 4 times a year.

*Subscription index for the unified "Russian Press" catalogue – 41672.*

The certificate of mass media registration is PI № FS 77-72313 Given by the Roskomnadzor.

© 2022, KemSU. © 2022 Authors

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)



Продовольственный ресурс является важным фактором в современной геополитике и мировой экономике. Россия обеспечивает свою продовольственную безопасность и продолжает занимать лидирующие позиции в производстве сельскохозяйственного сырья и продуктов питания. В первую очередь это касается зерна, урожай которого в 2022 г. обещает быть достойным и даже рекордным.

В России хлебопекарное производство остается одной из важнейших отраслей пищевой промышленности. За семь месяцев 2022 г. было выпечено 425,9 тыс. т хлебобулочных изделий недлительного хранения. Хлеб и хлебобулочные изделия из пшеничной муки входят в перечень основных продуктов питания и относятся к числу важных компонентов пищевого рациона всех возрастных групп населения. Сохраняется актуальность создания полезных и функциональных мучных изделий, в том числе кондитерских, соответствующих принципам сбалансированного здорового питания. Как правило, традиционный набор сырья для мучных изделий иногда не отвечает требованиям сбалансированного питания и не обеспечивает организм человека пищевыми ингредиентами, необходимыми для профилактики алиментарно-зависимых заболеваний. Специалисты хлебопекарной отрасли России совместно с учеными работают над расширением ассортимента хлеба и хлебобулочных изделий для здорового питания, в том числе с использованием различных видов муки.

Мука, являясь основным сырьем в рецептурах мучных изделий, определяет их пищевую ценность, а также потребительские свойства. В последние годы промышленность производит широкий ассортимент муки различных видов, включая цельнозерновую, кукурузную, гречневую, нутовую, амарантовую, льняную и др. По данным Росстата, в июле 2022 г. выросло производство муки. Производство пшеничной и пшенично-ржаной муки за указанный период составило 628,4 тыс. т.

Специалисты НИИ хлебопекарной промышленности (г. Москва) отмечают, что для российского хлебопекарного рынка в 2022 г. характерны следующие тренды: стабилизация или рост потребления массовых сортов хлеба; продолжение интереса к региональной продукции по традиционным рецептурам; поиск новых видов отечественного сырья и ингредиентов для сдобных и мелкоштучных хлебобулочных изделий; рост продаж хлебобулочных изделий с увеличенным сроком годности; рост продаж ингредиентов для домашнего хлебопечения и т. д. Что касается краткосрочной перспективы, то наиболее острыми являются вопросы повышения качества и безопасности сырья и готовой продукции хлебопекарного производства, совершенствования технического регулирования и стандартизации, внедрения инновационных технологий, развития отечественного машиностроения для отрасли, а также научного и кадрового обеспечения.

3 августа 2022 г. свое 80-летие отметил академик Российской академии наук, доктор экономических наук, профессор Анатолий Павлович Косован. С именем этого ученого связано множество научных разработок в области хлебопечения, получивших мировое признание. Под руководством Анатолия Павловича разработана «Концепция развития хлебопекарной промышленности на перспективу», обозначены приоритетные направления развития отрасли и определены объемы производства и потребления основных видов изделий при благоприятных и неблагоприятных условиях хозяйствования. Академик Анатолий Павлович Косован предложил новое научное направление по совершенствованию работы хлебозаводов в рыночной экономике, сформулировал методические и прикладные аспекты развития производства хлебобулочных изделий специализированного и функционального назначения и разработал высокоэффективные и устойчивые технологии хлебобулочных изделий для регионов экологического неблагополучия.

Анатолий Павлович совместно со специалистами НИИ хлебопекарной промышленности и Российского союза пекарей внесли реальный вклад в приостановление спада производства и сохранение стабильной выработки хлеба. Работа по решению проблем ведения хлебопекарного бизнеса, связанных с новой экономической реальностью и ростом неопределенности, продолжается.

Редакция журнала «Техника и технология пищевых производств» поздравляет академика Анатолия Павловича Косована с юбилеем и искренне желает здоровья, добра и неиссякаемой энергии в профессиональной и научной деятельности!

Главный редактор журнала
«Техника и технология пищевых производств»,
член-кор. РАН, профессор

А. Ю. Просеков

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2375
https://elibrary.ru/XJCSOK

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Формирование структуры мякиша сбивного бездрожжевого хлеба при интенсивной СВЧ-конвективной выпечке

**Г. О. Магомедов[1], А. А. Хвостов[1,2], А. А. Журавлев[3], М. Г. Магомедов[1], А. С. Таратухин[1], И. В. Плотникова[1,*]**

[1] *Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

[2] *Воронежский государственный технический университет, Воронеж, Россия*

[3] *Военный учебно-научный центр Военно-воздушных сил «Военно-воздушная академия имени профессора Н. Е. Жуковского и Ю. А. Гагарина» Министерства обороны Российской Федерации, Воронеж, Россия*

*Поступила в редакцию: 08.11.2021*
*Принята после рецензирования: 12.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

**И. В. Плотникова: plotnikova_2506@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5959-6652*
*Г. О. Магомедов: https://orcid.org/0000-0002-7201-8387*
*А. А. Хвостов: https://orcid.org/0000-0002-3836-9407*
*А. А. Журавлев: https://orcid.org/0000-0002-2194-767X*
*М. Г. Магомедов: https://orcid.org/0000-0003-2494-4973*
*А. С. Таратухин: https://orcid.org/0000-0002-9880-9726*

*© Г. О. Магомедов, А. А. Хвостов, А. А. Журавлев, М. Г. Магомедов, А. С. Таратухин, И. В. Плотникова, 2022*

**Аннотация.**
Разработка технологии сбивного бездрожжевого хлеба из муки цельносмолотого зерна пшеницы является актуальной задачей хлебопечения. Для реализации данной технологии необходимо правильно управлять процессом пенообразования сбивного бездрожжевого теста с сохранением высокопористой структуры мякиша сбивных тестовых заготовок и тонкостенной корки хлеба при выпечке. Цель работы – исследование изменения качества и установление режимов приготовления сбивного бездрожжевого теста, а также сбивных тестовых заготовок при их комбинированном СВЧ-конвективном нагреве.
В работе исследовались образцы сбивного бездрожжевого теста, полученного на смесительно-сбивально-формующей установке, и сбивные тестовые заготовки после предварительного СВЧ-нагрева со сформировавшимся мякишем мелкопористой структуры. Для оценки пористости мякиша хлеба разработали методику оптического количественного анализа структуры пузырьков воздуха.
С учетом ограничения на максимальный размер пузырьков воздуха в мякише были предварительно получены сбивные бездрожжевые тестовые заготовки плотностью 0,40 ± 0,03 г/см$^3$ с мелкодисперсными воздушными пузырьками. Для формирования устойчивой высокопористой структуры их предварительно подвергали СВЧ-нагреву при температуре 65 ± 1 °С в центре мякиша, а затем конвективному нагреву при температуре 99 ± 1 °С в центре мякиша для формирования тонкостенной корки хлеба. Проведенные исследования показали зависимость изменения пористости мякиша и формирования его структуры от длительности СВЧ-нагрева сбивных тестовых заготовок. Определили рациональную продолжительность предварительного СВЧ-нагрева сбивных тестовых заготовок (70–80 с) и окончательного конвективного нагрева при выпечке хлеба (до 14 мин). Использование комбинированного СВЧ-конвективного нагрева сбивных тестовых заготовок позволяет сократить процесс их выпечки на 26 мин.
Представленный подход вместе с методикой оптической оценки пузырьков воздуха позволит разработать алгоритм оптимального управления процесса комбинированной выпечки хлеба. Разработанная технология сбивного бездрожжевого хлеба является высокоперспективной для внедрения в гражданское и войсковое хлебопечение.

**Ключевые слова.** Хлеб, мякиш, СВЧ, выпечка, пористость, качество

**Финансирование.** Работа выполнена на базе Воронежского государственного университета инженерных технологий (ВГУИТ).

**Для цитирования:** Формирование структуры мякиша сбивного бездрожжевого хлеба при интенсивной СВЧ-конвективной выпечке / Г. О. Магомедов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 426–438. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2375

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2375
https://elibrary.ru/XJCSOK

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Formation of Whipped Yeast-Free Bread Crumb with Intensive Microwave Convective Baking

**Gazibeg O. Magomedov[1], Anatoly A. Khvostov[1,2], Aleksey A. Zhuravlev[3], Magomed G. Magomedov[1], Aleksei S. Taratukhin[1], Inessa V. Plotnikova[1]**

[1] *Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia*

[2] *Voronezh State Technical University, Voronezh, Russia*

[3] *Military Educational and Scientific Centre of the Air Force N.E. Zhukovsky and Yu.A.Gagarin Air Force Academy of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Voronezh, Russia*

*Received: 08.11.2021*
*Revised: 12.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

**Inessa V. Plotnikova: plotnikova_2506@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5959-6652*
*Gazibeg O. Magomedov: https://orcid.org/0000-0002-7201-8387*
*Anatoly A. Khvostov: https://orcid.org/0000-0002-3836-9407*
*Aleksey A. Zhuravlev: https://orcid.org/0000-0002-2194-767X*
*Magomed G. Magomedov: https://orcid.org/0000-0003-2494-4973*
*Aleksei S. Taratukhin: https://orcid.org/0000-0002-9880-9726*

*© G.O. Magomedov, A.A. Khvostov, A.A. Zhuravlev, M.G. Magomedov, A.S. Taratukhin, I.V. Plotnikova, 2022*

**Abstract.**
The development of the technology of whipped yeast-free bread made from whole wheat flour is an urgent task of baking. To implement this technology, it is necessary to properly manage the foaming process of whipped yeast-free dough while preserving the highly porous structure of the crumb of whipped dough blanks and thin-walled bread crust during baking. The purpose of the work is to study the quality changes and establish the modes of preparation of churned yeast-free dough, as well as churned dough blanks with their combined microwave-convective heating.
In the work, samples of churned yeast-free dough obtained on a mixing-churning-forming plant and churned test blanks after pre-microwave heating with a finely porous crumb formed were studied. For an objective assessment of the porosity of bread crumb, a method of optical quantitative analysis of the structure of air bubbles has been developed.
It was found that, taking into account the restriction on the maximum size of air bubbles in the crumb, churned yeast-free test blanks with a density of 0.40 ± 0.03 g/cm$^3$ with finely dispersed air bubbles were preliminarily obtained, in order to form a stable highly porous structure, they were previously subjected to microwave heating at a temperature of 65 ± 1°C in the center of the crumb, and then convective heating at at a temperature of 99 ± 1°C in the center of the crumb to form a thin-walled crust of bread. The conducted studies have shown the dependence of changes in the porosity of the crumb, the formation of its structure on the duration of microwave heating of churned dough blanks. The rational duration of pre-microwave heating of churned dough blanks is determined – 70–80 s and final convective heating during bread baking – up to 14 min. The use of combined microwave-convective heating of churned dough blanks reduces the baking process by 26 min.
The presented approach, together with the method of optical evaluation of air bubbles, allows us to develop an algorithm for optimal control of the process of combined baking bread. The accelerated technology of churned yeast-free bread has been developed and is highly promising for widespread implementation in civil and military bakery.

**Keywords.** Bread, crumb, microwave, baking, porosity, quality

**Funding.** The research was performed on the premises of the Voronezh State University of Engineering Technologies (VSUET).

**For citation:** Magomedov GO, Khvostov AA, Zhuravlev AA, Magomedov MG, Taratukhin AS, Plotnikova IV. Formation of Whipped Yeast-Free Bread Crumb with Intensive Microwave Convective Baking. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):426–438. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2375

**Введение**

Приоритетной задачей хлебопекарной отрасли является обеспечение населения хлебобулочными изделиями в достаточном ассортименте и объеме для формирования профилактического и сбалансированного питания [1–3]. Специалисты в области здорового питания отдают предпочтение хлебу из муки цельносмолотого зерна пшеницы, который богат пищевыми волокнами, макро- и микроэлементами, а также витаминами. Такой хлеб получен по технологии сбивных бездрожжевых хлебобулочных изделий повышенной пищевой ценности и низкого ценового сегмента [4].

Процесс выпечки хлебобулочных изделий традиционными способами сопряжен с энергозатратами, длительностью технологического процесса, металлоемкостью оборудования и большими производственными площадями [5]. Исследование эффективных альтернативных источников подвода энергии к тестовой заготовке для сокращения продолжительности и упрощения процесса выпечки хлебобулочных изделий является актуальной задачей, особенно для технологии приготовления сбивного бездрожжевого хлеба, где процесс приготовления сбивного теста осуществляется в течение 1–2 мин, а выпечка – до 40 мин.

С точки зрения механизма подвода или генерации тепла, вызывающего прогрев выпекаемой тестовой заготовки, существующие способы выпечки можно классифицировать следующим образом:

– тепло к выпекаемой тестовой заготовке подводится извне (радиационно-конвективный способ в традиционных хлебопекарных печах; в печах с генераторами инфракрасного излучения; в замкнутых камерах в атмосфере пара (в атмосфере насыщенного пара или в атмосфере насыщенного пара в начале выпечки и в атмосфере перегретого пара в конце));
– тепло выделяется в массе прогретой тестовой заготовки (с применением электроконтактного прогрева; в электрическом поле токов высокой и сверхвысокой частоты (СВЧ); с применением инфракрасного прогрева);
– выпечка с комбинированным прогревом тестовой заготовки (с одновременным высокочастотным и инфракрасным прогревом; с прогревом в электрическом поле токов высокой частоты в начале выпечки и с инфракрасным прогревом при завершении; с одновременным инфракрасным и электроконтактным прогревом; с последовательным электроконтактным и инфракрасным прогревом; с одновременным прогревом инфракрасным излучением с наложением ультразвука в пекарной камере) [6–11].

Применение разных механизмов подвода тепла открывает новые возможности по интенсификации процесса выпечки хлебобулочных изделий. Анализ известных способов подвода тепла к тестовым заготовкам с позиции упрощения и сокращения продолжительности выпечки показал, что перспективным является комбинированный радиационно-конвективный способ – сверхвысокочастотный конвективный нагрев. Другие способы подвода тепла приводят к увеличению энергоемкости, продолжительности выпечки и усложнению конструкции хлебопекарных печей [12]. Формирование высоких показателей качества хлебобулочных изделий (вкус, запах, цвет, структура корки и мякиша) происходит путем оптимального сочетания интенсивности и продолжительности воздействия комбинирующих режимов выпечки в одном технологическом цикле.

Ввиду равномерности прогрева по объему тестовой заготовки и экономичности процесса выпечки (экономия энергии до 40 %) основной подвод тепла в массе тестовой заготовки следует осуществлять за счет сверхвысокочастотной энергии до формирования устойчивой мелкопористой упруго-эластичной структуры мякиша хлебобулочных изделий [13]. Должен завершиться процесс денатурации белка и клейстеризации крахмала, а также перераспределения влаги между ними с повышением доли связанной влаги. Это придает устойчивость пенным пленкам воздушных пузырьков мякиша хлеба [14].

Для формирования корки с золотисто-кремовым цветом и привлекательным товарным видом, а также с сохранением влаги внутри мякиша необходим конвективный или дополнительно инфракрасный нагрев, который подводит тепло внутрь тестовой заготовки за счет теплопроводности тестового скелета. Процесс нагрева дополнительно интенсифицируется. Это может привести к неравномерному перегреву и разрушению мелкопористой структуры мякиша за счет разрыва пенных пленок воздушных пузырьков [15].

При дополнительном введении инфракрасных излучателей в хлебопекарную печь с СВЧ-нагревом усложняется ее конструкция и повышаются энергозатраты, а также ограничивается глубина проникновения коротковолновых лучей инфракрасных излучателей в тестовые заготовки [16–18]. В связи с этим необходим баланс между быстрым нагревом, формированием структуры мякиша и корки хлебобулочных изделий. Следовательно, для ускоренной выпечки сбивных тестовых заготовок эффективно применение комбинированного сверхвысокочастотного и конвективного режима прогрева за счет простоты конструкции печи и энергоэкономичности [19].

Наибольший вклад в ускорение процесса выпечки тестовых заготовок и формирование мелкопористой упруго-эластичной структуры мякиша вносит сверхвысокочастотный нагрев. Интерес представляет зависимость пористости и распределения пузырьков воздуха по размерам от технологических параметров

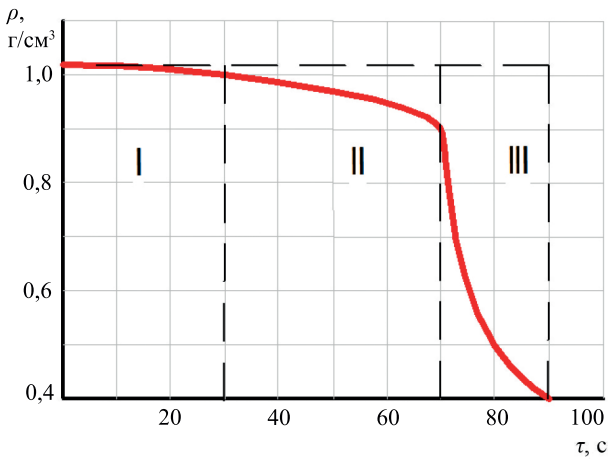



Рисунок 1. Изменение объемной массы теста от продолжительности его замеса (I), сбивания (II) и при сбросе избыточного давления (III) в сбивальной камере

Figure 1. Effect of kneading time (I), whipping (II), and pressure release (III) on dough volume

процесса при СВЧ-нагреве сбивных тестовых заготовок из муки цельносмолотого зерна пшеницы. Это дает возможность управлять процессом выпечки с целью обеспечения заданной текстуры бездрожжевого хлеба и сокращения его продолжительности [20–22].

Цель работы – исследование изменения качества и установление режимов приготовления сбивного бездрожжевого теста, а также сбивных тестовых заготовок при их предварительном СВЧ-нагреве и последующем конвективном нагреве с формированием мелкопористой структуры мякиша и тонкостенной корки сбивного бездрожжевого хлеба из муки цельносмолотого зерна пшеницы.

**Объекты и методы исследования**

Образцы сбивных тестовых заготовок влажностью 56 ± 1 % из муки цельносмолотого зерна пшеницы готовили в несколько этапов. На первом этапе в смесительно-сбивально-формующую установку вносили концентрированный яблочный сок, поваренную пищевую соль, воду и муку из цельносмолотого зерна пшеницы. Полученную смесь предварительно перемешивали в течение 20 с при частоте вращения венчиковой мешалки 1,7 $с^{-1}$. Далее полученную массу интенсивно сбивали при частоте вращения венчиковой мешалки 16 $с^{-1}$ в течение 40 с, а затем при избыточном давлении воздуха 5 атм в течение 20 с. По завершении процесса сбивания тесто формовали под давлением в силиконовые формы массой по 580 г, после чего сбрасывали избыточное давление воздуха до нуля. В результате этого тестовые заготовки увеличивались в объеме в 3 раза до объемной массы 0,40 ± 0,03 г/$см^3$. Изменение объемной массы теста ($\rho$, г/$см^3$) от продолжительности его замеса (I), сбивания (II) и при сбросе избыточного давления (III) в сбивальной камере представлено на рисунке 1. Фотосъемка образцов осуществлялась с помощью цифровой камеры Canon EOS 400D при освещении люминесцентной лампой мощностью 40 Вт с цветовой температурой 4000 К.

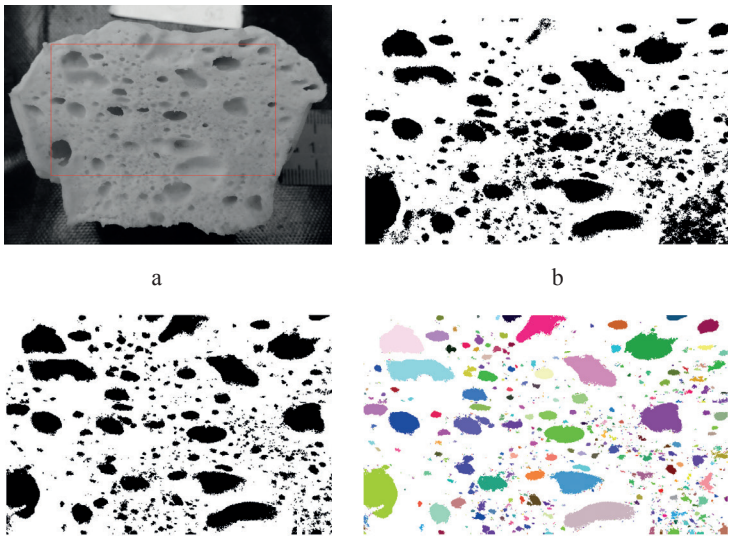
Тестовые заготовки в силиконовых формах помещали в микроволновую печь марки Panasonic NN-CSS 965. Температуру сбивного теста контролировали при помощи термопары ОВЕН ДТПL054 и регистратора ТРМ-200 в центре мякиша в процессе нагрева. Окончание процесса выпечки фиксировали по достижении температуры в центре мякиша 98 ± 1 °С.

Для комбинированной СВЧ-конвективной выпечки сбивные тестовые заготовки предварительно нагревали до температуры 65 ± 1 °С в центре мякиша. Затем отключали СВЧ-нагрев и выпекали в печи кондитерской с электрообогревом PFS-9E в течение 720 с до достижения температуры в центре мякиша 98 ± 1 °С. Для сравнительного исследования были получены образцы бездрожжевых сбивных тестовых заготовок из муки цельносмолотого зерна пшеницы с различной длительностью этапа СВЧ-нагрева: 60, 90 и 120 с при удельной мощности нагрева 2,9 Вт/г и температуре от 65 ± 1 до 98 ± 1 °С.

Для оценки пористости мякиша сбивного бездрожжевого хлеба из муки цельносмолотого зерна пшеницы, полученного при СВЧ-нагреве сбивных тестовых заготовок, разработана методика оптического количественного анализа структуры образовавшихся пузырьков воздуха. На рисунке 2 в качестве примера представлены фотографии, на которых изображены срез мякиша выпеченного хлеба при СВЧ-нагреве сбивных тестовых заготовок в течение 60 с (a), некорректное разделение пузырьков воздуха и теста по порогу интенсивности (b), корректное разделение пузырьков воздуха и теста с помощью радиальной нейронной сети (c) и результаты разбиения изображения на кластеры (d).

При масштабировании и обрезке исходных фотографий до размера 1600×1200 пикселей вся серия фотографий была приведена к одному масштабу с помощью попадающего в кадр эталона линейного размера (стальная линейка) (рис. 2a). Размер одного пикселя 0,05634 мм. Это позволило обнаружить пузырьки воздуха размером не менее 0,06 мм.

Так как пузырьки в мякише сбивного бездрожжевого хлеба не имеют цветовой дифференциации, то изображение преобразовывалось из цветного режима в режим градации серого цвета. При этом производилось усреднение яркости трех цветовых каналов $I^{R}_{ij}$, $I^{G}_{ij}$, $I^{B}_{ij}$ (красного, зеленого, синего) (рис. 2b):



a b c d

Рисунок 2. Результаты обработки фотоснимков

Figure 2. Processed photos

$$I_{ij} = (I^{R}_{ij} + I^{G}_{ij} + I^{B}_{ij}) / 3 \quad (1)$$

где $i$, $j$ – индекс элемента массива пикселей изображения.

Усреднение яркости трех каналов позволило повысить точность передачи необходимой для дальнейшего анализа общей яркости $I_{ij}$ по сравнению с использованием какого-то одного из каналов. Для желтоватой поверхности среза мякиша сбивного хлеба можно было использовать синий канал $I^{B}_{ij}$ как диаметрально противоположный на цветовом круге.

Для определения пузырьков воздуха мякиша изображение преобразовывалось в черно-белое (рис. 2b). Использование простого способа разделения изображения на черные и белые области – по пороговой яркости $I_п$ (пиксели изображения с яркостью $I_{ij} < I_п$ считаются «черными», пиксели с яркостью $I_{ij} \geq I_п$ считаются «белыми») – приводит к ошибкам определения пузырьков из-за неоднородного освещения образца (рис. 2b). Например, из-за избытка освещения в левом верхнем углу изображения крупные пузырьки оказываются заниженных размеров, а мелкие пузырьки практически не проявляются. Из-за недостатка освещения в правом нижнем углу, наоборот, мелкие пузырьки сливаются в одну большую черную область.

Для решения проблемы неоднородного освещения пороговая интенсивность $I_п$ разделения на «черное» и «белое» представлена как плавная функция от положения на изображении $I_п(i, j)$. В этом случае разделение на «черные» и «белые» пиксели производится по формуле

$$M_{ij} = \begin{cases} 1, & I_{ij} < I_п(i,j) \\ 0, & I_{ij} \geq I_п(i,j) \end{cases} \quad (2)$$

где $M_{ij}$ – матрица принадлежности области пространства $ij$ к пузырькам.

Для задания плавной функции пороговой интенсивности $I_{ij}$ использовалось разбиение изображения на 25 прямоугольных областей (5 по горизонтали, 5 по вертикали). Расчет средней интенсивности в каждой прямоугольной области проводился по формуле (3) [23]:

$$I_п(i,j) = \frac{\sum_{m=1}^{5}\sum_{n=1}^{5} I_{cmn} \cdot \exp\left(-\frac{1}{\sigma^2}\sum_{m=1}^{5}\sum_{n=1}^{5}\left(\left(i - \frac{m-\frac{1}{2}}{5} i_m\right)^2 + \left(j - \frac{n-\frac{1}{2}}{5} j_m\right)^2\right)\right)}{\sum_{m=1}^{5}\sum_{n=1}^{5} \exp\left(-\frac{1}{\sigma^2}\sum_{m=1}^{5}\sum_{n=1}^{5}\left(\left(i - \frac{m-\frac{1}{2}}{5} i_m\right)^2 + \left(j - \frac{n-\frac{1}{2}}{5} j_m\right)^2\right)\right)} \quad (3)$$

где $m$ и $n$ – горизонтальный и вертикальный индексы разбиения изображения на 25 прямоугольных областей; $I_{cmn}$ – средняя интенсивность в прямоугольной области ($m$, $n$); $\sigma$ – расстояние усреднения (использовалось значение 150 пикселей для изображения размером 1600×1200); $i_m$, $j_m$ – максимальные значения $i$ и $j$ (размер изображения).

При использовании разделения на черные и белые области матрица принадлежности к пузырькам является более однородной (рис. 2c). Визуальная оценка свидетельствует о хорошем соответствии черных и белых областей пузырькам исходного изображения. В этом случае в засвеченном левом верхнем углу проявляется множество мелких пузырьков, а большие пузырьки имеют увеличенный размер. В затемненном правом нижнем углу множество мелких пузырьков не сливаются в одну область, а четко отделены друг от друга.

На следующем этапе фотограмметрического анализа необходимо распознать отдельные пузырьки. Для этого по матрице принадлежности пузырькам $M_{ij}$ выделялись кластеры: протяженные области пространства $M_{ij}$, в которых заполненные элементы «1» находятся в соседстве друг с другом [23]. Кластеры нумеруются и им присваиваются номера $C_{ij} = k$. Это позволило рассматривать каждую связную область как отдельный газовый пузырек и определять его параметры (рис. 2d).

Алгоритм реализован в среде программирования Borland Delphi 7. Машинное время поиска кластеров на изображении размером 1600×1200 пикселей составило около 15 с. Визуальное сравнение исходной фотографии и картограммы распределения кластеров позволило сделать вывод о том, что распознаны видимые глазом пузырьки. Их форма и площадь передаются корректно, а пузырьки-кластеры отделены друг от друга.

Из-за сложного рельефа поверхности среза вблизи каждого пузырька формируется область отражения света, которая вносит систематическую погрешность измерения площади пузырьков. Для коррекции этой погрешности производится калибровка путем сравнения площадей пузырьков, которые измерили методами фотограмметрии и графоаналитики с участием 3-х человек (сотрудники кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ВГУИТ и АО «Хлебзавод № 7», Воронеж). Сравнение производилось для 20 пузырьков различного размера (от 1 до 10 мм). На основе усреднения определялся средний коэффициент увеличения площади. Для приведенного примера коэффициент увеличения площади составил 1,31. Однако при фотограмметрии срезов различных образцов из-за отличий условий освещения коэффициент различался (около 7 %).

Ограничением разработанного метода является неполное определение пузырьков большого размера (более 10 мм), т. к. из-за большого диаметра на фотографии получается сложное сферическое распределение интенсивности. Поэтому поиск всего пузырька является сложной задачей распознавания. Пузырьки размером более 10 мм относятся к дефектам хлеба. Поэтому точная их форма и размеры не представляют интереса в данном исследовании: достаточно знать, что размер пузырька более 10 мм.

Для дальнейшего исследования рассчитывается площадь найденных пузырьков $S_k$ как площадь соответствующих кластеров $k$:

$$S_k = \sum_{i=1}^{i_m} \sum_{j=1}^{j_m} \begin{cases} 1, & C_{ij} = k \\ 0, & C_{ij} \neq k \end{cases} \tag{4}$$

Для определения эффективного диаметра пузырька $R_k$ использовали формулу площади круга при допущении, что форма пузырька – сфера и его сечение ведется по диаметральной плоскости:

$$R_k = \sqrt{\frac{S_k}{\pi}} \tag{5}$$

Для статистическо-геометрического анализа пузырьков в хлебе использованы функции распределения пузырьков по размерам $N_п(R_п)/S$ и площадям $N_п(S_п)/S$ и функции распределения относительной площади пузырьков по размерам $S_п/S(S_п)$ и их площадям. $N_п/S$ – количество пузырьков на единице площади; $R_п$ – размер пузырька; $S_п$ – площадь пузырька; $S_п/S$ – доля площади пузырьков данного типа в общей площади пузырьков. Перечисленные функции определяются сходным образом. Функция $N_п(R_п)/S$ определяется по найденному кластерному разбиению следующим образом:

$$N_п(R_п)/S = \frac{1}{i_m j_m q^2} \sum_{k=1}^{N_к} \begin{cases} 1, & R_п - d < R_k \leq R_п + d \\ 0, & \left[ \begin{array}{l} R_k \leq R_п - d \\ R_k > R_п + d \end{array} \right. \end{cases} \tag{6}$$

где $q$ – коэффициент масштаба (размер пикселя в миллиметрах или в других единицах измерения линейного размера); $k$ – номер пузырька; $N_к$ – количество пузырьков (кластеров); $d$ – шаг дискретизации шкалы размеров пузырька $R_п$ для построения таблично заданной функции $N_п(R_п)/S$.

Так как пузырьковая структура мякиша сбивного бездрожжевого хлеба является выраженной мультимасштабной структурой, то при анализе перечисленных распределений целесообразно использовать логарифмическую шкалу как для размеров $R_п$ (изменяется в данном исследовании более чем на два порядка: от 0,06 до 10 мм) и площадей сечения $S_п$ пузырьков, так и для относительного количества пузырьков $N_п/S$ и относительной площади, занятой пузырьками данного размера $S_п/S$.

Для дальнейшего анализа интерес представляет исследование поведения отдельных фракций пузырьков, которые определяют механические

свойства пористой матрицы тестовой заготовки в процессе выпечки. Проведенные исследования для рассмотренной рецептуры показали, что из-за более низкой вязкости сбивного теста, по сравнению с традиционными дрожжевыми (56 % влажности для сбивного против 43 % для дрожжевого), устойчивость пенной структуры увеличивается с повышением дисперсности воздушных пузырьков и сохраняется при их размерах, не превышающих в диаметре 4,5 мм. По этим причинам пузырьки, размеры которых превышают 10 мм, являются дефектами в мякише сбивных хлебобулочных изделий.

**Результаты и их обсуждение**

В результате обработки экспериментальных данных 4-х образцов, выпекаемых при одних и тех же условиях, получены две зависимости: для общей пористости (сплошная линия, рис. 3) и пористости в пузырьках, размер которых не превышает 4,5 мм, что соответствует площади сечения пузырьков 16 мм$^2$. Площадь поверхности пузырьков ($S_{пов}$) составляет 64 мм$^2$ в приближении сферической формы пузырька (штрихпунктирная линия, рис. 3).

Для получения плавной аналитической зависимости $S_п/S_с(t_{свч})$ использовалась аппроксимация полиномом второго порядка методом наименьших квадратов. Для общей пористости получено выражение

$$S_п/S_с(t_{свч}) = -0{,}00611\ t_{свч}^{\ 2} + 1{,}18\ t_{свч} + 7{,}00; \qquad (7)$$

для пор площадью не более 16 мм$^2$ на срезе получено выражение

$$S_п/S_с(t_{свч}) = 0{,}00189\ t_{свч}^{\ 2} - 0{,}39\ t_{свч} + 72{,}6, \qquad (8)$$

где $S_п/S_с$ – безразмерная величина; $t_{свч}$ измеряется в секундах.

Максимум функции общей пористости, найденный по формуле (7), достигается при длительности этапа СВЧ-нагрева около 96,6 с. Если целью является получение максимальной пористости хлеба без учета размера газовых пузырьков, то оптимальной длительностью этапа СВЧ-нагрева является 96,6 с. Пористость мякиша хлеба составляет 64 %. Если целью является не только максимизация пористости мякиша хлеба, но и условие не превышения пузырьками размера 4,5 мм (площади 16 мм$^2$), то оптимальная длительность этапа СВЧ-нагрева составляет около 60 с. Все поры имеют площадь менее 16 мм$^2$, а $S_{пов}$ – менее 64 мм$^2$.

Помимо такой интегральной характеристики, как пористость, разработанный фотограмметрический метод позволяет получить более детальные характеристики системы газовых пузырьков. Изучены два типа функций распределения пузырьков по площадям. Первая функция $N\ (S_п)/S_с$ представляет собой количество $N$ пузырьков в единице площади, имеющих площадь $S_п$. Данная функция определяется по кластерному разбиению изображения следующим образом.

$$N(S_п)/S_c = \frac{1}{i_m j_m q^2}\sum_{k=1}^{N_к}\begin{cases}1, & S_п - d < S_k \le S_п + d\\ 0, & \left[\begin{array}{l} S_k \le S_п - d \\ S_k > S_п + d\end{array}\right.\end{cases} \qquad (9)$$

где $i_m$, $j_m$ – размер изображения по горизонтали и вертикали; $q$ – коэффициент масштаба (размер пикселя в миллиметрах или в других единицах измерения линейного размера); $k$ – номер пузырька; $N_к$ – количество пузырьков (кластеров); $d$ – шаг дискретизации шкалы размеров пузырька $S_п$ для построения таблично заданной функции $N_п(S_п)/S_с$.

Функции распределения пузырьков по площадям имеют немонотонный убывающий характер: наибольшее количество пузырьков малой площади 0,01–0,03 мм$^2$ и очень малое количество больших пузырьков более 2 мм$^2$ (рис. 4). При длительности этапа СВЧ-нагрева 60 с площадь сечения пузырьков не превышает 4 мм$^2$ (рис. 4a). С повышением длительности $t_{свч}$ увеличивается максимальная площадь сечения пузырька: при 90 с максимальная площадь составляет 64 мм$^2$ (рис. 4b), при 120 с – 128 мм$^2$ (рис. 4c). Здесь и далее кратность результатов 2 обусловлена используемой логарифмической шкалой и множителем 2 между границами интервалов усреднения гистограммы.

Более выраженный геометрический смысл имеет другая функция $S_{пΣ}(S_п)/S_с$: отношение суммарной площади сечения $S_{пΣ}$ пузырьков данного размера $S_п$ к площади среза $S_с$. Для определения данной функции использовалась формула, аналогичная (3).

Наличие пика на функции $S_{пΣ}(S_п)/S_с$ при некотором значении $S_п$ означает, что большинство пузырьков имеет такую площадь $S_п$. При $t_{свч}$ = 60 с

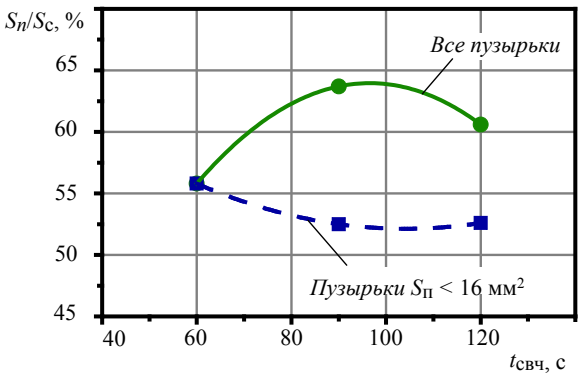



Рисунок 3. Зависимость пористости сбивного бездрожжевого хлеба $S_п/S_с$ от длительности этапа СВЧ-нагрева ($t_{свч}$)

Figure 3. Effect of microwave heating time ($t_{свч}$) on porosity ($S_п/S_с$)

большинство пузырьков имеет площадь поперечного сечения около 1,5 мм$^2$ ($S_{пов}$ составляет около 6,0 мм$^2$) (рис. 4d). При большей длительности $t_{свч}$ распределение расширяется и не сводится к одному выраженному пику (рис. 4e и f).

Можно предположить, что сложный характер функции распределения $S_{п\Sigma}(S_п)/S_с$ получается в результате наложения нескольких мод, по форме близких к плотности нормальной функции распределения. В рамках этого предположения

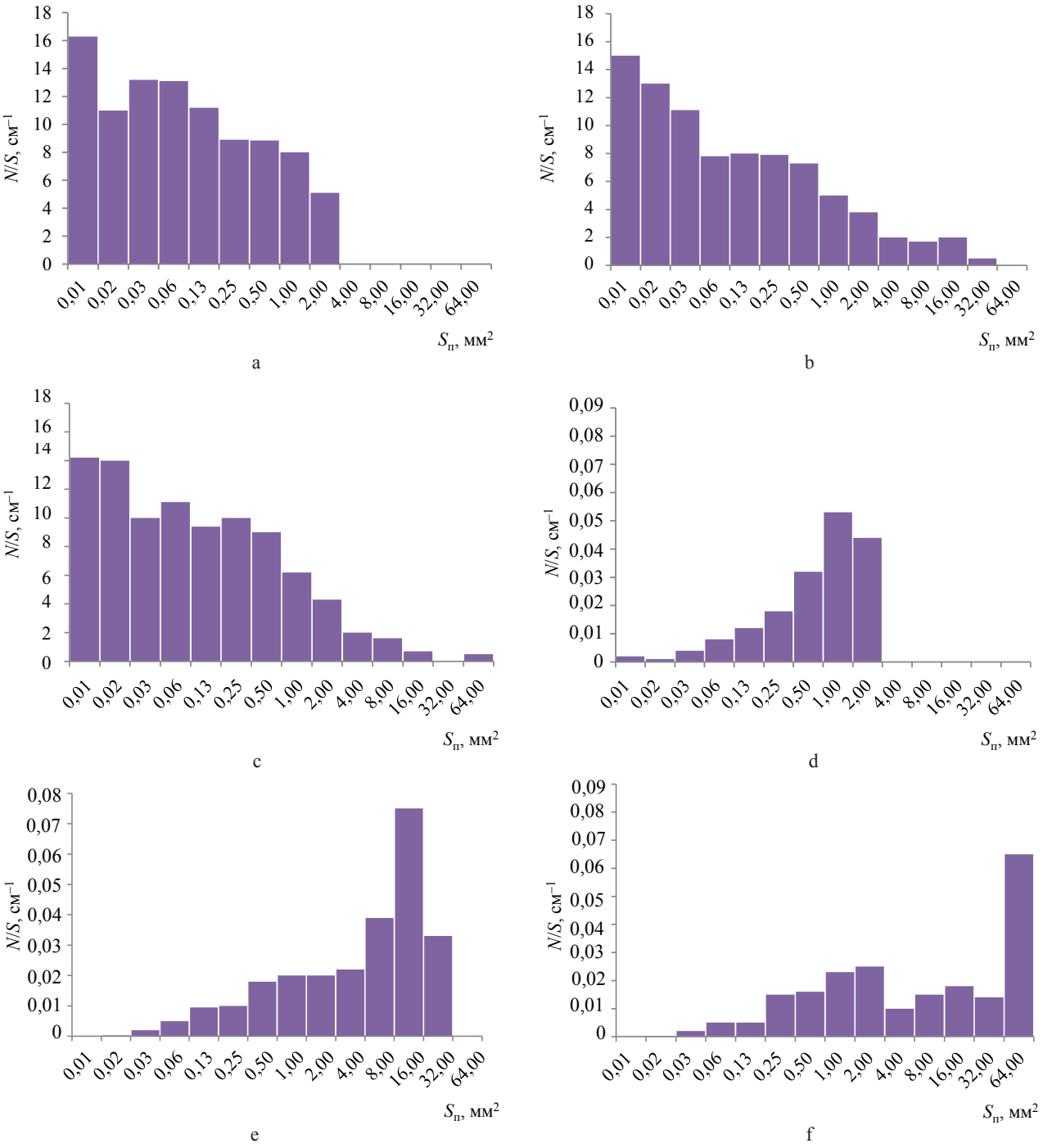



Рисунок 4. Распределение $N(S_п)$, $S_{п\Sigma}(S_п)/S_с$ пузырьков по площадям для разной длительности этапа СВЧ-нагрева (a, d – 60 с; b, e – 90 с; c, f – 120 с)

Figure 4. Distribution of bubbles ($N(S_п)$, $S_{п\Sigma}(S_п)/S_с$) by area for different microwave heating time (a, d – 60 s; b, e – 90 s; c, f – 120 s)

была проведена аппроксимация функций $S_{п\Sigma}(S_п)/S_с$ взвешенной суммой плотностей нескольких нормальных распределений: одним для $t_{свч}$ = 60 с (рис. 5a), двумя для $t_{свч}$ = 90 с (рис. 5b), тремя для $t_{свч}$ = 120 с (рис. 5c). Каждый пик задавался функцией плотности распределения с тремя параметрами:

$$S_{п\Sigma}(S_п)/S_c = S_{пм}/S_c \exp\left(-\frac{(S_п - S_{пп})^2}{2\sigma^2}\right) \quad (10)$$

для модального распределения

$$\frac{S_{п\Sigma}(S_п)}{S_с} = \sum_m^M \alpha_m \frac{S_{пм}}{S_с} e^{\left(-\frac{(S_п - S_{ппm})^2}{2\sigma_m^2}\right)} \quad (11)$$

где $S_{пм}/S_с$ – максимум нормального распределения; $S_{пп}$ – математическое ожидание (средний размер пузырьков); $\sigma$ – дисперсия (характеристика ширины моды), $\alpha_m$ – весовой коэффициент $m$-ой моды. Результаты аппроксимации функции $S_{п\Sigma}(S_п)/S_с$ приведены в таблице 1, где представлены значения $S_{пов}$ для соответствующих значений $S_{пп}$.

Характер изменения структуры функции распределения пузырьков воздуха в ходе выпечки (появление новых мод) объясняется протеканием физико-химических процессов в сбивных тестовых заготовках в процессе выпечки. На начальном этапе происходит образование пузырьков воздуха, вызванное процессом взбивания теста под давлением, где происходит образование газовой фазы за счет механического разрыхления. В ходе этого процесса образуются пузырьки размера, не поддающегося оптической идентификации без использования соответствующего увеличения. Далее начинается рост их объема, вызванный процессом фазового перехода «вода – пар» и соответствующего повышения давления внутри образованных ранее пор. Как видно из рисунка 4d, распределение имеет одну моду. Это объясняется сохраняющейся на начальном этапе прогрева изоляцией пор друг от друга. Дальнейшее повышение давления, вызванное доминированием процессов испарения над процессами конденсации на разделяющих поры стенках, приводит к их частичному разрыву, слиянию и образованию пузырьков большего размера. Поскольку скорость этого процесса выше динамики изменения давления, то это приводит к появлению новой моды на распределении, соответствующей пузырькам бóльшего размера (рис. 4e). Параллельно с этим процессом происходит формирование проницаемой пористой матрицы и развитие процессов массопереноса паровой фазы за пределы заготовки под действием разницы парциальных давлений паров воды внутри пор и за пределами тестовой заготовки. При достижении определенной доли пузырьков бóльшего размера часть их сливается, формируя пузырьки, отличающиеся по размеру от исходных. Это приводит к выделению в распределении еще одной моды (рис. 4f). Затем процессы слияния прекращаются, т. к. происходит формирование прочной пористой матрицы из-за процессов денатурации белков и клейстеризации крахмала.

Для длительности этапа СВЧ-нагрева 60 с средняя площадь пузырька составила 1,95 мм$^2$. Аппроксимирующая функция имеет один экстремум.

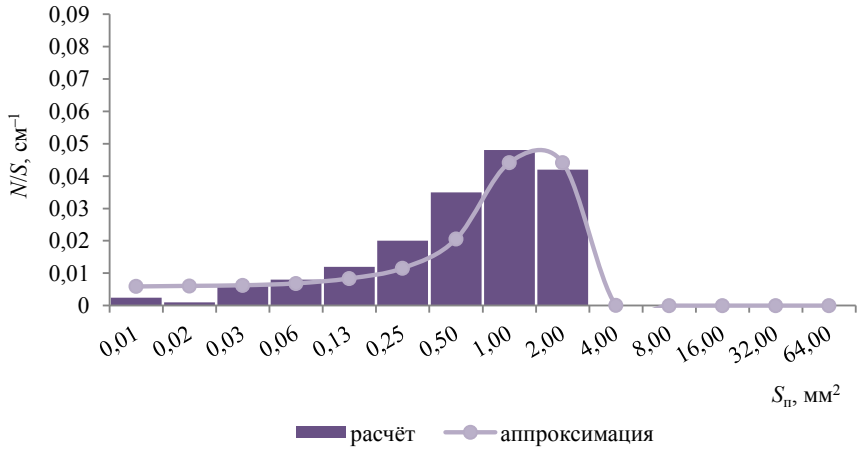
Для длительности этапа СВЧ-нагрева 90 с оказалась эффективной аппроксимация взвешенной суммой двух аппроксимирующих функций. На рисунке 5b приведены как две отдельные аппроксимирующие каждую моду функции (тонкие линии), так и их суперпозиция (толстая линия), которая по форме близка к полученной экспериментально функции распределения. Выявлено, что при длительности этапа СВЧ-нагрева 90 с формируются два типа пузырьков: пузырьки малой площади 2,02 мм$^2$ и пузырьки большой площади 27,58 мм$^2$.

При длительности этапа СВЧ-нагрева 120 с образуются еще три типа пузырьков (рис. 5c): малой (2,14 мм$^2$), средней (17,54 мм$^2$) и большой (90,50 мм$^2$) площадей. В данном случае проведена аппроксимация двух мод с меньшей площадью пузырьков, а для последней моды было недостаточно данных для аппроксимации (одна точка функции при минимальном количестве – три точки). Поэтому оценка положения и высоты пика производилась в приближении функции прямоугольной формы.

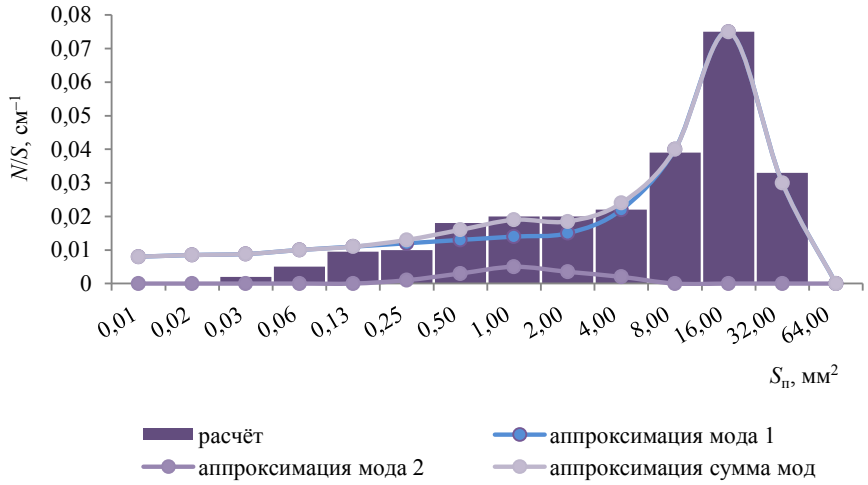
Влияние длительности этапа СВЧ-нагрева на типы пузырьков и их площадь можно проиллюстрировать диаграммой, представленной на рисунке 6.

Независимо от длительности этапа СВЧ-нагрева, образуются пузырьки площадью около 2 мм$^2$. Их вклад в пористость наибольший ($S_{пм}/S_с$ = 0,06) при $t_{свч}$ = 60 с, но снижается ($S_{пм}/S_с$ = 0,012 и 0,031) при большей длительности $t_{свч}$. При длительности 90–120 с формируется второй тип пузырьков площадью 15–30 мм$^2$. Его вклад в общую пористость также снижается с увеличением длительности $t_{свч}$. При длительности 120 с, помимо первых двух типов, формируется третий с площадью 100 мм$^2$. Таким образом, с увеличением длительности этапа СВЧ-нагрева увеличивается не только количество пузырьков, но и количество типов пузырьков (малые – малые, средние – малые, средние и большие).

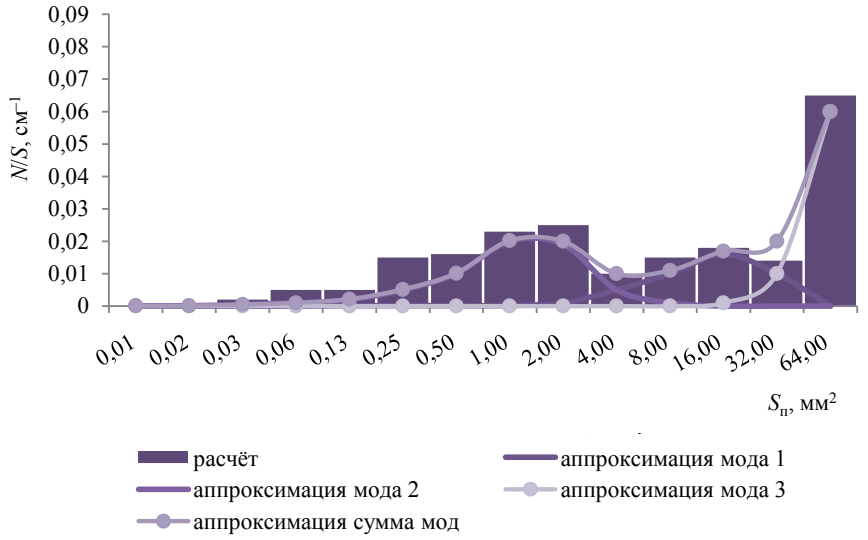
Изучено влияние продолжительности и интенсивности СВЧ-нагрева сбивных тестовых заготовок на формирование равномерной тонкодисперсной пористой структуры мякиша сбивного бездрожжевого хлеба из муки цельносмолотого зерна пшеницы. Определены статистическо-геометрические характеристики воздушных пузырьков мякиша хлеба. Учитывая ограничение на количество пузырьков второго и третьего типов, максимум длительности этапа СВЧ-выпечки должен составлять




a




b




c

Рисунок 5. Результаты аппроксимации функции $S_{п\Sigma}/S(S_п)$ одной или сдвоенной гауссовой функцией для разной длительности этапа СВЧ-нагрева: a – 60 с; b – 90 с; c – 120 с

Figure 5. Approximating function $S_{п\Sigma}/S(S_п)$ by one or double Gaussian function for different microwave heating time: a – 60 s; b – 90 s; c – 120 s

Таблица 1. Результаты аппроксимации пиков функции распределения площадей пузырьков

Table 1. Approximation of the peaks of the bubble area distribution function

| $t_{свч}$, с | Номер пика | $S_{пп}$, мм$^2$ | $\sigma$, мм$^2$ | $S_{пм}/S_с$ |
|---|---|---|---|---|
| 60 | 1 | 1,62 | 0,78 | 0,048 |
| 90 | 1 | 2,10 | 0,62 | 0,016 |
| | 2 | 26,80 | 8,50 | 0,076 |
| 120 | 1 | 2,40 | 0,65 | 0,022 |
| | 2 | 21,30 | 6,20 | 0,027 |
| | 3 | 84,18 | 0,12 | 0,062 |

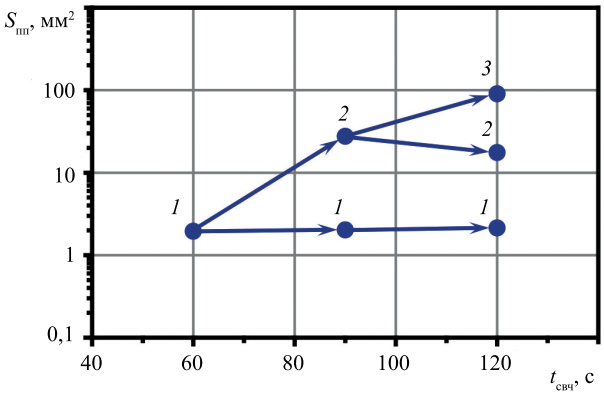



Рисунок 6. Влияние длительности этапа СВЧ-нагрева ($t_{свч}$) на количество типов пузырьков (1, 2, 3) и характерную площадь пузырьков каждого типа $S_{пп}$

Figure 6. Effect of microwave heating time ($t_{свч}$) on the number of bubble types (1, 2, 3) and bubble area for each type ($S_{пп}$)

около 60 с при удельной мощности нагрева 2,9 Вт/г. При такой длительности предварительного воздействия СВЧ-нагрева на сбивные тестовые заготовки формируется высокая пористость мякиша хлеба (63–65 %) с пузырьками первого типа малой площади поперечного сечения порядка около 2 мм$^2$. Пузырьки второго и третьего типов с площадями 15–30 и 100 мм$^2$ формируют неблагоприятные пустоты и крупнопористую структуру в мякише хлеба.

Учитывая ограничение на количество пузырьков второго и третьего типов, максимум длительности этапа СВЧ-нагрева составляет около 75–80 с. Под воздействием интенсивного СВЧ-подвода тепла в течение 75–80 с в центре мякиша достигается температура 65 ± 1 °С. В результате формируется однородная мелкопористая пенная структура мякиша. При дальнейшем интенсивном СВЧ-нагреве в течение 120 с температура в центре мякиша достигается 98 ± 1 °С. Происходит разрушение мелкопористой и формирование грубодисперсной структуры мякиша хлеба. Для сохранения мелкопористой однородной структуры мякиша

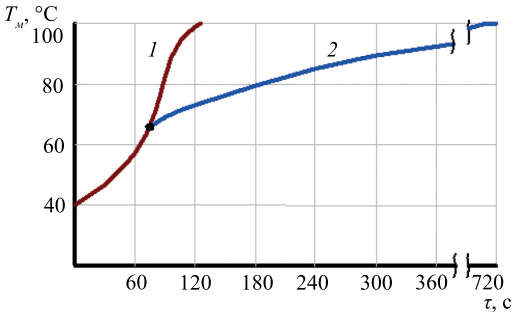



Рисунок 7. Зависимость температуры в центре мякиша от продолжительности нагрева: 1 – СВЧ; 2 – СВЧ-конвективный

Figure 7. Effect of heating time on crumb center temperature: 1 – microwave; 2 – microwave-convective

хлеба при выпечке была исследована возможность применения комбинированного СВЧ-конвективного нагрева тестовых заготовок и определение его рациональных режимов. Осуществляли предварительный СВЧ-нагрев тестовых заготовок до достижения температуры в центре мякиша 65 ± 1 °С. Затем продолжали конвективный нагрев при температуре в рабочей камере печи 260 °С в течение 720 с до достижения температуры в центре мякиша хлеба 98 ± 1 °С (рис. 7).

Установлено, что комбинированный СВЧ-конвективный способ нагрева тестовых заготовок позволяет сохранить мелкопористую однородную структуру мякиша хлеба. Это достигается из-за того, что при температуре 65 ± 1 °С в центре мякиша тестовых заготовок происходит полная денатурация, клейстеризация крахмала и фиксация устойчивой мелкопористой структуры мякиша тестовых заготовок из-за повышения прочности белковых пенных пленок воздушных пузырьков и упрочнения межпузырькового пространства при клейстеризации крахмала, а также при переводе интенсивного СВЧ-нагрева тестовых заготовок на менее интенсивный конвективный нагрев. Сохраняется мелкопористая однородная структура мякиша и формируется тонкостенная корочка хлеба.

**Выводы**

Определена рациональная продолжительность предварительного СВЧ-нагрева сбивных тестовых заготовок (70–80 с) и окончательного конвективного нагрева при выпечке хлеба (до 14 мин). Использование предварительного СВЧ-нагрева с формированием мелкопористой однородной структуры мякиша сбивных тестовых заготовок и последующим их допеканием конвективным способом до образования тонкостенной корочки хлеба позволяет сократить процесс выпечки на 26 мин:

с 20–40 (при конвективном способе выпечки хлеба по известному способу) до 14 мин (по разработанному способу получения сбивного бездрожжевого хлеба).

Представленный подход вместе с методикой оптической оценки пузырьков воздуха позволит разработать алгоритм оптимального управления процессом комбинированной выпечки хлеба. Разработанная технология сбивного бездрожжевого хлеба является высокоперспективной и рекомендуется для внедрения в гражданское и войсковое хлебопечение.

**Критерии авторства**

Г. О. Магомедов – разработал концепцию исследования, осуществлял руководство и контроль над проведением научного эксперимента и проводил консультации в ходе эксперимента. А. А. Хвостов – предложил методику проведения эксперимента, обработал экспериментальные данные, выполнил расчеты и коррекцию рукописи до ее подачи в редакцию. А. А. Журавлев – провел обзор литературных источников по исследуемой проблеме, обработал экспериментальные данные, выполнил расчеты и коррекцию рукописи до ее подачи в редакцию. М. Г. Магомедов – провел эксперимент, обработал экспериментальные данные и организовал производственные испытания А. С. Таратухин – провел эксперимент и обработал экспериментальные данные. И. В. Плотникова – провела обзор литературных источников по исследуемой проблеме и корректировала рукопись до ее подачи в редакцию.

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарность**

Авторы выражают благодарность руководству АО «Хлебозавод № 7» (Воронеж) за предоставленную возможность проведения научного эксперимента в межрегиональном научно-исследовательском центре инновационных технологий хлебопечения.

**Contribution**

G.O. Magomedov developed the research concept, supervised the experiment, and provided consultations. A.A. Khvostov developed the methodology, processed the data, performed calculations, and proofread the manuscript. A.A. Zhuravlev wrote the review, processed thedata, performed calculations, and corrected proofread the manuscript. M.G. Magomedov conducted the experiment, processed the data, and organized production tests. A.S. Taratukhin conducted the experiment and processed thedata. I.V. Plotnikova wrote the review and proofread the manuscript.

All authors equally participated in the research and are responsible for any potential cases ofplagiarism.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Acknowledgements**

The authors express their gratitude to the management of J-SC Khlebozavod No. 7 (Voronezh) for the opportunity to conduct the experiment at the Interregional Research Center for Innovative Baking Technologies.

**References/Список литературы**

1. Rudnev SD, Shevchenko TV, Ustinova YuV, Kryuk RV, Ivanov VV, Chistyakov AM. Technology and theory of mechanically activated water in bakery industry. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):768–778. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-768-778

2. Alekhina NN, Ponomareva EI, Zharkova IM, Grebenshchikov AV. Assessment of functional properties and safety indicators of amaranth flour grain bread. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):323–332. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-323-332

3. Smertina ES, Fedyanina LN, Lyakh VA. Hepatoprotective effect of breads with extracts of plants growing in the Far East. Foods and Raw Materials. 2020;8(2):232–240. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-232-240

4. Gabdukaeva LZ, Sorokina ES. Modern market of functional bakery products. Bulletin of the Technological University. 2017;20(1):151–154. (In Russ.). [Габдукаева Л. З., Сорокина Е. С. Характеристика современного рынка хлебобулочных изделий для функционального питания // Вестник технологического университета. 2017. Т. 20. № 1. С. 151–154.].

5. Romanchikov SA. Technology of bread using electric kleb-baiking KHPE-IUZ furnace with ultrasound in pulse mode. Food Industry. 2019;(2):44–48. (In Russ.). [Романчиков С. А. Технология изготовления хлеба с использованием электрической хлебопекарной печи ХПЭ-ИУЗ с ультразвуком в импульсном режиме // Пищевая промышленность. 2019. № 2. С. 44–48.].

6. Garg A, Malafronte L, Windhab EJ. Baking kinetics of laminated dough using convective and microwave heating. Food and Bioproducts Processing. 2019;115:59–67. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.02.007

7. Magomedov GO, Plotnikova IV, Magomedov MG, Cheshinsky VL. Sanitary-technological events of bread production without yeast. Hygiene and Sanitation. 2019;98(7):777–782. (In Russ.). https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-7-777-782

8. Kalla AM, Devaraju R. Microwave energy and its application in food industry: A review. Asian Journal of Dairy and Food Research. 2017;36(1):37–44. https://doi.org/10.18805/ajdfr.v0iOF.7303

9. Kumar C, Karim MA. Microwave-convective drying of food materials: A critical review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2017;59(3):379–394. https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1373269

10. Chizoba Ekezie F-G, Sun D-W, Zhang H, Cheng J-H. Microwave-assisted food processing technologies for enhancing product quality and process efficiency: A review of recent developments. Trends in Food Science and Technology. 2017;67:58–69. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.014

11. Therdthai N, Tanvarakom T, Ritthiruangdej P, Zhou W. Effect of microwave assisted baking. Journal of Food Quality. 2016;39(4):245–254. https://doi.org/10.1111/jfq.12207

12. Kulishov BA, Novoselov AG, Ivaschenko SYu, Gusarov NE. Application of electrocontact heating in bakery: Review. Polzunovskiy Vestnik. 2019;(1):106–113. (In Russ.). [Применение электроконтактного нагрева в хлебопечении: обзор / Б. А. Кулишов [и др.] // Ползуновский вестник. 2019. № 1. С. 106–113.].

13. Alexeev GV. Investigation of energy and resource saving opportunities for baking bakery products. Scientific News. 2018;(11):20–25. (In Russ.). [Алексеев Г. В. Исследование возможностей повышения энерго- и ресурсосбережения при выпечке хлебо-булочных изделий // Научные известия. 2018. № 11. С. 20–25.].

14. Kutlu N, Pandiselvam R, Saka I, Kamiloglu A, Sahni P, Kothakota A. Impact of different microwave treatments on food texture. Journal of Texture Stud. 2021. https://doi.org/10.1111/jtxs.12635

15. Ushakova NF, Kopysova TS, Kasatkin VV, Kudryashova AG. Experience of microwave heating application for food production. Food Industry. 2013;(10):30–32. (In Russ.). [Опыт применения СВЧ-энергии при производстве пищевых продуктов / Н. Ф. Ушакова [и др.] // Пищевая промышленность. 2013. № 10. С. 30–32.].

16. Rushchits AA, Shcherbakova EI. Use of microwave heating in food industry and public catering. Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology. 2014;2(1):9–15. (In Russ.). [Рущиц А. А., Щербакова Е. И. Применение СВЧ-нагрева в пищевой промышленности и общественном питании // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2014. Т. 2. № 1. С. 9–14.].

17. Bou-Orm R, Jury V, Boillereaux L, Le-Bail A. Microwave baking of bread; a review on the impact of formulation and process on bread quality. Food Reviews International. 2021. https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1931299

18. Wang M, Sun M, Zhang Y, Chen Y, Wu Y, Ouyang J. Effect of microwave irradiation-retrogradation treatment on the digestive and physicochemical properties of starches with different crystallinity. Food Chemistry. 2019;298. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125015

19. Houšová J, Hoke K. Temperature profiles in dough products during microwave heating with susceptors. Czech Journal of Food Sciences. 2018;20(4):151–160. https://doi.org/10.17221/3526-CJFS

20. Bhatt K, Vaidya D, Kaushal M, Gupta A, Soni P, Arya P, *et al.* Microwaves and radiowaves: In food processing and preservation. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2020;9(9):118–131. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.909.015

21. Guzik P, Kulawik P, Zając M, Migdał W. Microwave applications in the food industry: an overview of recent developments. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2021. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1922871

22. Thuengtung S, Ogawa Y. Comparative study of conventional steam cooking and microwave cooking on cooked pigmented rice texture and their phenolic antioxidant. Food Science and Nutrition. 2020;8(2):965–972. https://doi.org/10.1002/fsn3.1377

23. Shapiro L, Stokman D. Computer vision. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy; 2013. 752 p. (In Russ.). [Шапиро Л., Стокман Д. Компьютерное зрение. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. 752 с.].

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2376
https://elibrary.ru/ZSTRHH

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Влияние концентратов сывороточных белков на технологические и органолептические показатели качества мороженого

**И. А. Гурский*, А. А. Творогова**

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

*Поступила в редакцию: 03.02.2022*
*Принята после рецензирования: 22.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

**И. А. Гурский: iixrug@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-8177-3472*
*А. А. Творогова: https://orcid.org/0000-0001-7293-9162*

*© И. А. Гурский, А. А. Творогова, 2022*

**Аннотация.**
Актуальность исследования обусловлена спросом на продукты, обогащенные белком, и необходимостью полного использования на пищевые цели составных частей молока. Цель работы – исследование технологически и органолептически значимых показателей качества мороженого, для обогащения которого используют концентраты сывороточных белков дополнительно к сухому обезжиренному молочному остатку, а также установление их технологической нормы.
Объектами исследования являлись образцы мороженого с массовой долей жира 8 % и сухого обезжиренного молочного остатка (10 %) с концентратом сывороточного белка 1, 2, 3, 4 и 5 %. Методы ротационной вискозиметрии использовались для контроля динамической вязкости, микроструктурные методы – для изучения дисперсности структурных элементов, термостатические – для установления термоустойчивости, стандартные – для определения титруемой кислотности.
Использование концентратов сывороточных белков в количестве 1–5 % в мороженом приводит к повышению титруемой кислотности (в 1,1–1,9 раз) и динамической вязкости смесей (в 1,2–2,9 раз). Скорость таяния мороженого сократилась до 3 раз через 60 мин выдерживания. Повысилась дисперсность воздушных пузырьков (при внесении концентрата сывороточных белков 1–3 %) и кристаллов льда (количественная доля пузырьков воздуха до 50 мкм снижалась по мере увеличения доли концентрата сывороточных белков). Твердость снизилась в 1,4–8,3 раза. По мере увеличения массовой доли концентратов сывороточных белков в мороженом происходит улучшение показателей его текстуры и усиление сливочного вкуса. Установлена корреляция между данными сенсорной оценки и технологически и органолептически значимыми показателями качества мороженого.
По совокупности технологических и органолептически значимых показателей качества массовая доля концентратов сывороточных белков для обогащения сливочного мороженого должна составлять не более 3 %. Результаты исследования могут быть использованы при разработке промышленных технологий обогащенного белком мороженого.

**Ключевые слова.** Мороженое, кислотность, вязкость, твердость, кристаллы льда, пузырьки воздуха

**Финансирование.** Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по Государственному заданию ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

**Для цитирования:** Гурский И. А., Творогова А. А. Влияние концентратов сывороточных белков на технологические и органолептические показатели качества мороженого // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 439–448. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2376

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2376
https://elibrary.ru/ZSTRHH

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# The Effect of Whey Protein Concentrates on Technological and Sensory Quality Indicators of Ice Cream

**Igor A. Gurskiy*, Antonina A. Tvorogova**

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

*Received: 03.02.2022*
*Revised: 22.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

**Igor A. Gurskiy: iixrug@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-8177-3472*
*Antonina A. Tvorogova: https://orcid.org/0000-0001-7293-9162*

*© I.A. Gurskiy, A.A. Tvorogova, 2022*

**Abstract.**
The demand for protein-fortified foods is increasing, and so is the necessity of the complete utilization of milk constituents in the food industry. The research objective was to study various technological and sensory indicators of ice cream fortified with whey protein concentrate.
The study featured ice cream samples with 8% of mass fraction of fat and 10% of nonfat milk solids with whey protein concentrations of 1–5 %. The dynamic viscosity was studied by rotational viscosimetry, dispersion – by microstructural methods, thermal stability – by thermostatic methods, and titratable acidity – by standard methods.
Whey protein concentrate in amount of 1–5 % increased the titratable acidity by 1.05–1.90 times and the dynamic viscosity – by 1.16–2.90 times. With an extra addition of 4% whey protein concentrate, the viscosity of the mix exceeded the technologically permissible values. The consistency coefficient increased by 19.4 times, and the flow index decreased by 4.8 times. During freezing, the mix revealed the high capability to air saturation with mass fraction of melt whey protein concentrate of 1 and 2%. Thermal stability also increased: mass fraction of melt after 60 min of retention decreased by 3 times. After adding 1–3% whey protein concentrate, the dispersion of air bubbles and ice crystals improved. It was determined in accordance with the density of distribution by their sizes. The hardness of ice cream decreased 1.4–8.3 times as whey protein concentrate increased. A greater mass fraction of whey protein enhanced the creamy taste and improved the texture.
Based on the main technological and sensory quality indicators, the mass fraction of whey protein concentrates should be under 3%. The results may be used in protein-fortified ice cream production.

**Keywords.** Ice cream, acidity, viscosity, hardness, air cells, ice crystals

**Funding.** The research was part the state task of the V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

**For citation:** Gurskiy IA, Tvorogova AA. The Effect of Whey Protein Concentrates on Technological and Sensory Quality Indicators of Ice Cream. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):439–448. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2376

## Введение

Одной из современных тенденций в пищевой промышленности является производство продуктов функциональной направленности, в том числе обогащенной белками. Из молочных белков для обогащения мороженого подходят концентраты сывороточных белков. Они обеспечивают увеличение биологической ценности белков мороженого при их внесении дополнительно к белкам сухого обезжиренного молочного остатка. Высокая биологическая ценность концентратов сывороточных белков – побочного продукта производства сыра – является основанием для производства такой обогащенной продукции, как хлебобулочные изделия, конфеты, напитки и т. д. [1–5].

Концентраты сывороточных белков могут влиять на показатели качества мороженого. Белки повышают вязкость за счет влагоудерживающих свойств и влияют на поверхностное натяжение. Это может привести к спаду или росту пенообразующих способностей смесей, а также к снижению эмульгирующих свойств [6–8]. В работе [9] изучалась частичная замена сухого обезжиренного молочного остатка на концентраты сывороточных белков в количестве 1–4 %. Авторы статьи установили, что при увеличении массовой доли концентратов сывороточных белков повышается кислотность и вязкость смеси и взбитость мороженого за счет увеличения доли белка и его высоких пенообразующих свойств. Авторами работы [10] было установлено снижение взбитости и

увеличение твердости мороженого при использовании концентратов сывороточных белков с долей белка 65 и 80 %.

Мороженое содержит незамерзающую концентрированную плазму и нескольких фаз: кристаллы льда, пузырьки воздуха и суспендированные жировые частицы [11].

Структурными элементами, влияющими на показатели качества готового продукта, включая сенсорные свойства, можно считать пузырьки воздуха и кристаллы льда [12, 13]. Размер кристаллов льда зависит от состава продукта и условий его производства. Его необходимо контролировать и минимизировать, чтобы создать продукт высокого качества [14].

Структурные элементы определяют термоустойчивость – важный технологический и потребительский показатель мороженого. Пузырьки воздуха позволяют снизить скорость переноса теплоты в мороженое из более теплой среды, играя роль изолятора, а кристаллы льда замедляют нагрев и плавление, хотя являются проводниками теплоты [15]. Это объясняет термоустойчивость образцов с высокой взбитостью, которая оказывает влияние на сенсорные характеристики, а именно на легкость и гладкость текстуры [16]. Взбитость – показатель, характеризующий способность смеси к насыщению воздухом и зависящий от компонентов и их пенообразующих свойств, времени фризерования и прочности структуры, определяемой по предельному напряжению сдвига [17, 18].

Применение концентратов сывороточных белков оказывает влияние на технологически значимые показатели качества мороженого, которые являются и органолептически значимыми, определяющими консистенцию, структуру и сенсорное ощущение, возникающее при разжевывании продукта – текстуру.

Целью данной работы, учитывая недостаточное число исследований и их противоречивые результаты, являлось исследование технологически и органолептически значимых показателей качества мороженого при использовании концентратов сывороточных белков дополнительно к сухому обезжиренному молочному остатку, а также установление их технологической нормы.

**Объекты и методы исследования**

В данной работе объектами исследования являлись образцы мороженого с массовой долей жира 8 % и сухого обезжиренного молочного остатка 10 % с дополнительно введенными концентратами сывороточных белков в количестве 1, 2, 3, 4 и 5 %. Данные образцы сравнивали с контролем, не содержащим концентраты сывороточных белков. Характеристика образцов представлена в таблице 1.

***Производство мороженого.*** Для изготовления мороженого использовали: молоко сухое обезжиренное по ГОСТ 33629-2015, масло сливочное с массовой долей жира 72,5 % по ГОСТ 32261-2013, сахар белый по ГОСТ 33222-2015, концентраты сывороточных белков Mlekovita (Ingredia, Франция) и эффективный комплексный стабилизатор-эмульгатор (моно- и диглицериды жирных кислот, камедь рожкового дерева, гуаровая камедь, каррагинан).

Процесс производства мороженого включал следующие стадии: смешивание сырьевых компонентов и их подогрев до 40–45 °С, фильтрование смеси, ее пастеризация при температуре 78 °С с выдержкой 10 мин, гомогенизация смеси при температуре 75 °С и давлении на первой ступени 12,0–14,0 МПа, на второй ступени – 3,0–5,0 МПа, охлаждение смеси до 4 °С, созревание при 4 °С 24 ч, ее фризерование до температуры мороженого –5 °С, фасование мороженого в тару из полистирола объемом 150 мл, его закаливание при температуре –30 °С 3 дня и хранение при температуре –18 °С [19].

Исследование динамической вязкости смесей для мороженого проводили с использованием реовискозиметра DV – II + Pro (BrookField, США) с программным обеспечением Rheocalc V3 1-1 (BrookField, США) при скорости вращения шпинделя 15 об/мин [20]. По модели Гершеля–Балки (1) определяли коэффициент консистенции и индекс потока:

$$\tau = \tau^{\circ} + k \times D^{n} \qquad (1)$$

Таблица 1. Химический состав исследуемых образцов мороженого
Table 1. Chemical composition of ice cream

| Показатели, %, не менее | Образцы | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Контроль | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 |
| Массовая доля сухих веществ | 32,55 | 33,55 | 34,55 | 35,55 | 36,55 | 37,55 |
| Молочный жир | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 |
| Сухой обезжиренный молочный остаток | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Концентраты сывороточных белков | – | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| Сахароза | 14,0 | 14,0 | 14,0 | 14,0 | 14,0 | 14,0 |
| Стабилизатор-эмульгатор | 0,55 | 0,55 | 0,55 | 0,55 | 0,55 | 0,55 |
| Общая массовая доля белка | 3,4 | 4,4 | 5,4 | 6,4 | 7,4 | 8,4 |

где $\tau$ – напряжение сдвига, Па; $D$ – скорость сдвига, $с^{-1}$; $k$ – коэффициент консистенции (индекс текучести); $n$ – индекс потока; $\tau°$ – предел текучести, Па.

Анализ текстуры образцов мороженого проводили на текстурометре LFRA Texture Analyzer (Brookfield, США) с программным обеспечением TexturePro Lite v1.1 Bld 4. Для исследования использовали заранее подобранный датчик TA28. Образцы мороженого хранились при температуре –18 °С. Их помещали на предметный столик прибора, после чего запускали программу. В соответствии с ней датчик погружался на глубину 5 мм со скоростью 0,5 мм/с и силой 10 г. Для каждого образца проводилось не менее 9 измерений.

Взбитость, %, определяли на основе массы смеси и мороженого одного и того же объема, согласно [19], по формуле (2):

$$\text{Взбитость} = \frac{m_{\text{см}} - m_{\text{м}}}{m_{\text{м}}} \times 100 \qquad (2)$$

где $m_{\text{см}}$ – масса смеси, г; $m_{\text{м}}$ – масса мороженого, г; 100 – коэффициент пересчета отношения в проценты, %.

Титруемую кислотность, выраженную в градусах Тернера (°Т), определяли титрованием с использованием раствора NaOH 0,1 н и индикатора фенолфталеина по ГОСТ 3624-92.

Определение термоустойчивости образцов основано на определении массовой доли плава, образовавшегося в процессе термостатирования образцов мороженого при 20 °С в течение 2 ч. Долю плава ($M_n$) рассчитывали по формуле (3):

$$M_{\text{п}} = \frac{m_{\text{пл}} - m_{\text{ч}}}{m_{\text{м}}} \times 100 \qquad (3)$$

где $m_{\text{пл}}$ – масса плава мороженого, г; $m_{\text{ч}}$ – масса пустой чашки, г; $m_{\text{м}}$ – масса мороженого, г.

Микрофотографии воздушной фазы и кристаллов льда получали с помощью микроскопа CX41RF (OLYMPUS, Япония) с термостоликом PE 120 (Linkam Instruments, Великобритания). Их обрабатывали в ImageScope M (CMA, Россия) [20]. Для полученных данных по дисперсности структурных элементов получали графическую зависимость плотности распределения структурных элементов по размерам в соответствии с уравнением (4):

$$Y = (b \times t)^a \times e^{-b \times t} \qquad (4)$$

Органолептические показатели определяла группа из 5 дегустаторов. Оценивали вкус и аромат (максимальный балл 6,0), структуру и консистенцию (максимальный балл 3,0), цвет и внешний вид (максимальный балл 1,0).

Статистическую обработку проводили с использованием программы Past 4.03. Использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA) (= 95 %) с применением теста Tukey для попарного сравнения образцов. Графики распределения строили в программе Mathcad 14.

**Результаты и их обсуждение**

К органолептическим показателям мороженого относят «вкус и аромат», «структуру и консистенцию», «цвет и внешний вид». Поэтому исследовали влияние количества концентратов сывороточных белков на кислотность, реологические показатели, способность смеси к насыщению воздухом (взбитость), дисперсность структурных элементов и органолептику.

Исследование влияния количества концентратов сывороточных белков на титруемую кислотность позволило установить изменения ($P < 0{,}05$) данного показателя между образцами. Внесение белков, начиная с 2 %, повышает титруемую кислотность смеси до уровня, превышающего допустимый нормативными документами. Внесение 5 % белка привело к повышению титруемой кислотности, по сравнению с контролем, в 1,9 раза (рис. 1), что согласуется с рядом зарубежных исследований. Рост титруемой кислотности образцов с концентратами сывороточных белков связан с высоким содержанием белков и органических кислот. Однако достигаемая в образцах мороженого с концентратами сывороточных белков кислотность не является критической, не приводит к органолептическому ощущению кислоты в продукте и не вызывает кислотной коагуляции продукта при тепловой обработке.

Установлено влияние концентратов сывороточных белков на реологические свойства смесей для мороженого (табл. 2). Учитывая, что при их внесении в смесь для мороженого с традиционной массовой долей сухого обезжиренного молочного остатка (10 %) увеличилась массовая доля белков, произошло повышение динамической вязкости. Значение этого показателя, как следует из базы данных ВНИХИ, при градиенте сдвига на срез 0,25 $с^{-1}$ не должно превышать 1100 мПа·с. Установлено увеличение вязкости при внесении 4 % концентратов сывороточных белков, при использовании 5 % – в 3,4 раза. При анализе влияния количества концентратов сывороточных белков на коэффициент консистенции отмечена аналогичная тенденция. В образце № 5 определить коэффициент консистенции и индекса потока не удалось из-за выраженного процесса структурирования. Внесение 4 % концентратов сывороточных белков привело к увеличению коэффициента консистенции в 19,4 раза и снижению индекса потока в 4,8 раза. В процессе созревания смеси произошло увеличение вязкости в контрольном образце и в образцах № 1–3 в среднем на 16 %. В образцах № 4 и 5 данный показатель значительно не изменился. Полученные результаты были сопоставимы с приведенными в работе [21].

В процессе фризерования смеси установлена ее высокая способность к насыщению воздухом при массовой доле концентратов сывороточных белков

Таблица 2. Реологические свойства образцов смесей
Table 2. Rheological properties of mixes

| Показатель | Образцы | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Контроль | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 |
| До созревания | | | | | | |
| Динамическая вязкость, мПа·с | 559 | 646 | 680 | 928 | 1603 | 1893 |
| Коэффициент консистенции | 901 | 853 | 955 | 1321 | 17440 | – |
| Индекс потока | 0,63 | 0,70 | 0,69 | 0,68 | 0,13 | – |
| После созревания | | | | | | |
| Динамическая вязкость, мПа·с | 637 | 750 | 845 | 1030 | 1693 | 1865 |
| Коэффициент консистенции | 970 | 1131 | 1222 | 1813 | 16419 | – |
| Индекс потока | 0,64 | 0,65 | 0,67 | 0,60 | 0,13 | – |

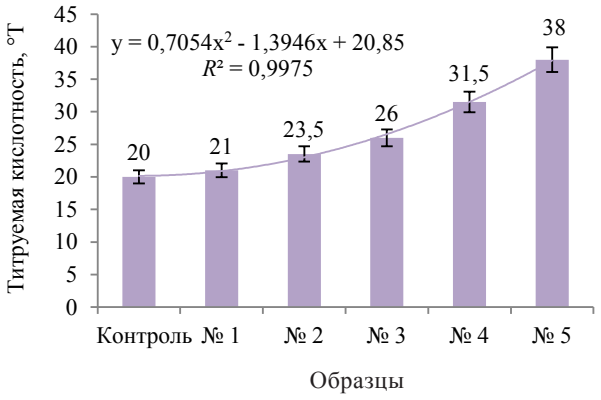



Рисунок 1. Показатели титруемой кислотности образцов мороженого

Figure 1. Indicators of titratable acidity in ice cream samples

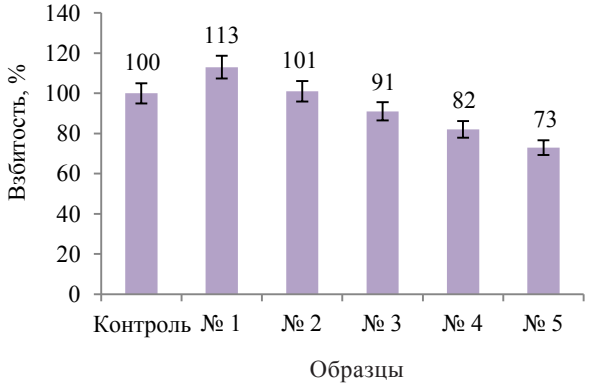



Рисунок 2. Показатели взбитости образцов мороженого

Figure 2. Overrun indicators of ice cream samples

1 и 2 %, определяемая по показателю «взбитость» при отсутствии принудительной подачи воздуха (рис. 2). Однако более высокая вязкость смеси в образцах № 3–5 вызвала снижение данной способности, в частности в образце № 5 на 27 %.

Во всех образцах с применением концентратов сывороточных белков установлена высокая дисперсность кристаллов льда. После закаливания опытные образцы отличались от контрольного ($P < 0,05$) по показателям «средний размер кристаллов» и их «количественная доля до 50 мкм». Доля кристаллов льда до 50 мкм и их средний размер, в зависимости от количества, в образцах с концентратом сывороточных белков не отличались ($P > 0,05$). Через 1 месяц хранения различия в дисперсности кристаллов льда между контрольным образцом и образцами с концентратом сывороточных белков увеличились (табл. 3, рис. 3). Высокая доля кристаллов льда размером до 50 мкм через 1 месяц хранения в образцах с наибольшим содержанием белка связана с его влагоудерживающей способностью, влияющей на их образование и число. Образцы, содержащие 1–3 % концентрата сывороточных белков, характеризовались схожими значениями среднего размера кристаллов льда ($P > 0,05$). Доля кристаллов до 50 мкм была практически одинаковой в образцах № 2–5. Микрофотографии кристаллов льда представлены на рисунке 4.

При оценке воздушной фазы была установлена ее высокая дисперсность во всех образцах мороженого с концентратами сывороточных белков (табл. 4, рис. 5). На стадии закаливания было установлено различие контрольного образца и образца № 1 ($P < 0,05$) по среднему размеру пузырьков воздуха. Количественная доля пузырьков воздуха до 50 мкм снижалась по мере увеличения доли концентрата сывороточных белков. Подобные изменения можно объяснить влиянием концентрата сывороточных белков на стабильность оболочек пузырьков воздуха при их формировании и хранении. Также увеличение вязкости могло привести к изначальному снижению количества пузырьков воздуха. Образцы № 2–5 по этому показателю значимых различий не имели ($P > 0,05$). Через 1 месяц хранения статистически значимые различия ($P < 0,05$) в дисперсности воздушной фазы в образцах с концентратом сывороточных белков были установлены в образце № 3 в сравнении с № 4 и 5. Сравнение остальных образцов

Таблица 3. Показатели дисперсности кристаллов льда образцов мороженого
Table 3. Indicators of dispersion of ice crystals in ice cream samples

| Параметр | Образцы | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Контроль | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 |
| После закаливания | | | | | | |
| Доля до 50 мкм, % | 88,5 | 95,6 | 93,0 | 95,5 | 96,8 | 95,1 |
| Средний диаметр кристаллов льда, мкм | 34,7 ± 1,4 | 30,2 ± 0,9 | 29,8 ± 1,2 | 28,4 ± 1,0 | 27,7 ± 0,8 | 29,1 ± 1,0 |
| Коэффициент «a» | 3,583 | 3,689 | 3,66 | 3,712 | 3,734 | 3,695 |
| Коэффициент «b» | 0,110 | 0,125 | 0,131 | 0,138 | 0,138 | 0,131 |
| $R^2$ | 0,942 | 0,927 | 0,983 | 0,975 | 0,957 | 0,972 |
| Через 1 месяц хранения | | | | | | |
| Доля до 50 мкм, % | 82,8 | 91,6 | 94,6 | 93,4 | 98,2 | 97,2 |
| Средний диаметр кристаллов льда, мкм | 36,0 ± 1,6 | 31,8 ± 1,7 | 30,3 ± 1,1 | 29,3 ± 1,2 | 22,8 ± 0,8 | 26,1 ± 0,9 |
| Коэффициент «a» | 3,515 | 3,620 | 3,689 | 3,692 | 3,858 | 3,767 |
| Коэффициент «b» | 0,106 | 0,122 | 0,129 | 0,134 | 0,173 | 0,148 |
| $R^2$ | 0,977 | 0,977 | 0,949 | 0,956 | 0,974 | 0,969 |

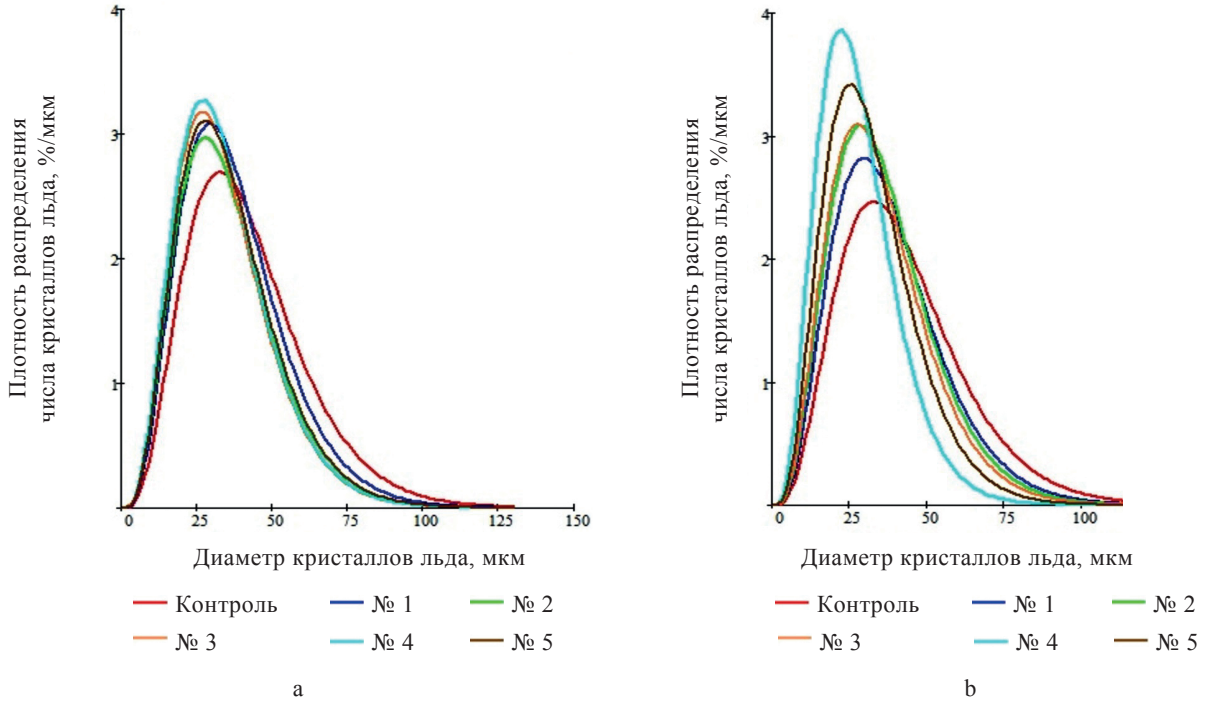



Рисунок 3. Распределение кристаллов льда: a – после закаливания; b – через 1 месяц хранения

Figure 3. Distribution of ice crystals: a – after hardening; b – after 1 month of storage

не выявило значимых различий ($P > 0,05$) по показателю «средний размер». При этом количественная доля пузырьков воздуха до 50 мкм в образцах № 1–3 оказалась выше, чем в остальных. Содержание 5 % концентрата сывороточных белков в мороженом привело к снижению доли пузырьков воздуха до 50 мкм до значения ниже, чем в контроле. Микрофотографии пузырьков воздуха представлены на рисунке 6.

Кроме состояния воздушной фазы (степени насыщения воздухом) и ее дисперсности важным показателем, характеризующим консистенцию мороженого, является твердость. Твердость – это технологически и органолептически значимый показатель, который влияет на товарные свойства порций при транспортировании и хранении, а также на текстуру продукта при потреблении. Анализ твердости позволил установить снижение показателя по мере

Таблица 4. Показатели воздушной фазы образцов мороженого

Table 4. Air phase parameters of ice cream samples

| Параметр | Образцы | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Контроль | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 |
| После закаливания | | | | | | |
| Доля до 50 мкм, % | 78,7 | 95,0 | 87,4 | 85,2 | 87,3 | 83,6 |
| Средний диаметр пузырьков воздуха, мкм | 34,5 ± 1,7 | 22,5 ± 1,0 | 29,0 ± 1,5 | 27,9 ± 1,7 | 27,1 ± 1,5 | 30,2 ± 2,0 |
| Коэффициент «a» | 3,490 | 3,717 | 3,545 | 3,544 | 3,555 | 3,517 |
| Коэффициент «b» | 0,120 | 0,175 | 0,134 | 0,155 | 0,151 | 0,142 |
| $R^2$ | 0,980 | 0,986 | 0,983 | 0,947 | 0,957 | 0,960 |
| Через 1 месяц хранения | | | | | | |
| Доля до 50 мкм, % | 75,3 | 80,0 | 82,1 | 86,3 | 76,9 | 71,5 |
| Средний диаметр пузырьков воздуха, мкм | 36,9 ± 2,3 | 34,9 ± 2,3 | 32,6 ± 2,4 | 31,6 ± 2,3 | 36,3 ± 2,9 | 38,5 ± 2,6 |
| Коэффициент «a» | 3,438 | 3,349 | 3,522 | 3,585 | 3,507 | 3,418 |
| Коэффициент «b» | 0,110 | 0,103 | 0,131 | 0,139 | 0,134 | 0,121 |
| $R^2$ | 0,991 | 0,938 | 0,988 | 0,996 | 0,984 | 0,948 |

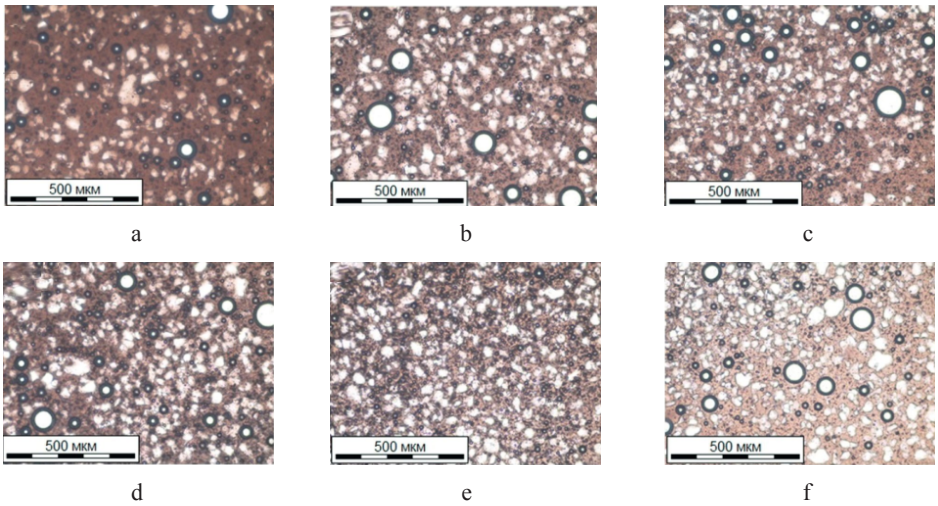



Рисунок 4. Микрофотографии кристаллов льда в образцах мороженого через 1 месяц хранения: a – контроль; b – образец № 1; c – образец № 2; d – образец № 3; e – образец № 4; f – образец № 5

Figure 4. Micrographs of ice crystals in ice cream samples after 1 month of storage: a – control; b – sample № 1; c – sample № 2; d – sample № 3; e – sample № 4; f – sample № 5

увеличения концентрата сывороточных белков. Были установлены значимые отличия образцов с концентратом сывороточных белков в сравнении с контролем. Отличия по этому показателю между образцами № 2 и 3, а также № 4 и 5 не имели значимых различий ($P > 0,05$). Снижение твердости можно объяснить более мелкими кристаллами льда, поскольку с увеличением массовой доли белка происходит увеличение числа контактов активных радикалов белка с молекулами воды. Это оказывает положительное влияние на нуклеацию и размеры кристаллов льда. В пользу этого свидетельствует факт снижения твердости в образцах с наименьшей взбитостью (наибольшей плотностью). В сравнении с контрольным образцом (взбитость 100 %) в образцах № 1 (взбитость 113 %) и 5 (взбитость 100 %) с 1 % концентратом сывороточных белков отличия в твердости достигли 1,4 и 8,3 раза соответственно. Значения твердости представлены на рисунке 7.

При исследовании термоустойчивости мороженого установлено, что по мере повышения массовой доли концентрата сывороточных белков этот показатель улучшается (рис. 8). Это связано с его влиянием на вязкость и взбитость, поскольку в мороженом массовая доля жира невысокая (8 %). Воздействие жира на термоустойчивость не так заметно, как в

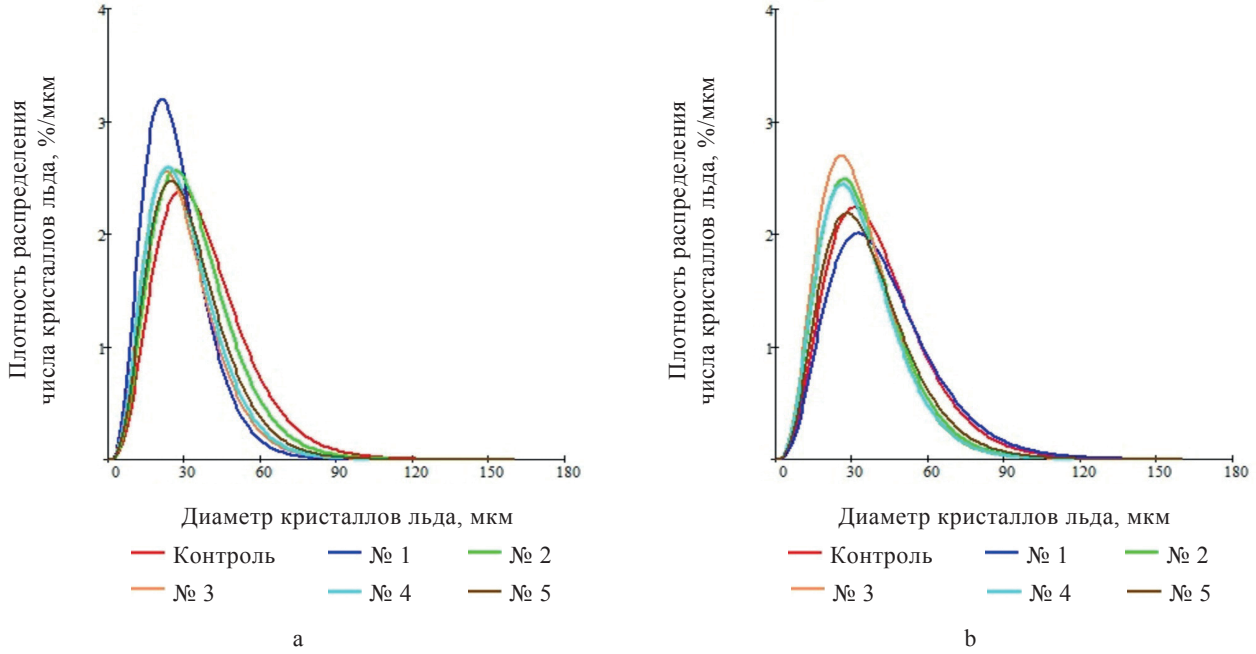



Рисунок 5. Распределение пузырьков воздуха: a – после закаливания; b – через 1 месяц хранения

Figure 5. Distribution of air bubbles: a – after hardening; b – after 1 month of storage

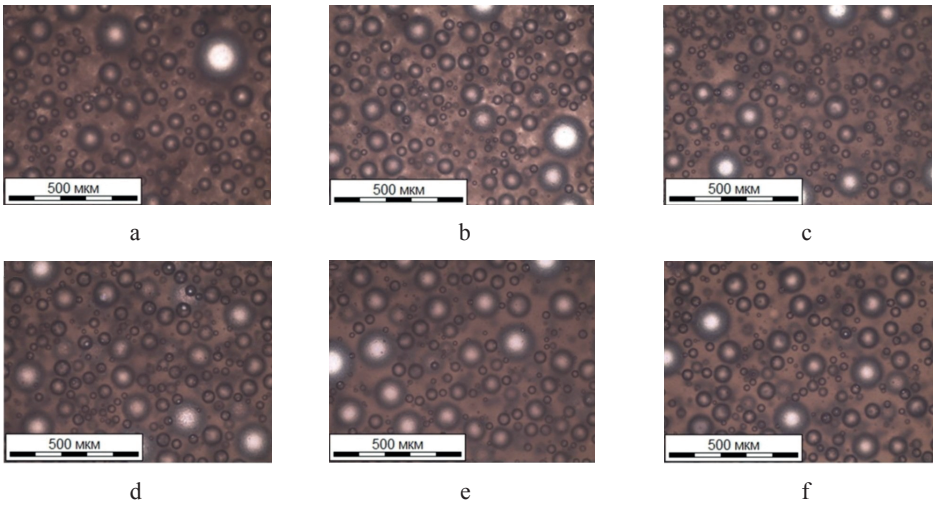



Рисунок 6. Микрофотографии состояния воздушной фазы в мороженом через 1 месяц хранения: a – контроль; b – образец № 1; c – образец № 2; d – образец № 3; e – образец № 4; f – образец № 5

Figure 6. Air phase of ice cream after 1 month of storage: a – control; b – sample № 1; c – sample № 2; d – sample № 3; e – sample № 4; f – sample № 5

продукте с массовой долей 10 % и более. В связи с этим более низкая термоустойчивость отмечена в образце с наибольшей взбитостью (№ 1).

Наиболее термоустойчивыми оказались образцы с концентратом сывороточных белков с наименьшей взбитостью и наибольшей вязкостью (№ 4 и 5).

При органолептической оценке обогащенного мороженого и контроля все образцы получили высокую оценку (табл. 5). Увеличение массовой доли концентрата сывороточных белков приводит к усилению сливочного вкуса, а также к улучшению текстурных показателей. Дегустаторы отмечали отсутствие ощутимых кристаллов льда во всех образцах мороженого. Отмечалось, что образцы с 1–3 % концентрата сывороточных белков быстро таят, что коррелирует с данными по термоустойчивости. Также

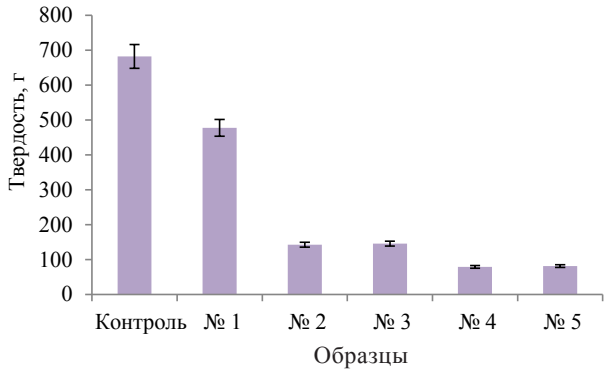



Рисунок 7. Твердость образцов мороженого

Figure 7. Hardness of ice cream samples

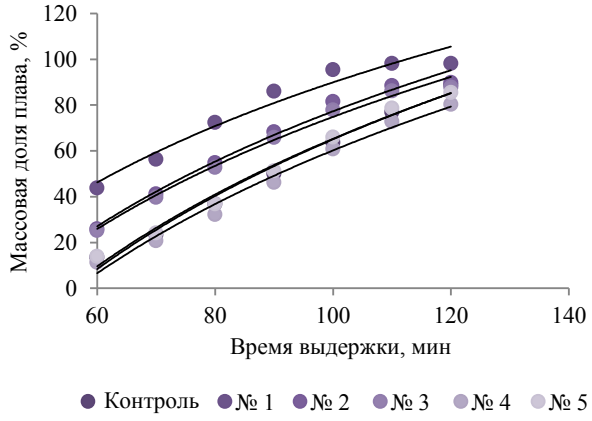



Рисунок 8. Влияние концентрата сывороточных белков на термоустойчивость мороженого

Figure 8. Effect of whey protein concentrates on the thermal stability of ice cream

Таблица 5. Органолептические характеристики образцов мороженого

Table 5. Sensory properties of ice cream samples

| Показатель | Образцы | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Контроль | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 |
| Вкус и аромат | 5,5 | 5,5 | 5,6 | 5,6 | 5,7 | 5,8 |
| Структура и консистенция | 2,4 | 2,6 | 2,7 | 2,7 | 2,8 | 2,8 |
| Цвет и внешний вид | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Итого | 8,9 | 9,1 | 9,3 | 9,3 | 9,5 | 9,6 |

была отмечена более плотная текстура в образцах, содержащих 3–5 % концентрата сывороточных белков.

Как следует из результатов проведенных исследований, органолептическая оценка мороженого коррелирует с его органолептически значимыми показателями качества. При увеличении массовой доли концентратов сывороточных белков титруемая кислотность повышается, но не приводит к сенсорному ощущению повышенной кислотности. Применение концентрата сывороточных белков способствует повышению вязкости и дисперсности воздушной фазы (при внесении 1–3 %) и кристаллов льда. При органолептической оценке получены наибольшие значения баллов по показателям «структура и консистенция», возрастающие по мере повышения массовой доли концентратов сывороточных белков в продукте.

Результаты проведенных и ранее опубликованных исследований позволяют определить объективную массовую долю концентрата сывороточных белков для обогащения мороженого – 3 % [22]. При этом значении достигаются предельно допустимая для промышленных условий динамическая вязкость смесей, более высокая дисперсность воздушной фазы, наибольшее повышение биологической ценности белков и хорошие органолептические показатели. Обеспечивается необходимая для обогащенного мороженого доля калорийности белков в калорийности продукта (не менее 12 %) – 164 и 25 ккал соответственно.

**Выводы**

Проведен комплекс экспериментальных исследований по обоснованию объективной массовой доли концентратов сывороточных белков в обогащенном мороженом с массовой долей жира 8 % с учетом их влияния на органолептически и технологически значимые показатели качества. Установлено, что использование концентратов сывороточных белков в количестве 1–5 % приводит к повышению:

– титруемой кислотности смесей (в 1,05–1,90 раз);
– динамической вязкости смесей (в 1,16–2,90 раз);
– термоустойчивости мороженого (массовая доля плава через 60 мин выдерживания сокращается до 3 раз);
– дисперсности воздушных пузырьков (при внесении концентратов сывороточных белков 1–3 %) и кристаллов льда, определяемой по плотности их распределения по размерам.

Также снижается твердость в 1,4–8,3 раза.

Установлена корреляция между данными сенсорной оценки и технологически и органолептически значимыми показателями качества мороженого.

Определена объективная доля концентратов сывороточных белков (3 %) для обогащения мороженого с массовой долей молочного жира 8 %.

**Критерии авторства**

И. А. Гурский – обзор литературы, проведение и обработка результатов экспериментальных исследований. А. А. Творогова – постановка, научное руководство и анализ результатов исследований.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Contribution**

I.A. Gurskiy reviewed the scientific literature, conducted the research, and processed the experimental results. A.A. Tvorogova designed the research, provided scientific counselling, and analyzed the research results.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**References/Список литературы**

1. Henriques M, Gomes D, Pereira C. Liquid whey protein concentrates produced by ultrafiltration as primary raw materials for thermal Dairy Gels. Food Technology and Biotechnology. 2017;55(4):454–463. https://doi.org/10.17113/ftb.55.04.17.5248

2. Andoyo R, Fitri AR, Putri RS, Mardawati E, Nurhadi B, Sukri N, *et al.* Production of denatured whey protein concentrate at various pH from wastewater of cheese industry. agriTECH. 2021;41(2):161–171. https://doi.org/10.22146/AGRITECH.55439

3. Pradipta DRE, Andoyo R. Optimization formulation of high protein biscuit made from denaturated whey protein concentrate and sweet potato flour supplemented with mineral as emergency food. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020;443(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/443/1/012066

4. Kalinovskaya TV, Bogodist-Timofeeva EYu. Research of functional and technological properties of whey protein concentrate in technologies of whipped candy masses. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2021;83(2):169–174. (In Russ.). https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-2-169-174

5. Levin MA, Burrington KJ, Hartel RW. Whey protein phospholipid concentrate and delactosed permeate: Applications in caramel, ice cream, and cake. Journal of Dairy Science. 2016;99(9):6948–6960. https://doi.org/10.3168/jds.2016-10975

6. Loffredi E, Moriano ME, Masseroni L, Alamprese C. Effects of different emulsifier substitutes on artisanal ice cream quality. LWT. 2021;137. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110499

7. E X, Pei ZJ, Schmidt KA. Ice cream: Foam formation and stabilization – A review. Food Reviews International. 2010;26(2):122–137. https://doi.org/10.1080/87559120903564472

8. Awad RA, Hassan ZMR, Salama WM. Surface tension and foaming properties as a simple index in relation to buffalo milk adulteration. International Journal of Dairy Science. 2014;9(4):106–115. https://doi.org/10.3923/ijds.2014.106.115

9. El-Zeini Hoda M, Moneir El-Abd M, Mostafa AZ, Yasser El-Ghany FH. Effect of incorporating whey protein concentrate on chemical, rheological and textural properties of ice cream. Journal of Food Processing and Technology. 2016;7(2). https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000546

10. Moschopoulou E, Dernikos D, Zoidou E. Ovine ice cream made with addition of whey protein concentrates of ovine-caprine origin. International Dairy Journal. 2021;122. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2021.105146

11. El-Zeini HMM, Abdel-Atti Ali A-R, Awad RA, El-Ghany YFHA. Texture evaluation of whey protein concentrate incorporated ice cream by Back Extrusion technique. International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology. 2018;3(1):006–013. https://doi.org/10.22161/ijeab/3.1.2

12. Guo E, Kazantsev D, Mo J, Bent J, Van Dalen G, Schuetz P, *et al.* Revealing the microstructural stability of a three-phase soft solid (ice cream) by 4D synchrotron X-ray tomography. Journal of Food Engineering. 2018;237:204–214. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2018.05.027

13. Guo E, Zeng G, Kazantsev D, Rockett P, Bent J, Kirkland M, *et al.* Synchrotron X-ray tomographic quantification of microstructural evolution in ice cream – a multi-phase soft solid. RSC Advances. 2017;7(25):15561–15573. https://doi.org/10.1039/C7RA00642J

14. Amador J, Hartel R, Rankin S. The effects of fat structures and ice cream mix viscosity on physical and sensory properties of ice cream. Journal of Food Science. 2017;82(8):1851–1860. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13780

15. Warren MM, Hartel RW. Effects of emulsifier, overrun and dasher speed on ice cream microstructure and melting properties. Journal of Food Science. 2018;83(3):639–647. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13983

16. Muzammil HS, Javed I, Rasco B, Zahoor T. Viability of probiotics in frozen yogurt with different levels of overrun and glycerol. International Journal of Agriculture and Biology. 2015;17(3):648–652. https://doi.org/10.17957/IJAB%2F17.3.13.1116

17. Królczyk JB, Dawidziuk T, Janiszewska-Turak E, Sołowiej B. Use of Whey and whey preparations in the food industry – A review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2016;66(3):157–165. https://doi.org/10.1515/pjfns-2015-0052

18. Sofjan RP, Hartel RW. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. International Dairy Journal. 2004;14(3):255–262. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2003.08.005

19. Gurskiy IA. Effect of fermented base amount on dispersion of air phase of thawed desserts. Food Systems. 2021;4(3S):67–70. (In Russ.). https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-67-70

20. Goff HD, Hartel RW. Ice Cream. New York: Springer; 2013. 462 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6096-1

21. Roy S, Hussain SA, Prasad WG, Khetra Y. Quality attributes of high protein ice cream prepared by incorporation of whey protein isolate. Applied Food Research. 2022;2(1). https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100029

22. Tvorogova AA, Gurskiy IA, Shobanova TV. Biological indicators of protein quality of enriched cream ice cream. Dairy Industry. 2022;(3):39–41. (In Russ.). https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-03-39-41

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378
https://elibrary.ru/WZPKCN

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Оценка биологической безопасности антарктического криля *Euphausia superba* (Dana, 1852) из вод Атлантического океана

**О. И. Лазарева[1,*], А. М. Сытов[2]**

[1] *Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д. Н. Прянишникова, Пермь, Россия*

[2] *Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия*

*Поступила в редакцию: 01.03.2022*
*Принята после рецензирования: 29.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

**О. И. Лазарева: ol.manina@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2108-275X*
*А. М. Сытов: https://orcid.org/0000-0002-0476-4548*

*© О. И. Лазарева, А. М. Сытов, 2022*

**Аннотация.**
*Euphausia superba* – крупнейший источник животного белка в мировом океане. Возобновление и развитие промысла антарктического криля в России является перспективным направлением. В связи с этим интерес представляет оценка его биологической безопасности. Цель исследования – анализ образцов антарктического криля *E. superba* на наличие паразитов и микроорганизмов, способных отрицательно влиять на его санитарную оценку.
Материалом послужили особи антарктического криля *E. superba* (n = 130), выловленные в сезон 2019–2020 гг. Росрыболовством в 69-м рейсе СТМ «Атлантида». Применяли методы неполного гельминтологического исследования, включая компрессорный, а также микробиологические и гистологические исследования.
При визуальном осмотре, гельминтологическом вскрытии и компрессорной микроскопии криля не выявлено личинок гельминтов и простейших. При микробиологическом исследовании на показатели безопасности, согласно ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016 и СанПиН 2.3.2.1078-01, значения КМАФАнМ составило менее $1{,}0\times10^3$ при 37 и 25 °С. Условно-патогенных и патогенных микроорганизмов не обнаружено. На питательных средах для обнаружения стафилококков выросли колонии не идентифицированных кокков. При посеве материала на среде Сабуро при 24 °С на чашках выросли микроскопические грибы рода *Penicillium* в количестве $3{,}0\times10^2$. При гистологическом исследовании препаратов из сегментов тела рачков (карапакс, жабры, внутренние органы) паразитологических организмов, патолологических включений и изменений в тканях не отмечено.
Исследованный антарктический криль свободен от паразитов и безопасен в микробиологическом отношении. Поэтому он может быть использован для пищевого производства и других целей, но при контроле на исключение *Vibrio parahemolyticus* и *Listeria monocytogenes*.

**Ключевые слова.** Ракообразные, микроорганизмы, паразиты, бактерии, грибы, безопасность

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) на 2020 г. № 076-00005-20-02 от 14 февраля 2020 г., а также комплексной экспедиционной Программы выполнения ресурсных исследований криля и исследований экосистемы Южного океана (Атлантический сектор Антарктики) на 2018–2023 гг., утвержденной руководителем Росрыболовства от 1 декабря 2017 г.

**Для цитирования:** Лазарева О. И., Сытов А. М. Оценка биологической безопасности антарктического криля *Euphausia superba* (Dana, 1852) из вод Атлантического океана // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 449–457. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378
https://elibrary.ru/WZPKCN

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Biological Safety Assessment of Antarctic Krill *Euphausia superba* (Dana, 1852) from the Atlantic Ocean

**Olga I. Lazareva[1,*], Aleksandr M. Sytov[2]**

[1] *Perm State Agro-Technological University named after academician D.N. Pryanishnikov, Perm, Russia*

[2] *Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

*Received: 01.03.2021*
*Revised: 29.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

**Olga I. Lazareva: ol.manina@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2108-275X*
*Aleksandr M. Sytov: https://orcid.org/0000-0002-0476-4548*

*© O.I. Lazareva, A.M. Sytov, 2022*

**Abstract.**
The development of the Antarctic krill fishery is a promising direction of Russian food industry. *Euphausia superba* is the largest source of animal protein in the global oceans. According to the Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources (CCAMLR), the year of 2021 saw a steady increase in the global catch of krill. The Government of the Russian Federation approved a program for the development of the oceanic fishery for crustaceans. The assessment of its biological safety is of particular interest because the extraction of this raw material in Russia is currently undergoing a restoration process. The purpose of the study was to analyze samples of Antarctic krill *E. superba* for parasites and microorganisms that could affect its sanitary condition.
The study featured the microplankton of *E. superba* crustaceans (n = 130) caught in 2019–2020 by the Federal Agency for Fishery. The methods included an incomplete helminthological analysis, as well as compressor, microbiological, and histological studies.
The visual inspection, helminthological dissection, and compressor microscopy revealed no helminth larvae or protozoa. In a microbiological study for safety indicators according to CU TR 021/2011, EAEU TR 040/2016 and Sanitary Rules and Norms SanPiN 2.3.2.1078-01, the quantity of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (QMAFAnM) were did not exceed $1.0\times10^3$ at 37 and 25°C. Opportunistic and pathogenic microorganisms were not detected. When examining cultivate for the isolation of *Staphylococci*, were found Cocci, but we did not identify them. When the material was sown on the Sabouraud nutrient medium at 24°C, *Penicillium* microscopic fungi grew on the plates in the amount of $3.0\times10^2$. Histological examination of carapace, gills, and internal organs detected no parasitological organisms, pathological inclusions, or any tissue changes. The Antarctic krill contained no parasites and was microbiologically safe. After tests on *Vibrio parahemolyticus* and *Listeria monocytogenes*, it can be used in the food industry.

**Keywords.** Crustaceans, microorganisms, parasites, bacteria, fungi, safety

**Funding.** The work was part of the state task of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO) for 2020, No. 076-00005-20-02, February 14, 2020, as well as part of the integrated research program for krill resources and the ecosystem of the Atlantic Antarctica for 2018–2023, approved by the Federal Agency for Fisheries on December 1, 2017.

**For citation:** Lazareva OI, Sytov AM. Biological Safety Assessment of Antarctic Krill *Euphausia superba* (Dana, 1852) from the Atlantic Ocean. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):449–457. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2378

## Введение

Антарктический криль *Euphausia superba* – пелагический циркумполярный вид ракообразных из семейства эвфаузиид (*Euphausiidae*), который встречается в антарктических и субантарктических водах Южного океана. Благодаря широкой распространенности, уникальному химическому составу и пищевой ценности его считают важным промысловым объектом и называют «розовым золотом» [1, 2].

В 1970–1980 гг. промысел криля велся судами СССР и Японии, но в последние годы лидерами по его добыче его являются Норвегия, Корея и Китай [3]. В России утверждена Стратегия развития деятельности

Российской Федерации в Антарктике до 2030 г., в которой ресурсам криля уделено большое значение [4].

Рыбная промышленность широко использует Антарктический криль в качестве сырья для производства разного рода продукции [1]. Его перерабатывают на кормовую белковую пасту и протеиновую муку для аквакультуры, чаще лосося [3, 5]. В индустрии питания популярны такие продукты переработки криля, как крилевая паста, мясо, консервы и масло. Фармацевтическая промышленность выпускает биологически активные вещества и лечебные препараты [1]. Для зарубежных ученых приоритетным направлением является получение белковых и жировых фракций, а также эмульсии для пищевых целей [6–8].

Несмотря на преимущества данного промыслового ресурса, в научной литературе встречаются неоднозначные данные в отношении показателей безопасности. Наибольшее количество исследований посвящено определению показателей токсичности. Установлено высокое содержание фтора в панцире, поэтому публикации последних лет посвящены разработке методик дефторирования антарктического криля и продукции из него [9–11]. Обнаружена способность антарктического криля биоаккумулировать токсичные техногенные загрязнители: хлорорганические пестициды, стойкие органические загрязнители, броморганические соединения, а также высокие концентрации ртути и метилртути [12–15]. Данные химические вещества накапливаются в морских экосистемах и липидах гепатопанкреаса [12]. Небезопасен антарктический криль в отношении стероидных экзогенных гормонов, особенно глюкокортикостероидов. Негативные последствия представляют опасность для организмов и их последующих потребителей в пищевой цепи [16].

Криль является одним из основных поддерживающих факторов пищевой цепи Антарктики для морских млекопитающих, птиц и многих видов рыб, в том числе микробных сообществ [17–19]. Популяция криля представляет собой большое количество биомассы, которая может служить резервуарным или промежуточным хозяином различных паразитических организмов. В отношении изучения паразитических организмов антарктического криля имеются лишь единичные сведения [3, 18].

Микробиологический профиль криля исследован с помощью молекулярно-генетических методов. Исследования санитарно-показательных, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов выполнены более двадцати лет назад.

Показатели безопасности нормируются действующими регламентами ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016 и СанПиН 2.3.2.1078-01. Они определяют нормативные значения токсикологических, микробиологических и радиологических показателей. Относительно паразитологических показателей для морских ракообразных данные отсутствуют.

Цель исследования – анализ образцов антарктического криля *E. superba* на наличие паразитических организмов и микроорганизмов, представляющих опасность для человека и животных.

**Объекты и методы исследования**

Объектом исследования являлись свежезамороженные рачки *Euphausia superba* (n = 130) разного пола и размера (рис. 1). Пробы были предоставлены специалистом сектора биоресурсов Антарктики ФГБНУ «ВНИРО». Образцы были получены в ходе выполнения комплексных исследований состояния запасов антарктического криля и океанологических условий в подрайонах Антарктической части Антарктики в 69-м рейсе СТМ «Атлантида» в январе 2020 г. в море Скотия к северу от Южных Оркнейских островов в координатах 58°58' ю.ш. 45°37' з.д. – траловая станция № 39.

Определение общей длины тела криля, пола, стадий половой зрелости, цвета, наличия и отсутствия черно-пятнистой болезни ракообразных выполнялись в соответствии с общепринятыми методиками и рекомендациями АНТКОМ. Для паразитологического исследования ракообразных на наличие личинок паразитов тщательно просматривались органы, полости тела и ткани (МУК 3.2.988-000). Затем мышечные ткани криля исследовали методом компрессионной микроскопии. Для обнаружения паразитических простейших готовили мазки-отпечатки тканей тела рачков, которые фиксировали этиловым спиртом и окрашивали по Романовскому, а затем микроскопировали при увеличении ×100, ×400, ×1000. Подготовку проб замороженных рачков к микробиологическому анализу выполняли по ГОСТ 26669. Культивирование микроорганизмов проводили по ГОСТ 26670. Растворы, реактивы, краски, индикаторы и питательные среды для анализа приготавливали по ГОСТ ISO 7218 и ГОСТ ISO 11133. Определяли следующие микробиологические показатели на соответствие

Рисунок 1. Рачки антарктического криля *Euphausia superba* после размораживания

Figure 1. *Euphausia superba* after defrosting

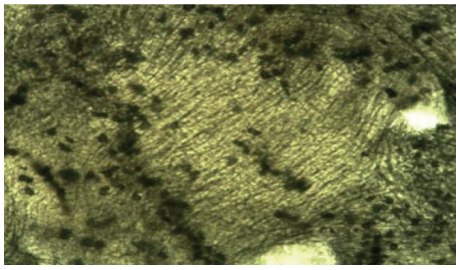


Рисунок 2. Мышцы абдомена (ув. ×100)

Figure 2. Abdominal muscles (mag. ×100)

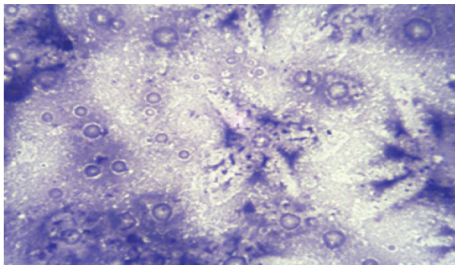


Рисунок 3. Мазок-отпечаток тела *Euphausia superba* (окраска по Романовскому; ув. ×1000)

Figure 3. Stroke-imprint of the body of *Euphausia superba* (Romanovsky stain; mag. ×1000)

параметрам ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016, СанПиН 2.3.2.1078-01: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов по ГОСТ 10444.15, осуществляя термостатирование посевов при 25 и 37 °С; бактерии группы кишечной палочки (колиформы) – по ГОСТ 31747; *Staphylococcus aureus* – по ГОСТ 31746; патогенные микроорганизмы рода сальмонелла – по ГОСТ 31659 (ISO 6579). Параллельно пробы исследовали на наличие и количество дрожжей и плесневых грибов по ГОСТ 10444.12. Для выполнения гистологического исследования тело рачков разрезали на сегменты в области головогруди и брюшка размером 10 мм и помещали в раствор 4 %-ного нейтрального формалина. Гистологические препараты готовили по стандартной методике с последующим окрашиванием гематоксилин-эозином в лаборатории гистопатологии Пермской краевой детской клинической больницы. Микроскопирование готовых микропрепаратов выполняли на кафедре инфекционных болезней факультета ветеринарной медицины и зоотехнии Пермского ГАТУ на микроскопе Meiji (Япония) при увеличении ×100. Результаты фиксировали с помощью фотокамеры Vision (Канада).

**Результаты и их обсуждение**

Из представленных 130 образцов криля практически все рачки были без механических повреждений, окраска печени – зелено-коричневая. Размеры варьировались от 38 до 57 мм. В пробе были представлены самки посленерестовой стадии зрелости IIIE и зрелые самцы стадии IIIB. При осмотре цефалоторакса и плеопод на наличие эпибионтов внешних проявлений не обнаружено.

При просмотре с помощью компрессория препаратов мышц абдомена включений и возбудителей *Anisakis* spp. в пробах не зафиксировано (рис. 2). При микроскопии окрашенных мазков-отпечатков тела рачков паразитических простейших не выявлено (рис. 3).

Сообщения о паразитических организмах в *Euphausia superba* редки. Для антарктического криля характерно наличие нескольких типов специфических патогенов: эпибионты, патогенные микроорганизмы, паразиты, паразитойды и предположительно вирусы. Последние данные сообщают об инфузориях эпибионтах и гистофагах, хитинолитических бактериях и грибах, а также эндопаразитах, представленных апикомплексами и нематодами, поражающими икру [3, 20]. Существуют паразиты, которые могут представлять потенциальную опасность для человека и животных. Из паразитических нематод эвфаузиид патогенными для человека могут быть представители семейства *Anisakidae*. В литературе нет сообщений о заражении этими гельминтами *E. superba*. Однако известно, что они встречаются среди эвфаузиид умеренной и субтропической зон и арктической экосистемы. J. Gomez-Gutierrez и J. R. Morales-Avila сообщают, что исследование образцов антарктических криля (35 и 92 тыс.) и морских млекопитающих на наличие *Anisakis* spp. не дало положительных результатов [21].

У мигрирующих глубоководных костистых рыб и китов, которые питаются антарктическим крилем, обнаруживают *Anisakis simplex* и *Anisakis pegreffii*. Это объясняется заражением нематодами в пределах северных широт, точнее, за границами Атлантики [21]. Есть предположение, что на паразитарную зараженность криля влияют характеристики стаи и поведение отдельных особей. Плотность стаи определяет паразитарную нагрузку: чем ниже ее плотность, тем ниже паразитарное воздействие. Некоторым паразитам для завершения жизненных циклов требуются стаи с высокой численностью, компактным роением и стайным (эмерджентным) поведением. Размер и продолжительность жизни рачков также имеют немаловажное значение. Молодые особи более подвержены инфекциям и инвазиям. Однако существует гипотеза, согласно которой низкие температуры неблагоприятны для развития паразитов и патогенов [22]. J. Gomez-Gutierrez и J. R. Morales-Avila считают, что пониженное разнообразие паразитов у *E. superba* связано с их антарктической

Таблица 1. Результаты микробиологических исследований замороженного антарктического криля
Table 1. Microbiological studies of frozen Antarctic krill

| Показатели | ВНИРО [23] | Фактический результат | ТР ТС 021/2011<br>ТР ЕАЭС 040/2016*<br>СанПиН 2.3.2.1078-01** |
|---|---|---|---|
| Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов при 37 и 25 °С, КОЕ/г, не более | Не более $1,6\times10^3$ | Менее $1,0\times10^3$ | Не более $5\times10^4$; $1,0\times10^{5*}$; $1\times10^{3**}$ |
| Бактерий группы кишечной палочки (колиформы), г | Не обнаружено | Не обнаружено в 1,0–0,00001 г | Не допускаются в 0,001 г |
| Патогенные микроорганизмы, в том числе рода сальмонелла, г | Не обнаружено | Не обнаружено в 25 г | Не допускаются в 25 г |
| *Listeria monocytogenes*, г | Не обнаружено | Не определяли | Не допускаются в 25 г |
| *Staphylococcus aureus*, г | Обнаружены *Micrococcus* | Обнаружены кокки в 0,1 г | Не допускаются 0,01 г |
| Плесневые грибы, КОЕ/г | $0,4\times10^2$–$3,2\times10^2$ | $3,0\times10^2$ | Не нормируется |
| Дрожжи, КОЕ/г | $0,2\times10^2$–$1,3\times10^2$ | Не обнаружено | Не нормируется |
| *Vibrio parahaemolyticus*, КОЕ/г | Не обнаружено | Не определяли | Не более 100 |

зоогеографической структурой, куда паразиты еще не вторглись эволюционно по сравнению с другими видами членистоногих из экосистем других широт [21].

В действующих отечественных регламентах ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016 и СанПиН 2.3.2.1078-01 паразитологические показатели для морских ракообразных, в частности криля, отсутствуют. Они представлены только для пресноводных креветок водоемов Дальнего Востока, в которых не допускается наличие личинок парагонимусов в живом виде.

При микробиологическом исследовании замороженного криля были получены результаты, представленные в таблице 1. Значение КМАФАнМ замороженного криля при 37 и 25 °С составило менее $1,0\times10^3$ КОЕ/г. Полученные данные согласуются с исследованиями, полученными ВНИРО, также представленными в таблице 1 [23]. Согласно этим данным микрофлора свежевыловленного криля, а именно мезофильных бактерий, не превышала $1,6\times10^3$ кл/г при 37 и 25 °С, а психрофилов, культивируемых при температуре ниже +10 °С, составила $4,0\times10^4$ кл/г. Микробная обсемененность морской воды, выполненная методом мембранных фильтров, не превышала $4,2\times10^3$ в 1 мл. Если сравнивать полученный показатель с действующими нормативными документами, то представленная проба соответствует нормативному значению, несмотря на длительное хранение.

Посев разведений образца на среды для определения условно-патогенных бактерий группы кишечной палочки не дал результата. Аналогичные данные при определении этой группы бактерий получены ВНИРО как в отношении свежевыловленного криля, так и морской воды. При культивировании на средах для определения патогенных микроорганизмов, в т. ч. сальмонелл, регистрировали отсутствие роста. В свежевыловленном криле санитарно-показательные и условно-патогенные микроорганизмы обнаружены не были [23].

При определении санитарно-показательных микроорганизмов, таких как стафилококки и стрептококки, в объеме пробы 0,1 г отмечали рост на желточно-солевом агаре с образованием гладких круглых колоний белого цвета, определяемые по морфологии как грамположительные кокки (рис. 4). Генетическая идентификация выделенных микроорганизмов не проводилась. Результаты подтверждаются ранее проведенными (ВНИРО) исследованиями, в которых морфологически выделяли кокки и короткие палочки из психрофилов и мезофилов.

Согласно проведенным ранее исследованиям сотрудниками ВНИРО при пересевах бактерий,

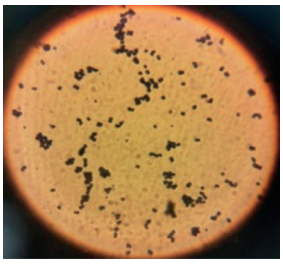


Рисунок 4. Кокки. Препарат чистой культуры из колонии выросшей на желточно-солевом агаре через 48 ч при 37 °С (окраска по Граму; ув. ×100)

Figure 4. Cocci. Pure culture from a colony grown on yolk and salt agar after 48 h at 37°C (Gram stain; mag. ×100)

выросших при 37 °C, отмечено угнетение их роста на обычных питательных средах и последующая гибель. По предположению ученых, это говорит о более низких температурах для их культивирования [23].

Невысокую обсемененность криля исследователи связывали с низкой температурой и низкой загрязненностью морских вод в районе промысла. Эти выводы подтверждают результаты современных исследований. Оптимальная температура для выделения бактерий, актинобактерий и грибов криля составляет 16, 16 и 28 °C соответственно. Из 25 бактериальных изолятов 92 % были выделены при 16 °C, оставшиеся при 4 °C. Это *Streptomyces* sp. и *Advenella* sp. [24].

При исследовании видового состава микрофлоры методом поверхностного посева различных разведений на разные питательные среды преобладали пигментообразующие формы бактерий, неспоровые психрофилы и мезофилы [23]. Нами они не выявлены.

Обнаружено, что среди микрофлоры свежевыловленного криля присутствуют бактерии-антагонисты окружающей микрофлоры. Отмечено, что чистые культуры выделенных бактерий хорошо росли на питательных средах с содержанием 12–14 % натрия хлорида. При идентификации были определены следующие роды бактерий: *Micrococcus*, *Pseudomonas* и *Bacillus* [23].

Микробиота криля *E. superba* изучена с помощью молекулярно-генетических исследований. Установлено, что на количественный состав микрофлоры ракообразных влияют окружающая среда, время года, связанное с откормом, наполненность желудочно-кишечного тракта криля, сами ткани и органы, простейшие эпибионты – инфузории. Бактериальные сообщества формируются в зависимости от географического региона. Бактерии криля отличаются от бактерий морской воды [18]. При изучении бактерии эпибионтов установлено, что каждая стая криля поддерживает свой индивидуальный микробиом [19]. Установлено, что наибольшие качественные различия наблюдаются среди бактерий, связанных с экзоскелетом. Преобладающими бактериями эпибионтами является класс *Gammaproteobacteria* типа протеобактерий, меньше – класс *Bacteroidia* типа *Bacteroidetes*, еще меньше – класс *Alphaproteobacteria*. Из протеобактерий в образцах линьки преобладает род *Colwellia*, в пищеварительной системе – род *Pelomonas* [18]. Доминантными культивируемыми бактериями пищеварительного тракта рачков являются *Pseudomonas*, *Actinobacteria*, *Flavobacteria*, а также *Micrococcus*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Corynebacterium* и *Clostridium*. При этом бактерии рода *Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Staphylococcus* и *Vibrio* потенциально являются условно-патогенными [3]. Дополнительно у криля выделены роды *Planococcus*, *Advenella* и *Streptomyces* [23].

Рисунок 5. Микроскопические грибы рода *Penicillium* выросшие через 5 суток инкубации при 24 °C (ув. ×4)

Figure 5. Microscopic *Penicillium* fungi after 5 days of incubation at 24°C (mag. ×4)

Установлено, что микробную порчу *E. superba* при хранении и транспортировке вызывают доминирующие протеобактерии рода *Psychrobacter* [25]. Y. Wang и L. Ma обнаружили и идентифицировали новый штамм бактерий рода *Planococcus P. alpniumensis* из Антарктиктического криля [26].

На среде Сабуро обнаружены однотипные бархатистые колонии серовато-зеленых с белой периферической частью микроскопических грибов рода *Penicillium* (рис. 5) в количестве $3{,}0\times10^2$. Их видовую идентификацию не проводили. По данным [23] количество плесеней (клеток/грамм) в криле из Атлантического сектора составило $0{,}4\times10^2$–$3{,}2\times10^2$, дрожжей – $0{,}2\times10^2$–$1{,}3\times10^2$. *Penicillium* вызывает порчу пищевых продуктов и является менее токсигенным грибом по сравнению с родами *Aspergillus* и *Fusarium.* Для выявления наличия токсинообразования разработаны генетические методы, но они не адаптированы для пищевой микологии [27].

Результаты проведенного микологического исследования согласуются с более ранними результатами [23, 24]. При генетическом изучении микрофлоры *E. superba* идентифицировано 42 вида гриба, принадлежащих к типу *Ascomycota*, включающие пять родов (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Talaromyces* и *Meyerozyma*). Доминирующей группой из микроскопических грибов был род *Penicillium* [24]. При исследовании поверхностного горизонта морской воды в большинстве проб определены плесени рода *Penicillium*. Обнаружены дрожжи, относящиеся к отделу *Basidiomycota* родов *Rhodotorula* и *Sporobolomyce*. В отношении дрожжей *E. superba* в литературе имеется мало данных. Ранее психрофильные дрожжи выделяли в небольшом количестве из кишечника [3]. По последним данным, у *E. superba* обнаружены неклассифицированные *Saccharomycetes* [25].

Результаты исследований последних лет сообщают о недостаточной изученности иммунного ответа у эвфаузиид. Не изучена противомикробная и противогрибковая активности, образование свободных радикалов и реакция на окислительный стресс. Это приводит к плохому пониманию влияния эпибионтов, патогенов, паразитов и паразитойдов не только на эвфаузиид, но и на хищников зоопланктона и нектона криля. P. J. Seear и др. при генетическом исследовании экспресии иммунных генов эвфаузиид выделили иммунные протеазы и белки: катепсины и лектины С-типа, гемоцианин, которые обладают антибактериальной и противогрибковой, противовирусной и регенерирующей активностями [22].

X. Cui и др. изучали бактерии и грибы, выделенные от *E. superba*, на антибактериальную активность против распространенных водных патогенных бактерий, опасных для морской флоры, фауны и людей: *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Edwardsiella tarda* и *Bacillus cereus*, а также пяти патогенных микроорганизмов для человека: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas aeruginosa*. Исследования показали, что метаболиты бактерий *Psychrobacter* и *Bacillus* проявляли большую антимикробную активность против водных патогенных бактерий [24].

Среди грибов активность в отношении тех же организмов проявил *Penicillium* sp. У *Penicillium citrinum*, полученного от криля, определено семь соединений, обладающих антипролиферативным действием в отношении культур опухолевых клеток. S.-Y. Zhang и др. выделили пятнадцать антиоксидантных пептидов из белков антарктического криля, производство которых перспективно для применения в продуктах питания и продуктах для здоровья. Ученые предположили, что микробиота *E. superba* при помощи антимикробных и цитотоксических метаболитов защищает своего хозяина от условно-патогенных и патогенных микроорганизмов из-за их антагонистических отношений [28].

При микроскопии гистологических препаратов из сегментов тела рачков головогруди и брюшка отмечали характерный рисунок строения тканей. Внимание уделяли мышечной ткани, которая имеет основное значение для получения продуктов питания. Гистологическое исследование показало в ней в отдельных полях зрения присутствие дезорганизации мышечных волокон и наличие отека между отдельными волокнами и соединительнотканной прослойкой без признаков воспалительной реакции. Это стало следствием замораживания и последующего оттаивания материала (рис. 6). При большем увеличении объектива в миоцитах отмечали вакуолизацию ядер из-за воздействия кристаллов льда. Паразитических организмов среди тканевых структур образца не обнаружено.

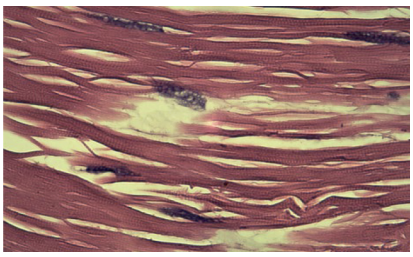


Рисунок 6. Мышечные волокна криля (окраска гематоксилином-эозином; ув. ×40)

Figure 6. Muscle fibers of krill (hematoxylin-eosin stain; mag. ×40)

S. Miwa и др. выполняли гистологическое исследование черных пятен головогруди антарктического криля. Гистологические исследования показали, что они представлены меланизированными узелками, состоящими из гемоцитов, окружающих бактерии или аморфный материал. При генетических исследованиях пятен были выделены *Psychrobacter* или *Pseudoalteromonas*. В некоторых пробах из меланизированных участков были выделены также неидентифицированные паразиты, окруженные гетероморфными клетками. Ученые объясняют этиологию данных пятен наличием паразитарной инфекции, которая после миграции паразитов осложнилась бактериальной. В предоставленных образцах криля черные пятна отсутствовали [28].

Среди специфических паразитических простейших антарктического криля встречаются эпибионты и эндопаразиты. Инфузории-эпибионты поражают головогрудь, брюшко и придатки (щетинки плеопод грудных конечностей). К эндопаразитам кишечника и гепатопанкреаса, передаваемым трофически, относятся грегарины и цефалоидофориды [3]. A. C. Cleary и др. проводили генетическое исследование содержимого кишечника (рациона) криля на наличие паразитов [20]. Среди шести таксономических разных групп превалировали инфузории *Pseudocollinia* spp., нематоды, характерные для пингвинов, *Stegophorus macronectes* и апикомплексы кишечника. Так как это тема недостаточно изучена, то считается, что не все перечисленные паразитические организмы характерны для *E. superba* – часть из них является случайными объектами рациона. Для исключения неправильных результатов и выводов рекомендуется перед проведением исследований предварительно выдержать криль в фильтрованной морской воде несколько часов и совмещать молекулярную диагностику с микроскопией, которая дает дополнительную достоверную информацию [18]. Полученные отрицательные результаты объясняются тем, что грегарины, локализующиеся в пищеварительной

системе *E. superba*, регистрируются при помощи молекулярной диагностики [3, 30].

Исследованный антарктический криль свободен от паразитов и безопасен в микробиологическом отношении. Поэтому он может быть использован для пищевого производства и других целей, но при контроле на исключение *V. parahemolyticus* и *L. monocytogenes*.

**Выводы**

В результате паразитарного и компрессорного исследования 130 образцов криля-сырца, добытого в море Скотия, не обнаружено паразитов, представляющих опасность для человека.

При изучении микробного фона замороженного криля КМАФАнМ составило менее $1{,}0\times10^3$. Анализ качественного состава нормируемых по НД микроорганизмов позволил выявить кокки, культивируемые при 37 °С.

Фунгифлора представлена однотипными колониями рода *Penicillium* ($3{,}0\times10^2$ КОЕ/г). Определение показателя представляло интерес, но регламентами он не нормируется.

При гистологическом исследовании сегментов головогруди и абдомена патологических изменений тканей и паразитических организмов не обнаружено.

**Критерии авторства**

О. И. Лазарева – проведение исследований, анализ экспериментальных данных и выводы. А. М. Сытов – сбор и первичная обработка материалов.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности**

Выражаем благодарность старшему научному сотруднику ФГБНУ «ВНИРО» А. В. Согриной за оказание сотрудничества в проведении исследований, а также научной группе, в частности Д. А. Козлову, и экипажу СТМ «Атлантида» за помощь в сборе и обработке материалов в ходе 69-й экспедиции.

**Contribution**

O.I. Lazareva performed the research, analyzed the experimental data, and draw conclusions. A.M. Sytov collected and processed the research materials.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Acknowledgements**

We would like to express our gratitude to A.V. Sogrina, senior researcher at the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, as well as to D.A. Kozlov, the research team, and the crew of RV Atlantida for their help in collecting and processing materials during Expedition 69.

**References/Список литературы**

1. Andreev MP. Antarctic krill (Euphausia superba) – the past, present and the future development of technology processing. Problems of Fisheries. 2021;22(1):5–15. (In Russ.). https://doi.org/10.36038/0234-2774-2021-22-1-5-15

2. Wang R, Song P, Li Y, Lin L. An integrated, size-structured stock assessment of Antarctic krill, *Euphausia superba*. Frontiers in Marine Science. 2021;8. https://doi.org/10.3389/fmars.2021.710544

3. Siegel V. Biology and ecology of Antarctic krill. Cham: Springer; 2016. 441 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29279-3

4. Bandurin KV, Kasatkina SM. Development of Russian resource reserch and fishery for krill *Euphausia superba*: problems and prospects. Problems of Fisheries. 2021;22(2):20–26. (In Russ.). https://doi.org/10.36038/0234-2774-2021-22-2-20-26

5. Kaur K, Kortner TM, Benitez-Santana T, Burri L. Effects of Antarctic krill products on feed intake, growth performance, fillet quality, and health in salmonids. Aquaculture Nutrition. 2022;2022. https://doi.org/10.1155/2022/3170854

6. Li Y, Zeng Q-H, Liu G, Peng Z, Wang Y, Zhu Y, *et al.* Effects of ultrasound-assisted basic electrolyzed water (BEW) extraction on structural and functional properties of Antarctic krill (*Euphausia superba*) proteins. Ultrasonics Sonochemistry. 2021;71. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105364

7. Xie D, He F, Wang X, Wang X, Jin Q, Jin J. Diverse krill lipid fractions differentially reduce LPS-induced inflammatory markers in RAW264.7 macrophages in vitro. Foods. 2021;10(11). https://doi.org/10.3390/foods10112887

8. Li Y, Peng Z, Tan L, Zhu Y, Zhao C, Zeng Q-H, *et al.* Structural and functional properties of soluble Antarctic krill proteins covalently modified by rutin. Food Chemistry. 2022;379. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132159

9. Zhang H-Y, Cao M-X, Fodjo EK, Kong C, Cai Y-Q, Shen X-S, *et al.* Safety of Antarctic krill (*Euphausia superba*) as food source: its initial fluoride toxicity study. Food Science and Technology. 2019;39(4):905–911. https://doi.org/10.1590/fst.11418

10. Fang B, Wang Z-H, Shi W-Z, Wang L-L, Chen X-Y. Study on the removal of various morphological fluorine in Antarctic krill meat by calcium salt. Modern Food Science and Technology. 2018;34(8):64–68. https://doi.org/10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.8.010

11. Yan G, Bao Y, Tan M, Cui Q, Lu X, Zhang Y. Defluorination by Donnan Dialysis with seawater for seafood processing. Journal of Food Engineering. 2018;238:22–29. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.033

12. Xie J, Tao L, Wu Q, Bian Z, Wang M, Li Y, *et al.* Bioaccumulation of organochlorine pesticides in Antarctic krill (*Euphausia superba*): Profile, influencing factors, and mechanisms. Journal of Hazardous Materials. 2022;426. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128115

13. Galbán-Malagón CJ, Hernán G, Abad E, Dachs J. Persistent organic pollutants in krill from the Bellingshausen, South Scotia, and Weddell Seas. Science of the Total Environment. 2018;610–611;1487–1495. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.108

14. Markham E, Brault EK, Khairy M, Robuck AR, Goebel ME, Cantwell MG, *et al.* Time trends of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Antarctic biota. ACS Omega. 2018;3(6):6595–6604. https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00440

15. Sontag PT, Steinberg DK, Reinfelder JR. Patterns of total mercury and methylmercury bioaccumulation in Antarctic krill (*Euphausia superba*) along the West Antarctic Peninsula. Science of the Total Environment. 2019;688:174–183. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.176

16. Han X, Liu D. Detection and analysis of 17 steroid hormones by ultra-high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (UHPLC-MS) in different sex and maturity stages of Antarctic krill (*Euphausia superba Dana*). PLoS ONE. 2019;14(3). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213398

17. Sytov AM. Feedback control procedure for the krill fishery. Modern problems and prospects for the development of the fishery complex: Materials of the V scientific and practical conference of young scientists with international participation; 2017; Moscow. Moscow: VNIRO; 2017. p. 259–263. (In Russ.). [Сытов А. М. О проблемах разработки процедуры управления с обратной связью для промысла криля // Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса: материалы V научно-практической конференции молодых ученых с международным участием. М., 2017. С. 259–263.].

18. Clarke LJ, Suter L, King R, Bissett A, Deagle BE. Antarctic krill are reservoirs for distinct southern ocean microbial communities. Frontiers in Microbiology. 2019;10. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03226

19. Clarke LJ, Suter L, King R, Bissett A, Bestley S, Deagle BE. Bacterial epibiont communities of panmictic Antarctic krill are spatially structured. Molecular Ecology. 2021;30(4):1042–1052. https://doi.org/10.1111/mec.15771

20. Cleary AC, Casas MC, Durbin EG, Gómez-Gutiérrez J. Parasites in Antarctic krill guts inferred from DNA sequences. Antarctic Science. 2019;31(1):16–22. https://doi.org/10.1017/S0954102018000469

21. Gómez-Gutiérrez J, Morales-Ávila JR. Parasites and diseases. In: Siegel V, editor. Biology and ecology of Antarctic krill. Cham: Springer; 2016. pp. 351–386. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29279-3_10

22. Seear PJ, Goodall-Copestake WP, Fleming AH, Rosato E, Tarling GA. Seasonal and spatial influences on gene expression in Antarctic krill *Euphausia superba*. Marine Ecology Progress Series. 2012;467:64–75. https://doi.org/10.3354/meps09947

23. Bykova VM. Antarctic krill. Moscow: VNIRO; 2001. 207 p. (In Russ.). [Быкова В. М. Антарктический криль. М.: ВНИРО, 2001. 207 с.].

24. Cui X, Zhu G, Liu H, Jiang G, Wang Y, Zhu W. Diversity and function of the Antarctic krill microorganisms from *Euphausia superba*. Scientific Reports. 2016;6. https://doi.org/10.1038/srep36496

25. Wang F, Sheng J, Chen Y, Xu J. Microbial diversity and dominant bacteria causing spoilage during storage and processing of the Antarctic krill, *Euphausia superba*. Polar Biology. 2021;44(1):163–171. https://doi.org/10.1007/s00300-020-02789-x

26. Wang Y, Ma L, He J, Liu Z, Weng S, Wang L, *et al.* Whole genome sequencing and comparative genomic analyses of *Planococcus alpniumensis* MSAK28401$^{T}$, a new species isolated from Antarctic krill. BMC Microbiology. 2021;21(1). https://doi.org/10.1186/s12866-021-02347-3

27. Efimochkina NR, Sedova IB, Sheveleva SA, Tutelyan VA. Toxigenic properties of mycotoxin-producing fungi. Tomsk State University Journal of Biology. 2019;(45):6–33. (In Russ.). https://doi.org/10.17223/19988591/45/1

28. Zhang S-Y, Zhao G-X, Suo S-K, Wang Y-M, Chi C-F, Wang B. Purification, identification, activity evaluation, and stability of antioxidant peptides from alcalase hydrolysate of Antarctic krill (*Euphausia superba*) proteins. Marine Drugs. 2021;19(6). https://doi.org/10.3390/md19060347

29. Miwa S, Kamaishi T, Matsuyama T, Hayashi T, Naganobu M. Histopathology of Antarctic krill, *Euphausia superba*, bearing black spots. Journal of Invertebrate Pathology. 2008;98(3):280–286. https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.04.004

30. Shields JD. Collection techniques for the analyses of pathogens in crustaceans. Journal of Crustacean Biology. 2017;37(6):753–763. https://doi.org/10.1093/jcbiol/rux077

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2384
https://elibrary.ru/RZBSPB

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Филогенетическое разнообразие микроорганизмов источника Абаканский Аржан – потенциальных продуцентов микробной энергии

**А. И. Дмитриева[1,*], Е. Р. Фасхутдинова[1], М. Ю. Дроздова[1], С. С. Кутузов[2], Л. А. Проскурякова[1]**

[1] *Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

[2] *Средняя общеобразовательная школа № 34, Краснобродский, Россия*

*Поступила в редакцию: 22.03.2022*
*Принята после рецензирования: 20.04.2022*
*Принята к публикации: 04.05.2022*

**А. И. Дмитриева: a_piskaeva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8764-4049*
*Е. Р. Фасхутдинова: https://orcid.org/0000-0001-9711-2145*
*М. Ю. Дроздова: https://orcid.org/0000-0002-9499-9470*
*С. С. Кутузов: https://orcid.org/0000-0001-8807-5573*
*Л. А. Проскурякова: https://orcid.org/0000-0002-9583-9161*

*© А. И. Дмитриева, Е. Р. Фасхутдинова, М. Ю. Дроздова, С. С. Кутузов, Л. А. Проскурякова, 2022*

**Аннотация.**
Микробная энергия – одно из перспективных направлений инновационных разработок в области био- и нанотехнологий. Результаты многочисленных исследований последних лет показывают, что микробное сообщество термальных источников представляет особый интерес в данном направлении. Цель исследования – изучение микробного разнообразия сообществ термального источника Абаканский Аржан для выявления и идентификации изолятов, потенциально применимых в технологиях микробного синтеза электроэнергии.
Объектами исследования являлись микробные изоляты, полученные в результате анализа микробиоты образцов воды и ила термального источника Абаканский Аржан. Проведены метагеномный анализ микробного сообщества и сравнение последовательностей 16S РНК с использованием библиотеки Silva. Анализ изолятов проводили с помощью экстракции нуклеиновых кислот. Применяли методы ПЦР и секвенирования, а также филогенетический и биоинформатический анализ.
Доминирующими филотипами для проб воды являются *Firmicutes*, *Bacteroides* и *Proteobacteria*, для проб ила – *Firmicutes*, *Thermomonas*, *Gammaproteobacteria* и *Proteobacteria*. Анализ минорных филотипов подтвердил присутствие в пробах *Geobacter* и *Shewanella*. Общее количество полученных накопительных культур – 9. В ходе работ по выделению экстремофильных железоредуцирующих изолятов получено два вида устойчивых колоний. Рост на среде, содержащей ацетат железа (III) и нитрат железа (III), свидетельствует о процессе Fe(III)-восстановления у исследуемых изолятов. Изоляты показали интенсивное восстановление железа после 72 ч культивирования: 409 и 407 мкг/мл.
Полученные изоляты способны к железоредукции, что делает их приоритетными для исследований с целью получения микробной энергии. Показано, что изоляты относятся к видам *Shewanella algae* и *Geobacter sulfurreducens*, что подтверждается результатами морфологического и филогенетического анализа 16S РНК.

**Ключевые слова.** Микробная энергия, микробный электросинтез, микробный топливный элемент, экстремофильные микроорганизмы, микробиота, термальный источник

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) (стипендия Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики на 2021–2023 гг., приказ Минобрнауки России от 26.01.2021 № 54). Тема проекта «Энергоэффективная экологически чистая технология получения электроэнергии с использованием биомассы термальных источников».

**Для цитирования:** Филогенетическое разнообразие микроорганизмов источника Абаканский Аржан – потенциальных продуцентов микробной энергии / А. И. Дмитриева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 458–468. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2384

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2384
https://elibrary.ru/RZBSPB

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Phylogenetic Diversity of Microorganisms from the Abakan Arzhan Thermal Spring: Potential Producers of Microbial Energy

**Anastasiya I. Dmitrieva[1,*], Elizaveta R. Faskhutdinova[1], Margarita Yu. Drozdova[1], Sergei S. Kutuzov[2], Larisa A. Proskuryakova[1]**

[1] *Kemerovo State University, Kemerovo, Russia*

[2] *Middle School of General Education №34, Krasnobrodsky, Russia*

*Received: 22.03.2021*
*Revised: 20.04.2022*
*Accepted: 04.05.2022*

**Anastasiya I. Dmitrieva: a_piskaeva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8764-4049*
*Elizaveta R. Faskhutdinova: https://orcid.org/0000-0001-9711-2145*
*Margarita Yu. Drozdova: https://orcid.org/0000-0002-9499-9470*
*Sergei S. Kutuzov: https://orcid.org/0000-0001-8807-5573*
*Larisa A. Proskuryakova: https://orcid.org/0000-0002-9583-9161*

*© A.I. Dmitrieva, E.R. Faskhutdinova, M.Yu. Drozdova, S.S. Kutuzov, L.A. Proskuryakova, 2022*

**Abstract.**
Microbial energy is a promising area of innovative development in bio- and nanotechnology. Recent studies have revealed that microbial communities of thermal springs have excellent implementation prospects in this area. The present article introduces the microbial diversity of the Abakan Arzhan thermal spring and their isolates that are potentially applicable in microbial electricity synthesis.
The research featured microbial isolates obtained from a microbiota analysis of water and slit samples from the Abakan Arzhan thermal spring. The study involved a metagenomic analysis of the microbial community, as well as such molecular biology methods as nucleic acid extraction, PCR, sequencing, phylogenetic, and bioinformatic analysis. The Silva library was used to compare 16S RNA sequences
*Firmicutes*, *Bacteroides*, and *Proteobacteria* proved to be the dominant phylotypes for water samples, while *Firmicutes*, *Thermomonas*, *Gammaproteobacteria*, and *Proteobacteria* were the dominant phylotypes for slit samples. The analysis of minor phylotypes confirmed the presence of *Geobacter* and *Shewanella* in the samples. The total number of obtained enrichment cultures was nine. Two types of resistant colonies were discovered during the isolation of extremophilic iron-reducing isolates. The samples were grown on a medium containing iron (III) acetate and iron (III) nitrate, and the isolates appeared to be in the process of Fe(III) reduction. The isolates showed an intense iron recovery of 409 and 407 µg/mL after 72 h of cultivation. The study confirmed the ability of the acquired isolates to reduce iron, making them a priority for future microbial energy research. The isolates belonged to the *Shewanella* algae and *Geobacter sulfurreducens* species, as determined by 16S RNA morphology and phylogenetic analyses.

**Keywords.** Microbial energy, microbial electrosynthesis, microbial fuel cell, extremophilic microorganisms, microbiota, thermal springs

**Funding.** The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka) as part of the Grant of the President of the Russian Federation for young scientists and postgraduate students working in priority areas of modernization of the Russian economy (SP 2021–2023), project topic: “Energy-efficient environmentally friendly technology for generating electricity from thermal spring biomass”.

**For citation:** Dmitrieva AI, Faskhutdinova ER, Drozdova MYu, Kutuzov SS, Proskuryakova LA. Phylogenetic Diversity of Microorganisms from the Abakan Arzhan Thermal Spring: Potential Producers of Microbial Energy. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):458–468. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2384

**Введение**

Горячий источник Абаканский Аржан находится в Таштыпском районе республики Хакасия (51°47’53.9»N 88°15’01.1»E). Согласно гидрохимическим и геоструктурным исследованиям воды источника кремнистые, имеют нейтральный pH 7,2 и температуру 37–40 °C [1, 2]. Т. А. Олигер исследовал химический состав воды источника Абаканский Аржан (табл. 1) [3].

На большое содержание кремниевых кислот в составе оказывает влияние температура и давление. Содержание кремниевых кислот выше 100 мг/л характерно для высокотермальных вод с температурой > 70 °C [1].

Экстремофилы – это микроорганизмы, способные жить и размножаться в экстремальных условиях среды. Существует множество классов экстремофилов, классифицированные по условиям окружающей среды. В отношении микробного набора термальных источников можно выделить наиболее изученные рода, среди которых экстремофильные прокариоты-деструкторы водорода, сероводорода, метана и других простых газов, а также сложных полимеров [4, 5].

Данные об изучении микробиоты источника Абаканский Аржан отсутствуют. Однако, согласно существующим исследованиям, термальные источники со схожим химическим составом обладают уникальным микробным сообществом, отдельные представители которого могут использоваться для создания микробных топливных элементов с целью получения чистой энергии [5–8]. Микробные топливные элементы – это биоэлектрическая система, включающая анод и катод, разделенные специальной мембраной, и применяющаяся с целью получения электроэнергии по средствам окисления субстрата, находящегося в камере, с помощью микроорганизмов. Это перспективные и безопасные источники энергии.

Таблица 1. Химический состав воды источника Абаканский Аржан
Table 1. Chemical composition of water from the Abakan Arzhan spring

| Элемент | Содержание | | |
|---|---|---|---|
| | мг/л | мг-экв/л | экв-% |
| Калий | 2,00 ± 0,10 | 0,05 ± 0,01 | 1,00 ± 0,10 |
| Натрий | 30,00 ± 0,50 | 1,33 ± 0,10 | 29,00 ± 0,50 |
| Магний | 12,00 ± 0,30 | 1,00 ± 0,30 | 22,00 ± 0,45 |
| Кальций | 43,00 ± 0,60 | 2,10 ± 0,10 | 47,00 ± 0,60 |
| Фтор | – | – | – |
| Хлор | 21,00 ± 0,40 | 0,60 ± 0,05 | 13,00 ± 0,25 |
| Оксид серы | 21,00 ± 0,40 | 0,45 ± 0,60 | 10,00 ± 0,20 |
| Гидрокарбонаты | 214,00 ± 0,90 | 3,52 ± 0,15 | 77,00 ± 0,70 |
| Кремниевые кислоты | 75,00 ± 0,70 | – | – |
| Минерализация | 422,00 ± 0,80 | – | – |

Данные установки схожи в техническом исполнении и применяемых материалах. Основой установок является камера или цилиндр, содержащие питательную среду или субстрат. Зависит это от штаммов микроорганизмов, которые применяются в технологии, а также от цели культивирования.

Общий принцип работы микробных топливных элементов заключается в анаэробном окислении субстрата биологическим материалом в анодной камере, отделенной от катодной ионоселективной мембраной. В результате микроорганизмы отдают на анод электроны различными способами. Из-за перехода ионов, имеющих положительный заряд, в катодную область и скапливании электронов на аноде возникает разность потенциалов, генерирующая электрический ток. Мембрана представляет собой небольшой канал, который сужается посередине и находится между катодной и анодной камерами. Она не дает смешиваться средам в камерах. Таким образом, в анодной камере происходит окисление, а в катодной восстановление [9, 10].

Электроны в микробных топливных элементах образуются в процессе сложных биохимических реакций, которые катализируются бактериями [6, 11]. Выбор биокатализатора зависит от субстрата, который определяет мощность и эффективность микробных топливных элементов. Исследовано микробное сообщество бактерий, которое вырабатывало до 0,3 мА [12]. Бактерии, идентифицированные S. Ishii и др. как относящиеся к роду *Rhizobiales*, составляли основную популяцию микробных топливных элементов, в котором в качестве единственного источника углерода выступала целлюлоза. Учеными отмечалась уникальная морфология исследуемых изолятов: наличие нитевидных придатков, которые играют важную роль в электрогенном сообществе, разлагающем целлюлозу. H. Rismani-Yazdi и др. для выработки энергии использовали микробное сообщество, выделенное из рубца крупного рогатого скота [13]. В результате удалось достичь силы тока в 1,5 мА. Однако генерируемая мощность микробных топливных элементов на основе подобных микробных сообществ низкая.

Интересными представляются результаты работ, авторы которых использовали бактерии, восстанавливающие металлы в качестве биокатализаторов в микробных топливных элементах. К таким относят *Geobacter*, *Shewanella*, *Rhodopseudomonas*, *Clostridium* и др. [14–24].

Серия исследований показала, что *Geobacter* и *Shewanella* используют электропроводящие внеклеточные нити (нанопроволока) для переноса электронов на твердые акцепторы, такие как графитовые аноды. Механизм переноса электронов хорошо изучен именно на примере указанных родов. Данные микроорганизмы признаны модельными объектами при исследовании микробного

электросинтеза и металлоредукции [12, 25, 26]. В основе переноса электронов ключевую роль играют мультигемовые цитохромы. Это белки, которые обеспечивают перенос электронов от цитоплазматической мембраны бактериальной клетки на внешнюю оболочку [27, 28]. Однако многие базовые вопросы, касающиеся микробиологии генерации электричества (микробного электросинтеза), до сих пор остаются без ответа.

Микробные топливные элементы для производства электроэнергии позволяют использовать разнообразные субстраты: от чистых соединений до сложных смесей органических веществ, присутствующих в сточных водах. Субстрат включает в себя как органические, так и неорганические материалы. Существует множество субстратов, на которых могут расти экстремофильные бактерии [14, 16, 18, 27]. Однако ученые сходятся во мнении, что выращивать такие штаммы в лабораторных условиях сложно, т. к. эволюционно сообщества данных бактерий выживали в среде с недостатком водорода и кислорода, поэтому их использование и культивирование в лабораторных условиях требует тщательного подхода и понимания факторов конкурентной борьбы микробиологических сообществ за энергию [7, 14]. В лабораториях применяются методы, которые предполагают выращивание больших партий клеток и измерение активности белков. Это сложный и трудоемкий процесс. Другие методы основаны на разрушении клеточных структур, очистке и исследовании белков [18, 27, 28].

В качестве питательной среды для таких штаммов учеными предлагается использовать либо стандартные лабораторные среды, либо отходы, содержащие органические соединения [3, 4, 13, 17].

Целью настоящей работы является выявление и анализ бактериальных изолятов источника Абаканский Аржан для поиска ключевых продуцентов микробной энергии.

**Объекты и методы исследования**

Объектами исследования являлись образцы воды и ила термального источника Абаканский Аржан (Россия, Республика Хакасия, Таштыпский район, 51°47›53.9»N 88°15›01.1»E) и полученные на следующих этапах исследования бактериальные изоляты.

Сбор образцов проводили в августе – сентябре 2020 г. Пробы по 25 г ила и 25 мл воды отбирали в стерильные контейнеры. Площадь отбора одной точки составляла от 10 до 30 см$^2$. Глубина отбора от 10–30 см ниже уровня донных отложений (табл. 2). Каждый отбор производили в 3-х повторностях.

Герметичные контейнеры с образцами хранили при температуре 4,0 ± 0,5 °C до доставки в лабораторию.

Для получения накопительных культур изолятов готовили 10 % суспензии образцов и высевали на минимальные питательные среды. В качестве источника углерода и донора электронов в минимальных питательных средах использовали 10 мМ ацетата, а также 40 мМ фумарата в качестве акцептора электронов.

Общую микробную численность определяли методом Коха. Чашки Петри инкубировали при температуре 37 °C в течение 72 ч. Учитывали число колоний, вырастающих при посеве 1 мл пробы на чашку Петри.

Морфологию изолятов, наличие пилей и чехла наблюдали с помощью электронного микроскопа (Carl Zeiss, Германия) по стандартным методикам [29, 30]. Также применяли люминесцентную микроскопию на инверсионном микроскопе AxioVert.A1 (Carl Zeiss, Германия) с применением красителя акридинового оранжевого.

Для выявления термотолерантных и экстремофильных изолятов чашки Петри инкубировали при значениях температуры 30–60 °C с шагом 5 °C. Оптимум pH для изолятов определяли по методике измерения удельной скорости роста изолята.

Выделенные изоляты подвергали консервации при температуре –80 °C.

Для выявления способности будущих изолятов к железоредукции использовали среды, которые содержат $Fe(CH_3COO)_3$ и $Fe(NO_3)_3$, впервые предложенные профессором D. RLovley для выращивания железоредуцирующих бактерий, усовершенствованные в последующем [31]. Дополнительно к среде добавляли витамины, микроэлементы и дрожжевой экстракт [32]. Инкубировали при 37,0 ± 0,5 °C в течение 72 ч, строго соблюдая анаэробные условия $CO_2$ в инкубаторе ИЛМ-170-01 (Lamsystems, Россия).

Методику определения способности штаммов к железоредукции подробно описали C. Merino и др. [33]. Авторы использовали фотоколориметрический метод, основанный на определении количества ионов железа (II). Для этого в 500 мкл среды, содержащей

Таблица 2. Схема отбора образцов из источника Абаканский Аржан
Table 2. Sampling scheme from the Abakan Arzhan spring

| № | Тип образца | Объем/масса | Глубина отбора (для ила от уровня донных отложений), см | pH | Температура, °C |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Вода | 25 мл | 30 | 6,8 | 26,5 |
| 2 | Вода | 25 мл | 100 | 6,9 | 37,8 |
| 3 | Вода | 25 мл | 300 | 7,2 | 40,0 |
| 4 | Ил | 25 г | 10 | 7,1 | 25,5 |
| 5 | Ил | 25 г | 20 | 7,2 | 30,0 |
| 6 | Ил | 25 г | 30 | 7,5 | 31,7 |

суспензию изолятов, вносили равное количество *α,ά*-дипиридила. Доводили объем до 3 мл и выдерживали в темном месте в течение 30 мин. После образцы исследовали на фотоэлектроколориметре при длине волны 540 нм и определяли концентрацию ионов $Fe^{2+}$ в мг/л с помощью построения калибровочного графика.

Для метагеномного анализа микробного сообщества экстрагировали нуклеиновые кислоты из образцов с использованием наборов DNEasy PowerSoil Kit и RNeasy PowerSoil Total RNA Kit (Qiagen, Германия). Выделение проводили согласно протоколам производителя.

Для экстракции нуклеиновых кислот из накопительных культур использовали наборы DNEasy Kit и RNeasy Kit (Qiagen, Германия). Выделение проводили согласно протоколам производителя.

Качество выделенных нуклеиновых кислот и оценку целостности РНК определяли на системе капиллярного электрофореза с автосемплером на 8 образцов Qsep1 (Bioptic, Тайвань).

Амплификацию выделенных фрагментов проводили прямым методов, согласно протоколу, описанному G. Muyizer с коллегами [34].

Для амплификации 16 S РНК использовали праймеры 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) и 1525R (5'-AAGGAGGTGWTCCARCC) [30, 35].

Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе АНК-32 (Синтол, Россия) в режиме реального времени при следующих условиях: цикл при 94 °C для денатурации двуцепочечной молекулы ДНК в течение 5 мин, затем 30 циклов при 95 °C в течение 0,5 мин, 55 °C в течение 0,5 мин, 72 °C в течение 1,5 мин и заключительный этап удлинения при 72 °C в течение 10 мин. Для рестрикции использовали HaeIII, HhaI, MnlI, Sau3AI, TaqI.

Секвенирование нуклеотидных последовательностей проводили на платформе MiSeq (Illumina, США) с применением NGS технологий. Для работы использовали готовый набор реагентов от производителя Reagent Kit v3 (Illumina, США). Работу вели по протоколам прибора с незначительными модификациями.

Биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей 16S рРНК проводили по базе данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov), используя алгоритм BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov). В случае необходимости проводили редактирование полученных последовательностей с помощью BioEdit (http://jwbrown.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html).

Для анализа 16S РНК микробиотического сообщества использовали библиотеку Silva (https://www.arb-silva.de), где представлены комплексные, проверенные на качество и регулярно обновляемые наборы данных выровненных последовательностей малых (16S/18S, SSU) и больших субъединиц (23S/28S, LSU) рибосомных РНК (рРНК) для трех доменов: бактерии, археи и эукариоты [36].

Филогенетический анализ проводили с использованием программы MEGA11 (https://www.megasoftware.net).

Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам с использованием

Таблица 3. Разнообразие представителей таксона *Bacteria* в пробах воды и ила

Table 3. Bacterial diversity in water and silt samples

| Номер пробы | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Филотип | Процент от общего числа последовательностей в библиотеке, % | | | | | |
| *Firmicutes* | 34,674 | 23,456 | 54,254 | 34,567 | 29,755 | 13,194 |
| *Bacteroides* | 14,973 | 9,082 | 11,493 | 2,973 | 3,083 | 2,194 |
| *Thiobacillus* | – | – | – | – | – | 1,038 |
| *Betaproteobacteria* | – | – | – | 0,234 | 6,234 | 25,992 |
| *Thermomonas* | 0,274 | 3,682 | 10,763 | 15,972 | 17,254 | 45,723 |
| *Gammaproteobacteria* | – | – | 3,742 | 10,234 | 10,422 | 16,274 |
| *Proteobacteria* | 56,962 | 48,862 | 36,872 | 62,722 | 45,724 | 33,834 |
| *Actinobacteria* | – | – | 3,761 | 5,621 | – | 10,672 |
| Минорные филотипы | Процент от общего числа последовательностей в библиотеке, % | | | | | |
| *Sulfurospirillum* | – | – | – | 0,001 | – | – |
| *Geobacter* | 0,001 | 0,001 | 0,004 | 0,001 | 0,029 | 0,085 |
| *Shewanella* | – | – | 0,001 | 0,003 | 0,078 | 0,098 |
| *Pseudomonas* | – | 0,001 | 0,001 | – | – | – |
| *Achromobacter* | – | – | 0,001 | – | – | 0,001 |
| *Clostridium* | – | – | – | – | – | – |

программного пакета Microsoft Excel 2010 для Windows 7. Для полученных данных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение.

**Результаты и их обсуждение**

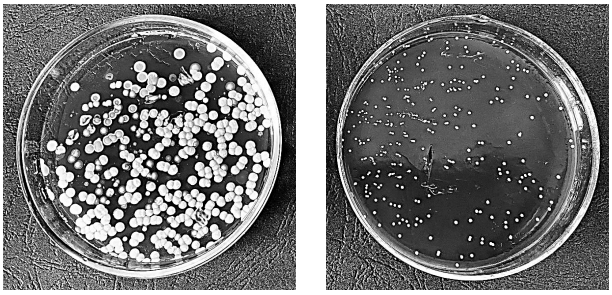
Результаты исследования бактериального разнообразия филотипов в образцах воды и ила приведены в таблице 3.

В таблице 3 представлены данные по филотипам, для которых средний процент находки выше 1 %. Доминирующими филотипами, которые удалось установить, для проб воды являются *Firmicutes*, *Bacteroides и Proteobacteria*, для проб ила – *Firmicutes*, *Thermomonas*, *Gammaproteobacteria* и *Proteobacteria*.

С целью упрощения поиска железоредуцирующих изолятов был произведен анализ минорных филотипов, который подтвердил присутствие в пробах РНК *Geobacter* и *Shewanella*, в меньшем количестве – *Pseudomonas*, *Sulfurospirillum* и *Achromobacter*.

Общее количество полученных накопительных культур из образцов, собранных на источнике Абаканский Аржан, – 9. Данные исследования морфологических и физиологических свойств представлены в таблице 4.

В ходе изучения морфологических и физиологических характеристик изолятов интересными с точки зрения дальнейших исследований представляются изоляты № 1 и 2. Данные представители микробиоты термального источника Абаканский Аржан обладают выраженными экстремофильными свойствами: рост на среде с pH 8,0–8,5, рост при температуре 40 ± 2 и 45 ± 2 °C соответственно. На рисунке 1 представлены два вида устойчивых колонии (изоляты № 1 и 2) на плотной питательной среде. Состав указан в [31].



Изолят № 1 Изолят № 2

Рисунок 1. Изоляты, полученные на среде, содержащей $Fe(CH_3COO)_3$ и $Fe(NO_3)_3$. Изображение колоний после 48 ч инкубации

Figure 1. Isolates obtained on a medium containing $Fe(CH_3COO)_3$ and $Fe(NO_3)_3$ after 48 h of incubation

Морфологические характеристики изолятов представлены на рисунке 2.

Оба изолята на разных стадиях роста имели палочковидную форму. Средняя длина и ширина клеток изолята № 1 составила 4,50 ± 0,08 и 0,80 ± 0,03 мкм, изолят № 2 обладал средней длиной и шириной – 2,20 ± 0,05 и 0,60 ± 0,02 мкм соответственно. Для изолята № 2 наблюдалось незначительное образование диплолочковидных клеток при переходе

Таблица 4. Морфологические и физиологические свойства изолятов

Table 4. Morphological and physiological properties of isolates

| Изолят / Свойства | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 | № 6 | № 7 | № 8 | № 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Длина клетки, мкм | 4,50 ± 0,08 | 2,20 ± 0,05 | 0,80 ± 0,01 | 2,80 ± 0,02 | 3,20 ± 0,06 | 1,90 ± 0,01 | 0,70 ± 0,01 | 2,70 ± 0,05 | 2,20 ± 0,05 |
| Наличие чехла | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Оптимальное значение pH | 8,0–8,5 | 8,0–8,5 | 7,0–8,0 | 7,0–8,0 | 6,0–6,5 | 7,0–8,0 | 7,5–8,5 | 7,0–8,0 | 7,0–8,0 |
| Оптимальная температура, °C | 40 ± 2 | 45 ± 2 | 35 ± 2 | 33 ± 2 | 37 ± 2 | 36 ± 2 | 33 ± 2 | 37 ± 2 | 37 ± 2 |
| Аэробный рост в темноте | + | + | + | – | – | – | + | + | – |
| Наличие пилей | + | + | – | – | ± | – | ± | – | – |

«+» – присутствие признака; «–» – отсутствие признака; «±» – сомнительный признак.
“+” – sign detected; “–” – no sign detected; “±” – a doubtful sign

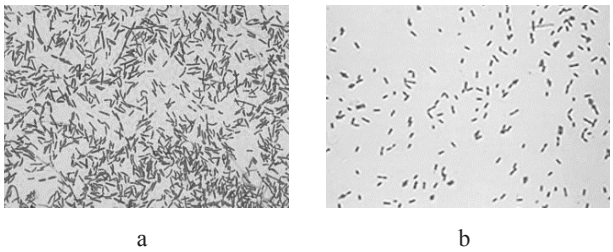



Рисунок 2. Морфология изолятов в логарифмической стадии роста культур: a – изолят № 1; b – изолят № 2. Данные электронной микроскопии, ×100

Figure 2. Morphology of isolates in the logarithmic stage of culture growth: a – isolate 1; b – isolate 2. Electron microscopy, ×100

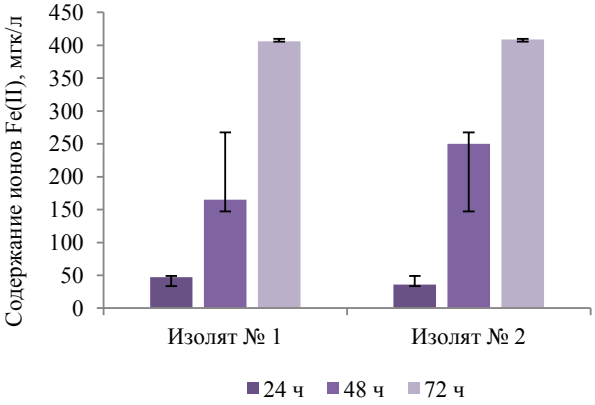



Рисунок 3. Зависимость содержания ионов Fe(II) от изолята и продолжительности культивирования

Figure 3. Effect of isolate and cultivation time on the content of Fe(II) ions

в экспоненциальную стадию роста. Подобные клетки представляют собой недавно разделившиеся клетки.

Рост на среде, содержащей ацетат железа (III) и нитрат железа (III), свидетельствует о процессе Fe(III)-восстановления у исследуемых изолятов. На рисунке 3 представлено содержание ионов Fe(II), мкг/мл, в зависимости от изолята.

Очевидны железоредуцирующие свойства выделенных изолятов. С увеличением времени культивирования содержание ионов железа значительно повышается. Это связано с процессом Fe(III)-восстановления в исследуемых образцах. На графиках роста содержания ионов Fe(II) заметны статистические отклонения, которые появляются через 48 ч культивирования. Авторы объясняют это отличиями в способности штаммов к железоредукции. Интенсивнее восстановление железа проходит в образце с изолятом № 2 после 72 ч культивирования (409 мкг/мл). Однако изолят № 1 также показал существенные редуцирующие свойства спустя 72 ч – 407 мкг/мл. Интересна разница показателей при достижении 48 ч культивирования: изолят № 2 – 250 мкг/мл, изолят № 1 – всего 165 мкг/мл. Культивирование более 72 ч является нецелесообразным, т. к. результаты исследования подтверждают наличие железоредуцирующих свойств у исследуемых изолятов.

Филогенетический анализ изолятов, основанный на сравнении нуклеотидных последовательностей 16S РНК, показал, что штаммы близки между собой и относятся к известным видам (рис. 4 и 5).

Данные филогенетического анализа 16S РНК позволяют отнести изолят № 1 к роду *Shewanella*, а изолят № 2 к роду *Geobacter*. Оба этих таксона включают в себя обширные группы сульфид- и железоредуцирующих бактерий, способных накапливать электрический заряд на своей поверхности [32, 37].

Таким образом, из источника Абаканский Аржан удалось выделить 2 вида железоредуцирующих бактерий: *Shewanella algae* и *Geobacter sulfurreducens*.

**Выводы**

Проблема выработки чистой энергии на сегодняшний день стоит крайне остро. Верным с точки зрения экологии и защиты окружающей среды является применение технологий микробного синтеза электроэнергии. Этот способ производства электричества основывается на способности штаммов микроорганизмов генерировать протоны водорода в среде, содержащей необходимый субстрат. При этом эмиссия $CO_2$ отсутствует. Некоторые микроорганизмы-экстремофилы способны потреблять органические вещества и генерировать энергию. Интерес представляет микробиота горячих источников. По известным данным роды *Shewanella* и *Geobacter* имеют электропроводящие отростки, облегчающие прямой перенос электронов. Они способны превращать органические отходы, в том числе токсичные, в менее опасные вещества и производить в процессе электричество.

Если эта система будет усовершенствована, то микроорганизмы помогут решить две взаимосвязанные глобальные проблемы – загрязнение окружающей среды и получение чистой энергии.

В ходе изучения микробного сообщества термального источника Абакаский Аржан установлено, что доминирующими филотипами являются *Firmicutes*, *Bacteroides* и *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Thermomonas*, *Gammaproteobacteria* и *Proteobacteria*. Удалось установить наличие схожих последовательностей 16S РНК для филотипов *Shewanella* и *Geobacter* в собранных образцах. Это подтверждает теорию о присутствии железоредуцирующих видов в образцах.

Рисунок 4. Филогенетическое древо изолята № 1, построенное с помощью метода максимального правдоподобия (Maximum Likelihood). Масштаб эволюционных расстояний соответствует 2 заменам на 100 аминокислот последовательности

Figure 4. Phylogenetic tree of isolate 1 by the Maximum Likelihood method. Evolutionary scale: two substitutions per 100 amino acids

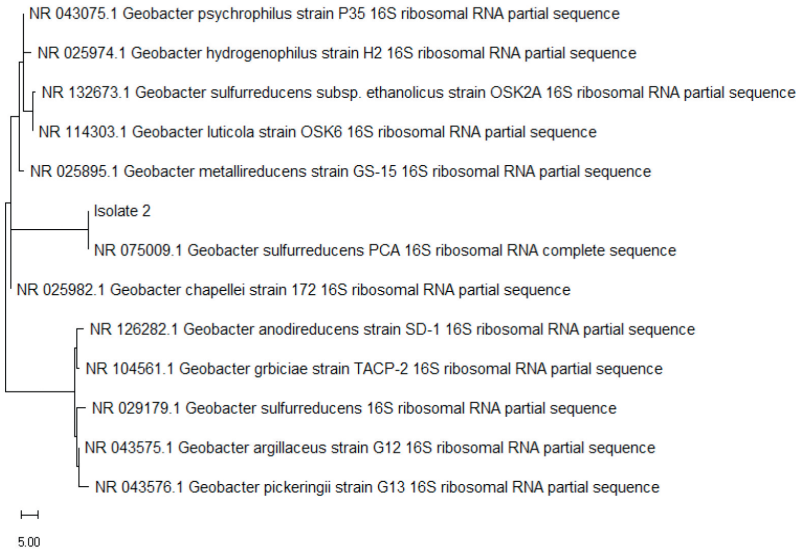



Рисунок 5. Филогенетическое древо изолята № 2, построенное с помощью метода максимального правдоподобия (Maximum Likelihood). Масштаб эволюционных расстояний соответствует 2 заменам на 100 аминокислот последовательности

Figure 5. Phylogenetic tree of isolate 2 by the Maximum Likelihood method. Evolutionary scale: two substitutions per 100 amino acids

Эксперименты по изоляции отдельных видов микробного сообщества позволили получить 9 накопительных культур, 2 из которых показали рост на среде, содержащей ацетат железа (III) и нитрат железа (III). Это свидетельствует о процессе Fe(III)-восстановления. Интенсивнее восстановление железа проходило в образце с изолятом № 2 (*Geobacter sulfurreducens*) после 72 ч культивирования (409 мкг/мл). Однако изолят № 1 (*Shewanella algae*) также показал существенные редуцирующие

свойства 407 мкг/мл. Исходя из представленных данных, актуальным представляется использование и дальнейшее изучение двух видов изолятов, определенных в результате филогенетического и биоинформатического анализов как *S. algae* и *G. sulfurreducens*.

Представленные результаты исследования легли в основу дальнейших экспериментов, направленных на изучение процесса микробного электросинтеза с помощью выделенных изолятов экстремофильных бактерий, а также на конструирование пробного образца микробных топливных элементов и интенсификацию процесса микробного электросинтеза.

Ближайшие аналоги данной технологии предлагают использовать экстремофильные штаммы, не способные активно потреблять органические субстраты. Следовательно, основными отличиями технологии являются не только возможность получения электроэнергии с помощью микробного синтеза, но и переработка сложных органических отходов (включая нативные субстраты сельского хозяйства: коллаген, кератин, эластин). Таким образом, конечной целью применения технологии микробного синтеза авторы ставят утилизацию и очистку сточных вод пищевых и перерабатывающих предприятий [38].

**Критерии авторства**

А. И. Дмитриева руководила научной работой и обеспечивала выполнение экспериментальной части в области молекулярно-биологических исследований. М. Ю. Дроздова и Е. Р. Фасхутдинова обеспечивали выполнение лабораторной части экспериментов по исследованию морфологических и физиологических признаков, а также выделению накопительных культур экстремофльных изолятов. С. С. Кутузов и Л. А. Проскурякова обеспечивали подготовку аналитической части исследования.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Contribution**

A.I. Dmitrieva supervised the research and performed the experimental part in the field of molecular biological research. M.Yu. Drozdova and E.R. Faskhutdinova were responsible for the laboratory study of morphological and physiological characteristics, as well as the isolation of enrichment cultures of extreme isolates. S.S. Kutuzov and L.A. Proskuryakova provided the analytical part of the study.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**References/Список литературы**

1. Baryshnikov GYa, Eliseev VA. Siliceous structure of thermal medical waters in Altai-Sayan highland. Izvestiya of Altai State University. 2009;63(3):41–47. (In Russ.). [Барышников Г. Я., Елисеев В. А. Термальные лечебные воды кремнистого состава Алтае-Саянской горной страны // Известия Алтайского государственного университета. 2009. Т. 63. № 3. С. 41–47.].

2. Alekin OA. The Abakan Arzhan thermal spring. Proceedings of the State Hydrological Institute. 1932;(47):41–53. (In Russ.). [Алекин О. А. Термальный источник Абаканский Аржан // Известия государственного гидрологического института. 1932. № 47. С. 41–53.].

3. Oliger TA. The Abakan Arzhan thermal spring. Barnaul; 1981. 204 p. (In Russ.). [Олигер Т. А. Минеральный источник Абаканский. Барнаул, 1981. 204 с.].

4. Bonch-Osmolovskaya EA, Gorlenko VM, Karpov GA, Starynin DA. Anaerobic destruction of organic matter of microbial mats from the Thermophilic spring (Uzon caldera, Kamchatka). Microbiology. 1987;(56):1022–1028. (In Russ.). [Анаэробная деструкция органического вещества микробных матов источника Термофильного (кальдера Узон, Камчатка) / Е. А. Бонч-Осмоловская [и др.] // Микробиология. 1987. № 56. С. 1022–1028.].

5. Jiang Y, Song R, Cao L, Su Z, Ma Y, Liu Y. Harvesting energy from cellulose through Geobacter sulfurreducens in Unique ternary culture. Analytica Chimica Acta. 2019;1050:44–50. https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.10.059

6. Gul H, Raza W, Lee J, Azam M, Ashraf M, Kim K-H. Progress in microbial fuel cell technology for wastewater treatment and energy harvesting. Chemosphere. 2021;281. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130828

7. Wang H, Qi X, Chen S, Wang X. The efficient treatment of breeding wastewater by an electroactive microbial community in microbial fuel cell. Journal of Environmental Chemical Engineering. 2022;10(2). https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107187

8. Liang P, Duan R, Jiang Y, Zhang X, Qiu Y, Huang X. One-year operation of 1000-L modularized microbial fuel cell for municipal wastewater treatment. Water Research. 2018;141:1–8. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.066

9. Singh V. Microbial cell factories engineering for production of biomolecules. Academic Press; 2021. 462 p. https://doi.org/10.1016/C2019-0-03952-0

10. Sánchez C, Dessì P, Duffy M, Lens PNL. Microbial electrochemical technologies: Electronic circuitry and characterization tools. Biosensors and Bioelectronics. 2020;150. https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111884

11. Greenman J, Gajda I, You J, Mendis BA, Obata O, Pasternak G, *et al.* Microbial fuel cells and their electrified biofilms. Biofilm. 2021;3. https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2021.100057

12. Ishii S, Shimoyama T, Hotta Y, Watanabe K. Characterization of a filamentous biofilm community established in a cellulose-fed microbial fuel cell. BMC Microbiology. 2008;8. https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-6

13. Rismani-Yazdi H, Christy AD, Dehority BA, Morrison M, Yu Z, Tuovinen OH. Electricity generation from cellulose by rumen microorganisms in microbial fuel cells. Biotechnology and Bioengineering. 2007;97(6):1398–1407. https://doi.org/10.1002/bit.21366

14. Ye Y, Liu X, Nealson KH, Rensing C, Qin S, Zhou S. Dissecting the structural and conductive functions of nanowires in *Geobacter sulfurreducens* electroactive biofilms. mBio. 2022;13(1). https://doi.org/10.1128/mbio.03822-21

15. Hu Y, Wang Y, Han X, Shan Y, Li F, Shi L. Biofilm biology and engineering of *Geobacter* and *Shewanella* spp. for energy applications. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2021;9. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.786416

16. Lovley DR, Walker DJF. *Geobacter* protein nanowires. Frontiers in Microbiology. 2019;10. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02078

17. Toporek YJ, Mok JK, Shin HD, Lee BD, Lee MH, DiChristina TJ. Metal reduction and protein secretion genes required for iodate reduction by *Shewanella oneidensis*. Applied and Environmental Microbiology. 2019;85(3). https://doi.org/10.1128/AEM.02115-18

18. Jing X, Wu Y, Shi L, Peacock CL, Ashry NM, Gao C, *et al.* Outer membrane *c*-type cytochromes OmcA and MtrC play distinct roles in enhancing the attachment of *Shewanella oneidensis* MR-1 cells to goethite. Applied and Environmental Microbiology. 2020;86(23):1–17. https://doi.org/10.1128/AEM.01941-20

19. Zarei M, Mir-Derikvand M, Hosseinpour H, Samani TR, Ghasemi R, Fatemi F. U (VI) tolerance affects *Shewanella* sp. RCRI7 biological responses: growth, morphology and bioreduction ability. Archives of Microbiology. 2021;204(1). https://doi.org/10.1007/s00203-021-02716-6

20. Thulasinathan B, Nainamohamed S, Ebenezer Samuel JO, Soorangkattan S, Muthuramalingam JB, Kulanthaisamy M, *et al.* Comparative study on *Cronobacter sakazakii* and *Pseudomonas otitidis* isolated from septic tank wastewater in microbial fuel cell for bioelectricity generation. Fuel. 2019;248:47–55. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.03.060

21. Pankan AO, Yunus K, Fisher AC. Mechanistic evaluation of the exoelectrogenic activity of *Rhodopseudomonas palustris* under different nitrogen regimes. Bioresource Technology. 2020;300. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122637

22. Liu C-H, Lee S-K, Ou I-C, Tsai K-J, Lee Y, Chu Y-H, *et al.* Essential factors that affect bioelectricity generation by *Rhodopseudomonas palustris* strain PS3 in paddy soil microbial fuel cells. International Journal of Energy Research. 2021;45(2):2231–2244. https://doi.org/10.1002/er.5916

23. Angelia C, Sanjaya A, Aida, Tanudjaja E, Victor H, Cahyani AD, *et al.* Characterization of alpha-amylase from aspergillus niger aggregate F isolated from a fermented cassava gatot grown in potato peel waste medium. Microbiology and Biotechnology Letters. 2019;47(3):364–371. https://doi.org/10.4014/mbl.1811.11011

24. Yang Y, Xu P, Dong S, Yu Y, Chen H, Xiao J. Using watermelon rind and nitrite-containing wastewater for electricity production in a membraneless biocathode microbial fuel cell. Journal of Cleaner Production. 2021;307. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127306

25. Otero FJ, Chan CH, Bond DR. Identification of different putative outer membrane electron conduits necessary for Fe(III) Citrate, Fe(III) Oxide, Mn(IV) oxide, or electrode reduction by *Geobacter sulfurreducens*. Journal of Bacteriology. 2018;200(19). https://doi.org/10.1128/JB.00347-18

26. Boedicker JQ, Gangan M, Naughton K, Zhao F, Gralnick JA, El-Naggar MY. Engineering biological electron transfer and redox pathways for nanoparticle synthesis. Bioelectricity. 2021;3(2):126–135. https://doi.org/10.1089/bioe.2021.0010

27. Liu X, Holmes DE, Walker DJF, Li Y, Meier D, Pinches S, *et al.* Cytochrome OmcS is not essential for extracellular electron transport via conductive pili in *Geobacter sulfurreducens* strain KN400. Applied and Environmental Microbiology. 2022;88(1). https://doi.org/10.1128/AEM.01622-21

28. Fernandes TM, Morgado L, Turner DL, Salgueiro CA. Protein engineering of electron transfer components from electroactive *Geobacter* bacteria. Antioxidants. 2021;10(6). https://doi.org/10.3390/antiox10060844

29. Boone DR, Castenholz RW, Garrity GM. Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume One: The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria. New York: Springe; 2001. 722 p. https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6

30. Andreeva A, Budenkova E, Babich O, Sukhikh S, Ulrikh E, Ivanova S, *et al.* Production, purification, and study of the amino acid composition of microalgae proteins. Molecules. 2021;26(9). https://doi.org/10.3390/molecules26092767

31. Gadol HJ, Elsherbini J, Kocar BD. Methanogen productivity and microbial community composition varies with iron oxide mineralogy. Frontiers in Microbiology. 2022;12. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705501

32. Zhan Y, Yang M, Zhang Y, Yang J, Wang W, Yan L, *et al.* Iron and total organic carbon shape the spatial distribution pattern of sediment Fe(III) reducing bacteria in a volcanic lake, NE China. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2021;37(9). https://doi.org/10.1007/s11274-021-03125-z

33. Merino C, Kuzyakov Y, Godoy K, Jofré I, Nájera F, Matus F. Iron-reducing bacteria decompose lignin by electron transfer from soil organic matter. Science of the Total Environment. 2020;761. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143194

34. Muyizer G, De Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology. 1993;59(3):695–700. https://doi.org/10.1128/aem.59.3.695-700.1993

35. Prosekov AYu, Babich OO, Bespomestnykh KV. Identification of industrially important lactic acid bacteria in foodstuffs. Foods and Raw Materials. 2013;1(2):42–45. https://doi.org/10.12737/2053

36. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Research. 2013;41:D590–D596. https://doi.org/10.1093/nar/gks1219

37. Schmidt TM, Arieli B, Cohen Y, Padan E, Strohl WR. Sulfur metabolism in Beggiatoa alba. Journal of bacteriology. 1987;169(12):5466–5472. https://doi.org/10.1128/jb.169.12.5466-5472.1987

38. Prosekov AYu, Timoshchuk IV, Gorelkina AK. On the issue of the use of waste from water desalting ion exchange units of power plants. Theoretical and Applied Ecology. 2021;(4):127–132. (In Russ.). https://doi.org/10.25750/1995-4301-2021-4-127-132

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2383
https://elibrary.ru/VLWIRO

Обзорная статья
https://fptt.ru

# Анализ возможностей извлечения органических соединений пивной дробины различными способами

**И. Н. Грибкова*, Л. Н. Харламова, Е. М. Севостьянова, И. В. Лазарева, М. А. Захаров, О. А. Борисенко**

*Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности – филиал «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН, Москва, Россия*

*Поступила в редакцию: 18.03.2022*
*Принята после рецензирования: 12.04.2022*
*Принята к публикации: 04.05.2022*

**И. Н. Грибкова: institut-beer@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4373-5387*
*Л. Н. Харламова: https://orcid.org/0000-0002-5184-5842*
*Е. М. Севостьянова: https://orcid.org/0000-0001-8307-8329*
*И. В. Лазарева: https://orcid.org/0000-0002-9167-7441*
*М. А. Захаров: https://orcid.org/0000-0002-4569-3088*
*О. А. Борисенко: https://orcid.org/0000-0001-7430-4400*

*© И. Н. Грибкова, Л. Н. Харламова, Е. М. Севостьянова, И. В. Лазарева, М. А. Захаров, О. А. Борисенко, 2022*

**Аннотация.**
Пивная дробина является отходом пивоваренного производства и содержит в себе ценные биологически активные вещества, извлечение которых затруднено из-за присутствия различных полимеров, осложняющих экстракцию. Проведен анализ возможности извлечения полезных органических соединений инновационными способами глубокой переработки, в том числе экологичными, разрушающими внутренние структуры матрицы растительного сырья. Целью работы являлось исследование аналитических источников в отношении переработки пивной дробины как источника вторичных сырьевых ресурсов для получения органических соединений растительной матрицы различными методами в условиях развивающихся научных подходов, что решает актуальные вопросы экологизации пивоваренной промышленности.
Изучалась зарубежная и отечественная аналитическая база научно-технической литературы за последние 5–10 лет (Scopus, Web of Science, RSCI и ВАК) по изучению структуры дробины и методов извлечения органических соединений различной природы с применением методов анализа и обобщения данных.
Наряду с классическими способами переработки дробины (кислотная, щелочная и ферментативная) были приведены физические и механические способы переработки, направленные на извлечение биогенных пептидов, фенольных соединений и жирных кислот. Показано, что характер обработки зависит от вида извлекаемого соединения. Для извлечения редуцирующих соединений, предназначенных для сорбции, наиболее эффективно воздействие высоких температур (выше 150 °C). Комбинированная обработка кислотами или щелочами целлюлозо-лигниного комплекса позволяет добиться выхода 76,2 % гемицеллюлоз. Кислотный гидролиз арабиноксиланов эффективен при температурах 120–160 °C. Щелочной совместно с физической обработкой позволяет достичь 60 % арабиноксиланов в смеси с фенольными соединениями. При извлечении азотосодержащих, фенольных и липидных соединений наибольшее значение имеет степень измельчения биоматериала и органический растворитель, позволяющие добиться сохранения пространственной структуры и высокого выхода (до 86 %) полезного органического соединения. Показано применение ультрафильтрации, которая позволяет сконцентрировать выделяемое биогенное соединение с сохранением его активности с выходом до 95 %.
Проведенный анализ позволил сделать заключение о перспективности переработки пивной дробины экологичными способами, позволяющими достичь высокой степени выхода и чистоты получаемых органических соединений, что актуально для получения биоактивных соединений (пептиды, фенольные соединения, жирные кислоты).

**Ключевые слова.** Зерновая дробина, экологизация, биогенные пептиды, фенольные соединения, целлюлоза, гемицеллюлоза, физико-химические методы, инновационные технологии

**Финансирование.** Работа выполнена на базе Всероссийского научно-исследовательского института пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности (ВНИИПБиВП).

**Для цитирования:** Анализ возможностей извлечения органических соединений пивной дробины различными способами / И. Н. Грибкова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 469–489. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2383

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2383
https://elibrary.ru/VLWIRO

Review article
Available online at https://fptt.ru/en

# Extracting Organic Compounds from Brewer's Spent Grain by Various Methods

**Irina N. Gribkova*, Larisa N. Kharlamova, Elena M. Sevostianova, Irina V. Lazareva, Maxim A. Zakharov, Olga A. Borisenko**

*All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia*

*Received: 18.03.2022*
*Revised: 12.01.2022*
*Accepted: 04.05.2022*

**Irina N. Gribkova: institut-beer@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4373-5387*
*Larisa N. Kharlamova: https://orcid.org/0000-0002-5184-5842*
*Elena M. Sevostianova: https://orcid.org/0000-0001-8307-8329*
*Irina V. Lazareva: https://orcid.org/0000-0002-9167-7441*
*Maxim A. Zakharov: https://orcid.org/0000-0002-4569-3088*
*Olga A. Borisenko: https://orcid.org/0000-0001-7430-4400*

*© I.N. Gribkova, L.N. Kharlamova, E.M. Sevostianova, I.V. Lazareva, M.A. Zakharov, O.A. Borisenko, 2022*

**Abstract.**
Brewer's spent grain is a brewing industry waste product that contains various valuable biologically active substances. However, polymers can complicate their extraction. This article focuses on innovative extraction methods, including sustainable deep processing that destroys the internal structures of plant matrix. The research objective was to review publications on the sustainable brewer's spent grain processing as a source of secondary raw materials and plant matrix organic compounds.
The study featured the last 5–10 years of foreign and domestic analytical and technical publications on grain structure and extraction methods.
Unlike the traditional acidic, alkaline, and enzymatic methods of grain processing, physical and mechanical methods aim at extracting biogenic peptides, phenolic compounds, and fatty acids. The nature of the processing depends on the type of the extracted compound. Thus, for the extraction of reducing compounds intended for sorption, exposure to high temperatures (≥ 150°C) is the most effective method. A combined treatment with acids or alkalis of the cellulose-lignin complex makes it possible to achieve a 76.2% yield of hemicelluloses. Acid hydrolysis of arabinoxylans is effective at 120–160°C. Alkaline hydrolysis combined with physical treatment makes it possible to reach 60% of arabinoxylans in a mix with phenolic compounds. When extracting nitrogen-containing, phenolic, and lipid compounds, the degree of grinding of the biomaterial and the organic solvent is of great importance. The optimal degree makes it possible to preserve the spatial structure while maintaining a high yield (86%) of organic compounds. Ultrafiltration concentrates the isolated biogenic compound and preserves its activity with a high yield of up to 95%.
The analysis proved that the brewer's spent grain processing can be both feasible and environmentally friendly. It produces a high yield of pure organic compounds, e.g., peptides, phenolic compounds, fatty acids, etc.

**Keywords.** Spent grain, greening, biogenic peptides, phenolic compounds, celluloses, hemicelluloses, physical and chemical methods, innovative technologies

**Funding.** The research was performed within the contract All-Russian Research Institute of Brewing, Non-alcoholic and Wine Industry (VNIIPBiVP).

**For citation:** Gribkova IN, Kharlamova LN, Sevostianova EM, Lazareva IV, Zakharov MA, Borisenko OA. Extracting Organic Compounds from Brewer's Spent Grain by Various Methods. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):469–489. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2383

## Введение

Зерновая дробина является отходом пивоваренного производства. Трудности ее сохранения для дальнейшей переработки состоят в том, что она содержит 85 % влаги, быстро портится и имеет ограниченную транспортабельную способность. Сухие вещества отработанного зернового сырья (около 15 %) включают нерастворимые ткани-оболочки, представляющие собой 35–60 % целлюлозо-лигнинных комплексов, и азотистые соединения, содержащие

до 15–26 % белковых молекул [1]. Вес белковых молекул составляет от 5 до 30 кДа [2]. Функция углеводно-белкового комплекса состоит в обеспечении каркасной безопасности эндосперма зерна при созревании на колосе и при дальнейшей биохимической переработке [3]. На рисунке 1 представлены фотографии структур пивной дробины [4].

Высокомолекулярные целлюлозы ассоциированы с азотистыми (пептидами, аминокислотами), фенольными (фенольными кислотами, флаван-3-олами) и прочими классами соединений, представляющими интерес из-за своей высокой биологической ценности. В таблице 1 представлен состав пивной дробины в аспекте перспективных с точки зрения извлечения органических соединений (табл. 1).

Согласно данным таблицы 1 большинство органических соединений дробины находятся в связанной форме. Поэтому ее подвергают глубокой переработке.

Целью данной работы являлось исследование аналитических источников относительно ресурсосберегающих технологий по глубокой переработке пивной дробины для экологизации пивоваренной промышленности для получения органических соединений растительной матрицы различными методами в условиях развивающихся научных подходов.

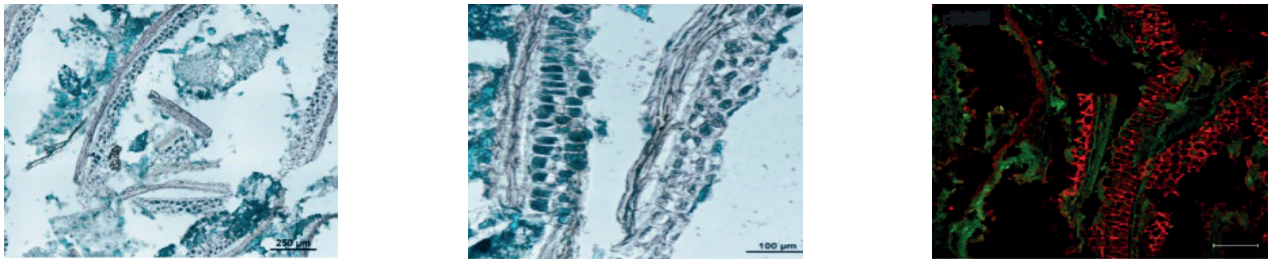
**Объекты и методы исследования**

Материалами для исследования послужили научные и аналитические данные зарубежных и отечественных источников информации (Scopus и Web of Science, RSCI и ВАК). В качестве методов исследования применялись мониторинг и анализ источников информации, а также их систематизация и обобщение для подведения итогов исследовательской работы.

**Результаты и их обсуждение**

***Производство сорбентов.*** Дробину как потенциальный биосорбент стали рассматривать недавно. Сорбционной активностью, например, в случае металлов, обладают гидроксильные, карбонильные и карбоксильные функциональные группы [17]. В работе O. C. Izinyon и др. для повышения сорбционной способности дробины применялся щелочной гидролиз (обработка 0,5 M NaOH), позволяющий разорвать ковалентные и эфирные связи между лигнинами, гемицеллюлозами и прочими сложными углеводами, отсоединить фенольные молекулы и создать большее количество функциональных групп для сорбирования [18]. Кроме того, для увеличения карбоксильных групп целлюлозосодержащих биоматериалов применялись оксиды азота, перманганаты и пероксиды, а также стабильные и непостоянные нитроксильные радикалы [19–21]. Существуют исследования, направленные на модификацию целлюлозы в составе дробины с получением сополимерного материала полиакриловой кислотой и полиакриламидом для сорбции ионов хрома [22]. Однако подобная активация дробины пригодна для непищевых систем из-за применения опасных химических соединений.

Для увеличения сорбционной способности дробины применяли прием химической этерификации и функционализации тиоловых групп в составе азотсодержащих соединений [23, 24]. Применяли гидротермальные принципы обработки дробины при температуре 150 °C [25]. Авторы отметили, что, помимо образования кислородсодержащих функциональных групп, образуются азотсодержащие группы, которые также вовлекаются в процесс адсорбции [25]. Применение температуры обработки дробины более 800 °C, приводящее к пиролизу, позволило получить активированный уголь с




a b c

Рисунок 1. Микрофотографии сырой пивной дробины разрешением 250 (a) и 100 мкм (b) – белки окрашены в зеленый цвет, а соединения целлюлозно-лигнинного комплекса – в коричневый; микрофотографии с разрешением 25 мкм (c) – арабиноксиланы окрашены красным, морфологическая структура дробины окрашена флуорисцирующим зеленым

Figure 1. Micrographs of raw brewer's spent grain with a resolution of 250 (a) and 100 µm (b): green – proteins, brown – cellulose-lignin complex; micrographs with a resolution of 25 µm (c): red – arabinoxylans, fluorescent green – morphological structure

Таблица 1. Профиль органических соединений пивной дробины

Table 1. Organic compound profile of brewer's spent grain

| Класс органического соединения | Связанные с ним соединения | Структурная единица основной цепи | Ссылка |
|---|---|---|---|
| Гемицеллюлозы (арабиноксилан) | Целлюлоза, азотистые соединения, лигнин, монофенолы | *β*-(1,4)-связанные остатки ксилозы | [5–9] |
| Целлюлоза | (1–3,1–4)-*β*-D-глюкан и крахмал | *β*-(1,4)-связанные остатки глюкозы | |
| Лигнин | – | Разветвленная цепь спиртов-производных из р-кумаровой, кониферилoвой и синаповой кислот | |
| Азотистые соединения (5–20 кДа) | Арабиноксиланы | Пептиды гордеинов, глютелинов, глобулинов и альбуминов | [10] |
| Биогенные пептиды | Азотистые соединения | Лизинсодержащие соединения | |
| Аминокислоты: заменимые (гистидин, глютаминовая и аспартамовая кислоты, валин, аргинин, серин, тирозин, глицин, аспарагин, глютамин) и незаменимые (лизин, лейцин, фенилаланин, изолейцин, треонин, триптофан, метионин) | Азотистые соединения | Аминокислоты | [3, 11] |
| Фенолы: монофенольные связанные формы (5,7-дигидроксихромон, ванильная, кофейная, р-кумаровая, о-кумаровая, феруловая, изоферуловая и синаповая кислоты) и связанные формы димеров фенолов (кверцетин, рутин, катехин, эпикатехин) | Азотистые соединения, лигнины | Связь со структурой лигнина | [4, 12] |
| Свободные монофенолы: феруловая, р-кумаровая, дигидроферуловая и дигидрокофейная кислоты | | | |
| Уроновые кислоты | Арабиноксилан | Углеводородная цепь с карбонильными группами | [13] |
| Липиды (моно- и полиненасыщенные жирные кислоты, длинноцепочечые насыщенные жирные кислоты, капроновая, каприловая, каприновая, лауриновая, миристиновая, пентадекановая, пальметиновая, гексадекановая, пальмитолеиновая, маргариновая, гептадеценовая, стеариновая, олеиновая, васценовая, линоленовая, линоэлаидная, *α*-линоленовая, арахидоновая, 11-эукозеновая, эуказадиеновая, генеэукозановая, бегеновая, эруковая, трикозановая, лигноцериновая, нервоновая и азелаиновая кислоты) | Арабиноксилан, целлюлоза, азотистые соединения | Эфиры глицеролов и жирных кислот или свободные формы | [13–15] |
| Минеральные соединения (кремний, фосфор, кальций, кобальт, медь, магний, железо, калий, селен, натрий, сера) | Азотистые соединения, *β*-глюканы | – | [16] |
| Витамины (биотин, ниацин, холин, рибофлавин и тиамин, фолиевая и пантотеновая кислоты, пироксидин) | Минеральные и азотистые соединения | – | [16] |

повышенным содержанием азота для адсорбции фенолов [26].

В таблице 2 приведены методы повышения сорбционной способности дробины и эффективность сорбентов.

Температурная обработка структуры пивной дробины дает более устойчивые продукты, чем химическая, поскольку позволяет глубоко влиять на преобразование органических соединений растительной матрицы. Химическая обработка структуры дробины с целью получения сорбента влечет за собой потерю эффективности функциональных групп в процессе применения в результате

Таблица 2. Характеристики сорбционной активности пивной дробины

Table 2. Sorption activity of brewer's spent grain

| Сорбируемое соединение/ элемент | Применяемые реагенты/ воздействие | Соединения-мишени | Условия обработки | Сорбционная емкость продукта | Ссылки |
|---|---|---|---|---|---|
| Химические методы | | | | | |
| Ионы $Fe^{3+}$ | 0,5 М NaOH | Целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин | 120 мин, pH 8,0, 1,0 г/50 см$^3$ | 500–720 мг/г | [18] |
| Ионы $Cr^{3+}$ | Пероксид бензоила, акриловая кислота, акриламид | Образование бензоилпероксид радикала с одновременным образованием абстрагированного водорода из аллильных центров дробины | 90 мин, 25–125 мг/дм$^3$ | 15,6 мг/г | [22] |
| Физические методы | | | | | |
| Ионы $UO_2^{2+}$ | Температура | Целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин, азотистые соединения | 150 °C, 16 ч pH 4,7 | 221,0 мг/г | [25] |
| Фенолы | Температура | Целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин | 800 °C, 5–6 ч, pH 8,0 | 50,3–111,3 мг/г | [26] |
| Ионы $Pb^{2+}$ | $H_3PO_4$, KOH, меламин, оксалат и гексагидрат $Fe^{3+}$, температура | Целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин | 500 °C, 30 мин | 0,4 см$^3$/г | [27] |

циклов сорбции/десорбции из-за блокирования или химического разложения [28].

***Извлечение углеводов различной молекулярной массы.*** Поскольку пивная дробина представляет из себя матрицу органических соединений, связанных между собой химическими связями, то ее переработка является комплексной. Полисахаридные материалы (гемицеллюлоза, ассоциированная с лигнином) с жесткой структурой являются причиной, которая вызывает трудности переработки. Это связано с тем, что они могут снижать эффективность извлечения тех или иных соединений [3]. Подтверждением тому служит работа P. Forssell и др., в которой исследовались четыре коммерческие смеси целлюлазы и гемицеллюлазы с различными профилями активности для солюбилизации углеводов дробины [13]. Ферментативная обработка ксиланазой при 50 °C дала как растворенную фракцию (до 28 % углеводов и до 34 % арабиноксиланов в виде моносахаридов и феруловой кислоты), так и негидролизованный остаток (смеси феруловой кислоты, связанной с олигосахаридами, лигнин и связанные с ним белки и липиды) [13, 29].

Получение биоэтанола как способа переработки дробины также включало в себя ферментативную стадию. В исследовании J. S. White и др. дробина предварительно обрабатывалась 0,16 н$HNO_3$ при 120 °C, затем осуществлялся гидролиз целлюлазными и гемицеллюлазными препаратами при температуре 37 °C [30]. При концентрации дробины 20 % за 18 ч ферментации культурами *Pichia stipitis* и *Kluyveromyces marxianus* было получено 27 г/дм$^3$ глюкозы, 16,7 г/дм$^3$ ксилозы и 11,9 г/дм$^3$ арабинозы, которые затем сбраживали с получением этанола. Эффективность использования субстрата из растительного источника (зерновой дробины) была ниже, по сравнению со смесями глюкозы/ксилозы из синтетических сред, поскольку в сбраживаемой среде из растительного сырья присуствуют вещества-ингибиторы дрожжей.

Конверсия целлюлозы дробины осуществлялась с применением термообработки при мгновенном перепаде давления в диапазоне 2–7 бар с последующей биомодификацией препаратом целлюкласт. Это позволило повысить выход гидролизата до 100 % [31]. В качестве физической предобработки структуры дробины применялся ультразвук с дискретными частотами от 25 до 130 кГц и мощностью 550–950 Вт с последующей ферментацией гемицеллюлазами [32]. Максимальный выход моносахаров был получен при низкочастотной ультразвуковой обработке с мощностью 550 Вт.

Дробина может использоваться в качестве субстрата для производства ферментов эндоглюканазы, целлобиогидролазы, $\beta$-глюкозидазы и ксиланазы, а также редуцирующих сахаров с использованием *Penicillium* sp. HC1 методом погруженной ферментации BSG в количестве 1–5 % и двух источников азота (дрожжевой экстракт и сульфат аммония) при длительности эксперимента от 6 до 12 дней [33]. Наибольшая активность фермента была получена через 10 дней с использованием 3 % измельченной дробины и сульфата аммония в виде источника азотного питания: активность ксиланазы составила 25 тыс. Ед/дм$^3$, $\beta$-глюкозидазы и целлобиогидролазы – 3 и 103 тыс. Ед/дм$^3$ соответственно.

В качестве предобработки целлюлозы в структуре дробины отмечается преимущество кислотного

гидролиза при температурах выше 120 °C, которое предшествует биокатализу (ксилололитические и целлюлолитические ферменты в составе культур микроорганизмов), относительно выхода ксилоз и арабиноз [34]. В этом случае следует учитывать, что кислотные гидролизаты из-за высокой термической нагрузки могут содержать как продукты деградации сахара (фурфурол, гидроксиметилфурфурол, муравьиную, уксусную и левулиновую кислоты), так и простые фенольные соединения (кумаровую кислоту, сирингальдегид и гидроксибензальдегид), которые ингибируют биоферментацию сахаров [35].

Благодаря особенностям строения целлюлозно-лигнинного комплекса дробины большей ферментативной доступностью обладают связи, соединяющие арабинозные звенья в молекуле [6]. Соответственно, арабинозу извлекали с более высокой эффективностью, чем ксилозу: из 76,2 % гемицеллюлоз было извлечено 67 % ксилозы и 97,8 % арабинозы [6].

Целью извлечения являются растворимые углеводы. Поэтому необходимо применять комбинированные физические, термические и ферментативные способы обработки. D. Macheiner и др. был исследован способ воздействия микроволнового излучения при температуре ~160 °C при кислотном (0,1 M HCl) гидролизе с последующим целлюлолитическим растворением [36]. Однако полного гидролиза сложных углеводов кислотным, ферментативным и физическим способами добиться не удалось [6, 34, 36].

Была изучена физиологическая способность некоторых микроорганизмов (например, нитчатых грибов) перерабатывать сложные лигнины и арабиноксиланы, несмотря на их структурную сложность [37, 38]. В комплекс ферментов ксиланаз входят эндо-$\beta$-1,4-ксиланаза, $\beta$-D-ксилозидаза, $\alpha$-L-арабинофуранозидаза и $\beta$-глюкуронидаза, которые способны отщеплять субъединицы от основной цепи ксилана [38]. Их индукция происходит из-за присуствия неферментирующей 1/AMP-активированной протеинкиназы сахарозы (SNF1/AMPK), которая является центральным регулятором метаболизма углерода и выработки энергии у эукариотических микроорганизмов [39].

99 % растворимого арабиноксилана было получено из дробины с комплексным применением культуры *Lactobacillus plantarum* F10 и цитолитических ферментов методом твердофазной ферментации [40]. Это позволило отказаться от предварительной обработки дробины из-за особенности штамма эукариот.

Существуют способы более мягкого температурного воздействия на структуру дробины или автогидролиз: выделяемая из боковых ацетильных групп арабиноксилана уксусная кислота приводит к деполимеризации ксилана [41]. Результаты воздействия условий автогидролиза на целлюлозно-лигнинный комплекс дробины представлены в таблице 3 [42].

Данные таблицы 3 показывают, что высокие температуры обработки приводят к снижению доли гемицеллюлозы и увеличению доли лигнина. Причем растворимый в кислоте лигнин снижает свое содержание, а нерастворимый, наоборот, количественно увеличивается. Это свидетельствует о необходимости селективного подхода к извлечению соединений целлюлозного комплекса в зависимости от целей обработки дробины.

Условия автогидролиза при микроволновом воздействии позволяют достичь деполимеризации, разветвления и деэтерификации арабиноксилана с образованием коричневых продуктов при температуре выше 150 °C за 2 мин. Поэтапное изменение температуры воздействия (140 и 180 °C) в присуствии 0,1 M KOH позволяет добиться извлечения 62 % арабиноксиланов дробины со степенью полимеризации от 7 до 24 остатков ксилозы и степенью этерификации фенольных кислот от 5 до 21 % [43].

Обработка дробины щелочными реагентами способствует извлечению целлюлозы при растворении затрудняющих доступ гемицеллюлоз и лигнина. Только щелочная или комбинированная с микроволновой обработка в течение 3 мин при

Таблица 3. Состав экстрактов пивной дробины после предобработки при различных температурах

Table 3. Composition of brewer's spent grain extracts at various thermal pretreatment modes

| Органические соединения | Содержание при условиях обработки, % | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 98 °C/36 ч | 121 °C/24 ч | 140 °C/4 ч | 180 °C/30 мин |
| Целюлоза | 24,9 | 26,4 | 25,3 | 28,3 |
| Гемицеллюлозы, в сумме | 25,9 | 23,1 | 22,5 | 18,3 |
| Ксилан | 16,9 | 15,9 | 17,1 | 14,4 |
| Галактан | 1,7 | 1,4 | 1,3 | 1,3 |
| Арабинан | 7,3 | 5,8 | 4,1 | 2,6 |
| Лигнин, в сумме | 24,2 | 32,9 | 34,2 | 36,5 |
| Нерастворимый в кислоте лигнин | 14,2 | 26,0 | 26,0 | 28,4 |
| Растворимый в кислоте лигнин | 10,0 | 6,9 | 8,2 | 8,0 |

мощности аппарата 850 Вт позволила добиться выхода доступных сахаров для роста микроорганизмов [44]. В совокупности с щелочными условиями извлечения применялись солевые реагенты (хлорид кальция и бисульфит натрия) для производства нанофибрилл целлюлозы из лигнинсодержащих структур дробины [45]. Извлечение арабиноксилана дробины может проводиться щелочью в зависисмости от концентрации и щелочности неметалла в растворе. Экстракция арабиноксиланов в присуствии CaO способствует выходу 6,5 % при 100 °C и 3,5 % при 25 °C [46]. Слабые щелочные условия привели к растворению арабиноксилана с высокой молекулярной массой.

S. F. Reis и др. был оптимизирован способ извлечения арабиноксиланов дробины путем применения экстракции с помощью ультразвука (20 кГц, 750 кВт) в сочетании со щелочной экстракцией (2 М КОН) [47]. Это позволило сократить время экстракции (до 25 мин), снизить энергоемкость процесса и получить до 60 % выхода целевого продукта без примесей крахмала благодаря этанольной экстракции и ульрафильтрации на сите с отсечкой 12 кДа. Исследован способ обработки дробины в пищевых целях, при котором арабиноксилановые гидролизаты освобождали от белка путем применения щелочной (0,5 М КОН и NaOH) экстракции азотистых соединений при температуре 25 °C в течение 24 ч с выделением белков при pH 3 лимонной кислотой [48]. Далее арабиноксиланы извлекались этанолом с выходом азотистых соединений 82–85 % и арабиноксиланов 66–73 % от общего количества соединений. Выделение арабинозы связано с особенностями строения арабиноксилана: количество терминально связанных остатков арабинозы не соответствует количеству точек ветвления ксилозы в молекуле арабиноксилана дробины. Данный факт, с одной стороны, объясняется присутствием О-ацетила, гексозы, гексуроновой кислоты и метилированных остатков уроновой кислоты, а с другой – нелинейным замещением феруловой кислоты [49, 50]. Поэтому слабые щелочи могут воздействовать на точки ветвления ксилозы, т. е. связи, соединяющие феруловую кислоту и участки арабиноксилана посредством этерификации, приводя к высвобождению высокомолекулярного арабиноксилана [46]. Кроме ферулловых кислот, лигнин может сшивать арабиноксилан и на его связи также будут воздействовать слабые щелочи [50]. Поэтому уместно при ферментативном гидролизе осуществлять ступенчатую предобработку щелочами различной ионной силы для увеличения биодоступности органических соединений. Данный принцип применялся для производства лигнинсодержащих носителей дрожжевых клеток [51]. Ферментативный биокатализ органических соединений дробины промышленными ферментами или микроорганизмами распространен, поскольку позволяет добиться хорошего выхода целевого продукта.

Для обработки дробины изучалось применение импульсного электрического поля при мощности 2,8 кВт/см$^3$ в условиях 3000 импульсов шириной 20 мкс [52]. Такая обработка позволила добиться выхода свободной d-глюкозы и суммы свободных аминокислот – 18,5–33,3 и 21–25 мг/г соответственно. Эффект воздействия импульсного поля основан на явлении совпадения мощности потока электронов и расположения ионов в молекуле, когда в условиях электрического поля происходит ионизация в молекулярной структуре (фазозависимая анизотропия в распределении H+ фрагментов). Это приводит к локализации электронного облака и асимметричному разрушению молекулярных связей [53]. К физическим способам обработки углеводного комплекса дробины можно отнести воздействие субкритической воды, с помощью которой удалось получить сахара С-5 из дробины [54]. Способ состоял из нескольких стадий. На первой стадии осуществлялась обработка субкритической водой (140–210 °C при скорости ее потока 10–20 см$^3$/мин). Затем следовал щелочной гидролиз раствором 0,01–1 М NaO H и ферментативный гидролиз (протеаза, протеиназа из *Bacillus subtilis*, ксиланаза, смесь эндо-1,4 и эндо-1,3 $\beta$-ксиланаз из *Trichoderma longibrachiatum* и целлюлазы, 1,4-(1,3:1,4)-$\beta$-d-глюкан 4-глюканогидролазы из *Aspergillus niger*). Анализ данных показал, что общий выход углеводов зависел от температуры гидролиза, а основными продуктами были арабиноза и ксилоза. Отмечалось образование автокаталитических кислот в нерастворившемся остатке гемицеллюлоз в виде карбонильных и карбонизированных частиц.

***Извлечение азотистых веществ различной молекулярной массы.*** Способ извлечения азотсодержащих соединений из дробины зависит от конечного соединения. Для извлечения аминокислот применялся метод экстракции. В таблице 4 приведен количественный состав аминокислот при использовании различных растворителей [55].

Природа растворителя имеет большое значение. Наиболее часто применяются полярные растворители, такие как метанол, этанол, ацетон, гексан, этилацетат или их водно-спиртовые смеси, для извлечения целого комплекса соединений дробины (общих фенолов, флавоноидов, белков и редуцирующих сахаров) [56]. Данные растворители обладают большей, по сравнению с водой, степенью диффундирования в растительную матрицу. Это позволяет им эффективнее извлекать необходимые органические соединения. С другой стороны, биологически активные вещества имеют сродство к поверхностно-активным экстрагентам [57]. Сами растворители имеют разную полярность, которая характеризует образование

Таблица 4. Содержание азотистых соединений в экстрактах дробины

Table 4. Content of nitrogenous compounds in brewer's spent grain extracts

| Название аминокислоты | Содержание соединений в экстрактах, мг/дм$^3$ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $H_2O$ | 0,01 % раствор мирамистина | 70 об.% раствор этанола | 70 об.% раствор пропиленгликоля |
| Сумма аминокислот, включая незаменимые | 53,70 | 45,00 | 122,8 | 96,70 |
| | 21,50 | 16,90 | 56,10 | 40,60 |
| Аспарагиновая кислота | 4,88 | 5,07 | 5,72 | 5,76 |
| Глютаминовая кислота | 3,84 | 2,28 | 6,63 | 6,01 |
| Аспарагин | 2,98 | 3,11 | 5,22 | 5,75 |
| Гистидин | 1,38 | 1,43 | 2,74 | 2,42 |
| Серин | 3,87 | 3,69 | 5,09 | 5,51 |
| Глютамин | 4,64 | 4,92 | 8,30 | 8,77 |
| Аргинин | 0,90 | 0,60 | 1,45 | 1,42 |
| Глицин | 3,33 | 3,29 | 7,45 | 7,57 |
| Треонин | 2,90 | 1,72 | 5,14 | 4,84 |
| Аланин | 5,39 | 2,77 | 11,46 | 11,87 |
| Тирозин | 2,31 | 2,36 | 3,36 | 3,44 |
| Валин | 3,17 | 2,37 | 6,42 | 6,05 |
| Метионин | 1,44 | 1,42 | 2,49 | 2,55 |
| Триптофан | 2,80 | 2,54 | 5,83 | 5,43 |
| Изолейцин | 1,38 | 1,40 | 3,75 | 3,32 |
| Фенилаланин | 2,82 | 1,99 | 6,68 | 6,30 |
| Лейцин | 2,62 | 1,86 | 6,78 | 6,20 |
| Лизин | 2,09 | 1,26 | 2,73 | 2,49 |

мицелл вокруг экстрагируемого вещества. Возрастание коэффициента полярности происходит от меньшего к большему в следующем ряду: гексан, этиловый эфир, этилацетат, бутанол и водно-спиртовые смеси [58]. Использование определенных полярных растворителей основано на ассоциации в жидкой среде с образованием ди-, три- и тетрамеров молекул растворитель – экстрагируемое вещество. Это приводит к образованию мицеллярных соединений с внешними полярными группами. Мицеллярные группы способствуют солюбилизации органических соединений матрицы [59]. Количество гидроксильных функциональных групп в растворителе имеет значение: при их росте увеличивается сольватационная активность, что приводит к повышению скорости мицеллобразования [60].

Исследовалось влияние катионного поверхностно-активного вещества – мирамистина – на эффективность извлечения различных органических соединений дробины, в том числе аминокислот. Результаты показали, что в отношении аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глютамина и валина данное катионное поверхностно-активное вещество чуть эффективнее водного раствора [55].

Применялась экстракция 90 мас.% NaAcO: мочевина (молярное соотношение 1:2) или эвтектический растворитель на основе карбоксилатных солей, позволившая добиться выхода азотистых соединений до 79 % из дробины [61].

Азотистые соединения дробины представлены высокомолекулярными белками – гордеинами B (вес от 30 до 50 кДа) и C (от 55 до 80 кДа) [62]. Их извлечение требует применения более глубоких принципов переработки растительной матрицы. Щелочная экстракция применима для направленного извлечения белковых соединений в сочетании с ультразвуковой обработкой. Показано, что комплексная обработка 110 мМ раствором NaOH и звуковой обработкой дробины мощностью 250 Вт в течение 20 мин повышали выход азотистых соединений до 86,16 % по сравнению с традиционной экстракцией без ультразвука (45,71 %) [63]. Иследователи отмечали как структурные изменения белковых молекул дробины под действием ультразвука, так и изменение их пространственной структуры (разворачивание). Тот же эффект наблюдался при комплексной переработке дробины ферментами гриба *Rhizopus oligosporus* с последующей этанольно-щелочной экстракцией с выделением 61–66 % белка [64]. Это позволило констатировать эмульгирующую способность экстрактов, пенообразующие свойства и восстанавливающую способность.

Принципы щелочной экстракции применялись на основе использования раствора 0,1 М NaOH при температуре 60 °C в течение 60 мин с проведением дальнейшего высаливания азотистых соединений

при сдвиге изоэлектрической точки до pH 4,0 2,0 М раствором лимонной кислоты при выходе белка 60 % [65].

Прочие соединения с щелочными свойствами (KOH и $Na_2CO_3$, $Na_2HPO_4$, $CH_3(CH_2)_{11}OSO_3NA$) рассматривались применительно к извлечению азотистых соединений дробины, но гидроксид натрия был наиболее эффективен [66].

Белковая растворимость зависит от отрицательного поверхностного заряда. Снижение заряда поверхности сильно коррелирует с увеличением растворимости белка и может быть связано с агломерацией воды кислыми аминокислотами, что приводит к солюбилизации белковых молекул [67]. Это свойство белков лежит в основе действия препаратов-осадителей, которые снижают отрицательный заряд молекулы белка (сульфат аммония и пр.), что, наряду с другими техниками, применяется при выделении белков из многокомпонентной смеси.

Известны способы извлечения белковых соединений комбинированной щелочно-кислотной и ферментативной обработкой. В качестве кислоты применялась разбавленная серная кислота с температурой среды 120 °C, в качестве щелочного реагента – раствор NaOH. Это позволило добиться 95 % выхода азотистых соединений [68]. В отличие от органической обработки гидротермальная предварительная обработка (60 °C) привела к снижению выхода азотистых соединений до 64–66 %. Отрицательным моментом применяемой технологии является получение белка с присутствием лигниноподобных соединений. Однако существует еще одна проблема при применении высокотемпературной технологии – образование побочных соединений, снижающих выход конечного соединения (продукты разложения и окисления), и дополнительные расходы на электороэнергию.

Применение ферментолиза матрицы дробины для переработки с получением азотистых соединений кажется наиболее подходящим вариантом. Однако применение препаратов пептидаз в целях солюбилизации белкового азота говорит об отсутствии корреляции с дозировкой препарата и выходом белковых соединений [65, 69]. Бактериальная протеиназа способствовала выходу белков дробины (до 77 % общего белка). В отличие от действия других пептидаз в смеси азотистых соединений присуствовали пептиды средней молекулярной массы, аминокислоты пролин и глютамин. Отмечалась эффективность комплексной обработки дробины целлюлолитическими ферментами. Это обеспечило полный доступ биокатализаторов протеолитического действия к растительному субстрату. Важен также уровень pH: более щелочная pH (около 8,0) способствовала оптимальной солюбилизации белковых молекул по сравнению с pH 6,8.

Протеолиз дробины осуществлялся различными расами микроорганизмов: *A. niger*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Streptomyces* sp. [70]. Результаты исследования показали, что в присуствии клеток микроорганизмов некоторые аминокислоты (лизин, гистидин, аспарагин, треонин, пролин, глицин, аланин, валин, метионин, изолейзин, лейзин, триптофан и фенилаланин) снижают свое содержание, а концентрация аргинина, серина, глюзина и цистеина увеличивалась по мере прохождения ферментации. Данный эффект объясним биологической потребностью различных штамов микроорганизмов в азотном питании [71].

Заслуживает внимания способ получения гидролизата биогенных пептидов из пивной дробины [72]. Суспендированную дробину в аппарате обратного осмоса с водой гомогенизировали и затем подвергали поэтапному гидролизу грибной ксиланазой и комплексом целлюлолитических ферментов (в том чиле $\beta$-глюканазой), затем бактериальной ксиланазой и грибной аминопептидазой. Температура процесса ферментолиза на каждой стадии составляла 50 °C с pH среды 5,0. В полученной смеси были определены 11 биогенных белков, обладающих ингибирующей активностью в отношении к дипептидилпептидазе IV, участвующей в процессе инкретинового гормона как показателя роли в регуляции гликемирования [73]. Биогенные пептиды обладали ингибиторной активностью по отношению к ангиотензинпревращающему ферменту – важному компоненту ренин-ангиотензиновой системы, которая превращает ангиотензин I в ангиотензин II и гидролизует брадикинин, т. е. помогает в борьбе с сердечно-сосудистыми заболеваниями [74]. Таким образом, полученные гидролизаты биогенных белков дробины обладали потенциалом для диетических пищевых продуктов, потребляемых при заболеваниях диабетом 2 типа и гипертонией.

Исследовались вспомогательные способы концентрации изолятов белков посредством ультрафильтрации [75]. Показано, что более 92 % азотистых соединений удерживалось мембранами с размером ячеек до 5 и 30 кДа. Это позволило повысить концентрацию белка в экстракте до 20,10 % на мембране 5 кДа и до 16,0 % на мембране 30 кДа, по сравнению с выпариванием на ротационном испарителе, где выход экстракта достигал 4,9 % [72]. К методам концентрирования относится применение химических соединений. Ннапример, мочевина, 1-пропанол и пр. [48, 61, 64, 76].

Изучались физические методы экстракции белковых соединений из дробины.

В работе D.-S. Tang и др. проводилась ультразвуковая обработка белковых компонентов дробины в водной среде, которая позволила установить оптимальные параметры экстракции: продолжительность 80 мин, мощность ультразвука

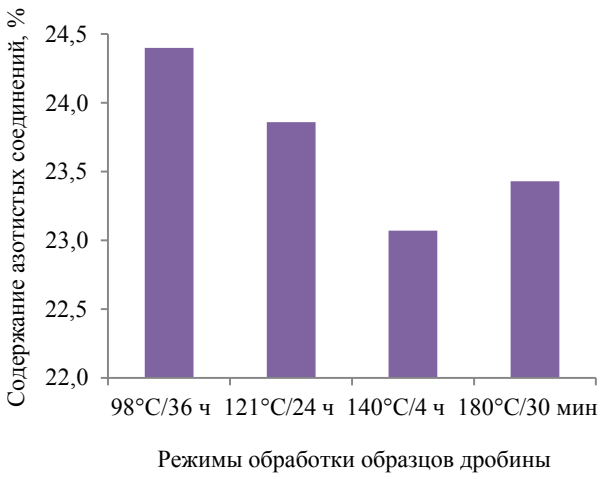



Рисунок 2. Содержание азотистых соединений при различных условиях (температура, продолжительность) гидротермальной обработки

Figure 2. Content of nitrogenous compounds at various temperature and time modes of hydrothermal treatment

88,2 Вт/100 см$^3$ экстрагента, гидромодуль 1:50 при выходе азотистых соединений 104,2 мг/г дробины [77]. При замене водной среды на щелочную отмечался выход азотистых соединений 86 % с высоким уровнем очистки азотистой фракции (до 57,8 %) [63].

Обработка гидротермальной водой при температуре 98–180 °C, длительности 0,5–48,0 ч и гидромодуле 1:4 позволила извлечь азотистые соединения в объеме, представленном на рисунке 2 [42].

Наибольшая концентрация белка наблюдалась при 180 °C (рис. 2) и соответствовала солюбилизации 48,68 % от содержания белка в исходной дробине [42]. Скорость солюбилизации органических соединений дробины, в том числе азотистых, в условиях повышения температур увеличивалась пропорционально концентрации соединений в жидкой фракции: максимальная концентрация азотистых соединений при 98 °C составляла 10,50 г/дм$^3$, при 121 и 140 °C – 21,09 и 21,88 г/дм$^3$ соответственно. При экстрагировании азотистых соединений важно правильно подобрать гидромодуль или соотношение твердая фаза:жидкая фаза, поскольку увеличение объема жидкой фазы и температуры извлечения способствовало повышению потерь белковых соединений за счет термодеструкции и реакций Майара и снижению катализа под действием высвобождающейся в меньшей степени из матрицы дробины уксусной кислоты [68].

***Извлечение фенольных соединений различной молекулярной массы.*** Получение фенольных соединений из дробины, кроме немногочисленных свободных форм, затруднено из-за их прочной связи с лигином и азотистыми молекулами [78].

Свободные фенольные кислоты обычно экстрагируют полярными растворителями при температуре 20–55 °C, поскольку температура экстрации выше 55 °C влечет за собой структурные изменения фенолов [11, 55].

Сравнивались способы простой экстракции полярными смесями ацетон – вода и этанол – вода. Наибольшая эффективность наблюдалась при концентрации растворителя в смеси 60 %, а применение ацетона в смеси с водой обеспечивало более высокие выходы фенолов [79].

В таблице 5 представлены выходы растворимых фенолов при экстракции в разных условиях.

Даные таблицы 5 подтверждают тот факт, что полярность экстрагента сильно влияет на выход монофенольных кислот. Влияние на экстракцию более сложных фенольных соединений (антоцианогены или флаван-3-олы) подтвердить сложно из-за отсутствия данных. T. Bonifácio-Lopes и др. заявляют, что этанольные экстракты обладают биогенными свойствами за счет присуствия в них катехинов [82].

Еще одним традиционным способом экстракции фенольных соединений является щелочная экстракция [4, 81]. Щелочь гидролизует участки нерастворимого лигнина, действует на целлюлозу и высвобождает белковые и фенольные соединения [44–46, 66]. Однако щелочной гидролиз необходимо проводить с осторожностью, поскольку щелочь разрушает структуру фенольных соединений.

В исследовании K. Lemańska и др. показано, что антиоксидантная активность фенольных представителей тесно связана с их реакционной способностью по отношению к активным формам кислорода, которая повышается в щелочных условиях [83]. Поэтому такая степень реакционной способности обуславливает легкую лабильность при щелочных обработках, что приводит к необратимому превращению фенолов в другие соединения. В исследовании S. Honda и др. показано, что из наиболее характерных для дробины представителей фенольных соединений кверцетин и галловая кислота были наиболее лабильны [84].

M. Friedman и др. в своей работе показали, что в условиях pH от 7 до 11 кофейная, хлорогеновая и галловая кислоты не стабильны [85]. В отношении хлорогеновой, феруловой и транс-коричной кислот, а также рутина была показана устойчивость в условиях измения pH при нагревании и хранении. Имеет значение не только pH, но и температура, а также длительность извлечения фенольных соединений. L. Zeng и др. показали, что при pH выше 6 и температуре более 80 °C экстракты с полифенолами становились темнее, а содержание катехинов снижалось [86]. Более того, отдельные формы катехинов подвергались эпимеризации (более 95 %).

Таблица 5. Профиль фенольных соединений при простой экстракции дробины

Table 5. Phenolic profile after a simple brewer's spent grain extraction

| Фенольные соединения | Содержание полифенолов при условиях экстракции, мкг/г | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 30 °C, 2 ч, 1:10 (дробина:вода) [80] | 50 °C, 2 ч, 1:10 (дробина:экстрагент) [11] | | | | 60° C, 0,5 ч, 1:20 (дробина:ацетон) [81] |
| | | $H_2O$ | 0,01 % раствор мирамистина | 70 об.% раствор этанола | 70 об.% раствор пропиленгликоля | |
| Галловая кислота | 83,3 | 50,0 | 63,0 | 66.0 | 58,0 | нс |
| Ванильная кислота | 1,1 | нс | 44,4 | 18,4 | 11,7 | нс |
| Кофейная кислота | 1,7 | нс | нс | нс | нс | 0,2 |
| Сиреневая кислота | 2,5 | нс | 3,0 | 12,0 | 3,0 | 33,9 |
| Кумаровая кислота | 0,3 | нс | нс | нс | нс | 686,6 |
| Феруловая кислота | 0,9 | нс | нс | нс | нс | 1809,5 |
| Синаповая кислота | 7,2 | 2,0 | 0,5 | 21,0 | 15.0 | 14,6 |
| Антоцианогены, сумма | нс | 41,0 | 1,0 | 17,0 | 48,0 | нс |
| Рутин | нс | нс | нс | 1500,0 | 855,0 | нс |

*нс – не сообщается.

* нс – not reported.

Таблица 6. Щелочной метод экстракции полифенолов дробины

Table 6. Alkaline method of extracting polyphenols from brewer's spent grain

| Условия щелочной экстракции | Содержание феруловой кислоты | Содержание р-кумаровой кислоты | Содержание всех полифенолов | Ссылки |
|---|---|---|---|---|
| 2 M NaOH, 20 °C, 16 ч, с $N_2$ | 1860–1948 мкг/г | 565–58 мкг/г | нс | [88] |
| 1 M NaOH, 20 °C, 16 ч, с $N_2$ | 0,20–0,24 % | 0,068–0,121 % | нс | [89] |
| 0,5 M KOH, 25 °C, 2 ч | 1,78–0,50 мкг/мг | 1,97 мкг/мг | нс | [90] |
| 0,5 M NaOH, 120 °C, 1,5 ч | 9,65 мг/г сл** | 9,22 мг/г сл | нс | [91] |
| 4 M NaOH, 25 °C, 24 ч, с $N_2$ | 51,0 % | 27,7% | нс | [92] |
| 1 M NaOH, 25 °C, 16 ч | 27,3 мг/см$^3$ | нс | 0,73 мг GAE/см$^3$ | [93] |
| 4 M NaOH, 25 °C,17 ч | нс* | нс | 1,8 г GAE/кг | [94] |
| 0,2 M NaOH, 50 °C,1 ч | нс | нс | 0,67 г/дм$^3$ | [11] |
| 1 M NaOH, 50 °C, 1 ч | нс | нс | 1,1 г/дм$^3$ | [11] |
| 0,15 M NaOH, 20 °C, 24 ч | 15,4 | 4,5 | нс | [95] |
| 0,5 M NaOH, 120 °C, 1,5 ч | нс | нс | 101,0 г GAE/кг | [96] |

*нс – не сообщается; **сл – солюбилизованный лигнин.

* нс – not reported; ** сл – solubilized lignin.

Фенольные спирты (например, эвгенол) могут влиять на стабильность фенольных соединений в нестабильных условиях [87]. Была показана интенсификация автоокисления полифенолов при щелочном pH. Наблюдался взаимный эффект снижения окислительной активности, зависящий от молекулярной массы фенола: антиокислительная активность смешанного раствора флавоноидов (катехина и эпикатехина) была выше, чем у монофенольных кислот при различных способах воздействия.

Варианты щелочного гидролиза представлены в таблице 6.

Представленные в таблице 6 характеристики извлеченных полифенолов не говорят о более ценных формах соединений, хотя K. V. Kobelev и др. заявляют о присуствии рутина и кверцетина (43,40 и 6,71 мг/дм$^3$ соответственно) в составе щелочных экстрактов дробины [11].

Известен способ переработки растительной матрицы дробины в условиях ферментативного гидролиза. В таблице 7 представлены некоторые результаты применения культур микроорганизмов для биопереработки матрицы дробины.

Применяются и ферментные препараты (Econase, Spezyme, Ultraflo L и т. д.), позволяющие извлечь фенольные соединения в небольших объемах (до 1,3 %). Это говорит о несбалансированном составе гидролизующих целлюлолитических

Таблица 7. Ферментативные методы обработки дробины

Table 7. Enzymatic methods of brewer's spent grain processing

| Применяемые культуры микроорганизмов и ферментные препараты | Высвобождаемые фенольные соединения | | Ссылки |
|---|---|---|---|
| | Всего монофенольных кислот | Всего фенольных соединений | |
| *Lactobacillus plantarum* + ксиланаза, 30 °C, 24 ч | 1864,4 мг/кг (связанные формы)<br>479,68 мг/кг (свободные формы) | 2358,8 мг/кг | [4] |
| *Trametes versicolor* TV-6, 27 °C, 14 дней | нс* | 8,7 мг/г | [97] |
| *Aspergillus niger*, 25 °C, 7 дней | нс | 1,86 мг CAE/г | [98] |
| *Bacillus subtilis*, 37 °C, 2 дня | нс | 6,94 мкг/г | [99] |
| *Aspergillus oryzae*, 37 °C, 3 дня | 25 % | 8,2 мг CAE/г | [100] |

*нс – не сообщается.

* нс – not reported.

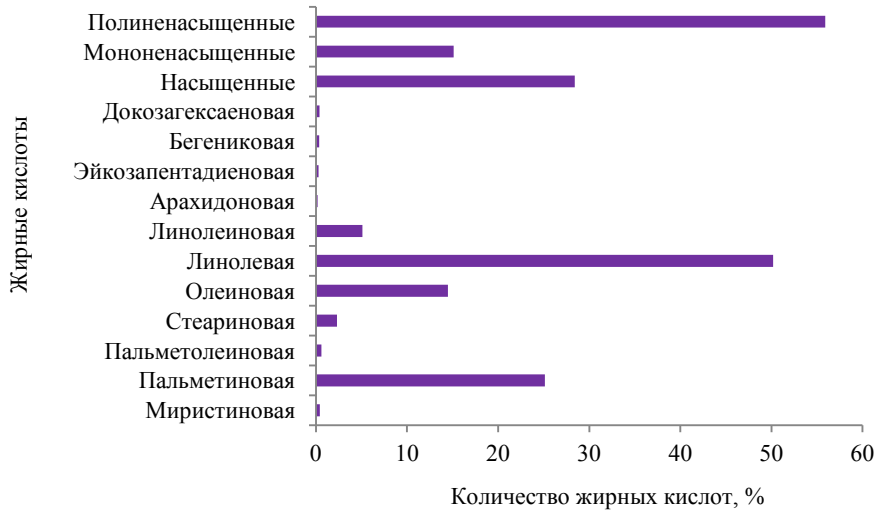



Рисунок 3. Профиль жирных кислот дробины

Figure 3. Fatty acid profile of brewer's spent grain

ферментов либо о неудачных условиях проведения извлечения [101, 102].

В отношении коммерческих ферментов необходимо сочетание в составе эндо-(1,3-(4))-$\beta$-глюканазы, целлюлазы, $\alpha$-амилазы, ксиланазы, арабиноксидазы, пентозаназы, арабиназы и гемицеллюлазы, чтобы полноценно высвободить связанные формы фенольных соединений [4, 11].

В условиях минимизации загрязняющих технологий в отношении полифенолов и прочих соединений, к которым предъявляются высокие требования по сохранению пространственной структуры, активности и применения с целью решения проблемы повышения нутрицевтической ценности пищевых продуктов, используются экологичные высокотехнологичные способы выделения фенольных соединений из дробины. Данные приведены в таблице 8.

Преимуществами способов, представленных в таблице 8, являются экологичность и возможность применения в пищевых областях промышленности.

***Извлечение соединений липидной природы.*** Пивная дробина содержит жирные кислоты (пальмитиновую, линолевую, олеиновую и стеариновую) и токотриенолы [98].

Среднее содержание токотриенолов и жиров дробины (зерновой шелухи) выше по сравнению с цельным зерном [118]. Высвобождение липидных фракций связяно со способом разрушения эфирных связей с прочими соединениями дробины (белками, фенолами и пр.), поэтому носит комплексный характер. Однако предпринимались попытки провести простую экстракцию 20 об.% раствором спирта при комнатной температуре в течение 24 ч. Были обнаружены пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты [75].

Таблица 8. Экологичные способы экстракции полифенолов дробины

Table 8. Sustainable methods of extracting polyphenols from brewer's spent grain

| Название метода экстракции | Принцип метода | Условия экстракции | Общее содержание полифенолов | Ссылки |
|---|---|---|---|---|
| Обработка ультразвуком | Воздействие механических волн при изменении температуры и давления в системе, что разрушает матрицу дробины и высвобождает сопутствующие соединения | 8 мин, 1:20, 20 об.% этанол, 47 °С, 75кГц | 2,8 мгGAE/г | [103] |
| | | 30 мин,1:20, 0,2 М NaOH, 30 °С, 25кГц | 4,2 мг GAE/г | [81] |
| | | 22 мин, 1:10, 60 об.% метанол, 70 °С, 45 кГц | 1,42 мг GAE/г | [104] |
| Жидкостная под давлением | Воздействие давления и температуры выше температуры кипения с участием органических растворителей | 2 см$^3$/мин, 1:2, этанол:вода, 120 °С, 10 МПа | 9944,0 мкМоль TE/100г | [105] |
| | | 10 мин, 90 °С, 14,2 МПа | 541,0 мкг/100 г | [107] |
| | | 60 °С, 60 % ацетон, 200 Бар | 1346 мкг/г | [107] |
| Механохимическая | Сушка и измельчение сырья до крупности 0,5–2 мм с последующим применением щелочных средств и экстракцией водой | 10,0 г + 1 г $NaHCO_3$, шаровая мельница, 300 об/мин, 20 мин, 50 °С, 30 мин | 1,82 г/100г | [108] |
| Высокое гидростатическое давление | Измельчение и просеивание материала через сита 40 или 60 Меш, экстракция с растворителем в сосуде высокого давления, фильтрация | 16,0 см$^3$/г, 295 МПа, 13 мин под давлением, 70 об.% этанол | 40 мМоль Trolox/дм$^3$ | [109] |
| | | 80 об.% метанол, 500 МПа, 10 мин | 129,1 мг GAE/100 г | [110] |
| Суперкритическая жидкостная | Извлечение сверхкри-тическим $CO_2$ и подбор соотношения размера частиц сырья | 15–35 МПа, 50 °С, 30 об.% этанол | 0,57 мг/г | [111] |
| | | 30 МПа, 50 °С, 8 об.% этанол | 28,3 мг GAE/г | [112] |
| Микроволновая | Воздействие микроволн, повышающих температуру внутри растительного сырья с размером частиц 60 мкм – 70 мм | Холин хлорид:глицерин | 2,3 мг GA/г | [113] |
| | | 15 мин, 100 °С, 20 см$^3$ экстрагента | 13,1 г/кг | [114] |
| Пульсирующее поле | Воздействие электрического потенциала на ионные связи в молекулах дробины при рабочем напряжении 140–220 В и выше | 14,5 имп/с, 2,5 кВт/см$^3$, 50 Гц | Увеличение содержания фенолов в 2,7 раз | [115] |
| | | 0,61–9,98 кДж/кг, 1 Гц, вода: метанол, 35 °С, 10 ч | 83,3 мг GAE/100г | [116] |
| | | 10 Гц, 30 имп/мкс, 1,1 кВт/см$^3$, 0,36 кДж/кг, 1,0 г/кг, NaCl, 40 °С, 12,5 мин | 0,3 г GAE/100 г | [117] |
| Обработка электрохимически-активированной водой | Воздействие структури-рованной воды, нарушающее распределение электрического заряда молекул, ведущее к их высвобождению | Католит pH 9,6, 50 °С, 24 ч | 0,12 мг/г | [11] |

Экстракция смесью хлороформ:метанол (2:1) тонкоизмельченной дробины в условиях высокоскоростного гомогенизатора в течение 30 с применялась для извлечения липидной фракции [119]. На рисунке 3 приведен жирнокислотный состав полученного экстракта.

Как видно из рисунка 3, дробина может быть источником полиненасыщенных жирных кислот (эйкозапентаеновая, докозагексаеновая и арахидоновая), которые могут быть превращены при усвоении в биоактивные липидные медиаторы, участвующие в подавлении роста раковых тканей и оказывающие кардиопротекторные и когнитивные функции [120]. В работе J. C. del Río и др. показано, что дробина имеет в своем составе разные формы липидоподобных соединений, извлекаемых при последовательных процессах лиофилизации, измельчения и экстракции раствором ацетона в аппарате Сокслета в течение 8 ч с последующим – выпариванием растворителя – фитостерины – и его производными (кампестерол, стигмастерол, ситостерол, D5-авенастерол, 24-метиленциклоартанол, кампестерил-3b-D-глюкопиранозид, стигмастерил 3b-D-глюкопиранозид, ситостерил 3b-D-глюкопиранозид, кампестерилпальмитат, ситостерилпальмитат, ситостериллинолеат), а также моноглицериды [121]. Для извлечения нутрцевтических фракций липидов щелочной гидролиз, традиционно используемый для экстракции, не применим в связи с деструкцией в условиях сильных

Таблица 9. Профиль жирных кислот дробины

Table 9. Fatty acid profile of brewer's spent grain

| Жирные кислоты | Тип дробины | |
|---|---|---|
| | Неферментированная | Ферментированная |
| Пальметиновая | 1,80 | 1,52 |
| Линоленовая | 0,44 | 0,73 |
| Олеиновая | 0,04 | 2,37 |
| Стеариновая | 5,59 | 1,03 |

щелочей [65]. Поэтому большое значение приобретает степень измельчения биоматериала, что показали C. Bohnsack и др. [122]. Исследователи измельчали и просеивали дробину с применением размера сит от 500 до 1000 мкм. Если фракция превышала 500 мкм, то выход липидной фракции составлял 6,60–12,67 % от массы образца спиртовой экстракции 96 % этанолом, менее 500 мкм – увеличивался до 18,0 % [122].

Известен и ферментативный способ получения фракции липидов из дробины [99]. Образец дробины ферментировался культурой *B. subtilis* 2 дня при 37 °C. Содержание жирных кислот приведено в таблице 9.

Данные таблицы 9 показывают, что разница между количеством выделенных при ферментации жирных кислот и экстрагируемых без ферментации зависит от типа извлекаемой кислоты (количество пальметиновой и линоленовой кислот не зависит от биокаталитической обработки, а олеиновой и стеариновой зависит).

Липидная фракция дробины извлекалась методом суперкритической жидкостной экстракцией. G. Ferrentino и др. измельчали образец до следующего фракционного состава: 9 % частиц имели диаметр более 1 мм, 25 % – от 1 мм до 500 мкм, 44 % – от 500 до 250 мкм, 21 % – от 250 до 100 мкм [112]. Расход $CO_2$ составлял 3,6 дм$^3$/ч в течение 1 ч при температуре 40 °C и уровнях давлениях 20 и 30 МПа. Было отмечено, что степень измельчения растительного материала имеет более весомое значение по сравнению с другими параметрами экстракции [112].

***Прочие технологии на основе переработки пивной дробины.*** В обзоре представлены методы обработки дробины в зависимости от получаемого органического соединения. Они рассмотрены с точки зрения применения в пищевой промышленности для повышения нутрициологической ценности продуктов питания.

Качество пищевой продукции зависит от упаковочных материалов, применяемых для длительных сроков хранения. Наиболее распространенной в мире считается пластиковая упаковка. Загрязнение, связанное с неправильной утилизацией данной упакови, приняло глобальную форму экологической проблемы.

По оценкам экспертов, утилизация упаковочного материала от продуктов питания и напитков вызывает экологическое загрязнение окружающей среды [123]. Упаковка пищевой продукции должна быть инертна и устойчива к органическим составляющим матрицы продукта и окружающей среды (факторам воздействия), а также соответствовать гигиеническим требованиям, предъявляемым к качеству и безопасности упаковочных материалов. Поэтому предпосылки к созданию биоутилизируемой упаковки, т. е. разлагаемой, назрели давно. Дробина как отход пищевого производства является хорошим сырьем для решения данной проблемы. В исследовании C. Moreirinha и др. сообщается о переработке дробины на упаковочные материалы [124]. Основополагающими органическими соединениями, обладающими каркасными свойствами, являются нанокомпозитные пленки на основе арабиноксиланов. Их получают методом литья из нановолокнистой целлюлозы (5–75 % в составе) с термостойкостью до 230 °C и хорошими механическими свойствами (выдерживают давление до 7,5 ГПа). Это важно для условий термообработки продукции с целью увеличения сроков годности. Авторы учли проблему воздействия ультрафиолета на матрицу продуктов (особенно при производстве напитков). Они встраивали в пленки феруловую кислоту или выделяли из дробины фрагменты, обогащенные арабиноксиланами, связанными с ферулловой кислотой [124]. Как фенольное антиоксидантное соединение ферулловая кислота в составе упаковочного материала позволяла повысить UV–Vis барьерные свойства и способствовала защите от автоокисления и биотрансформации микроорганизмами.

A. M. Ferreira и др. предложили технологию производства альтернативы пластиковым лоткам для упаковки продуктов из дробины и картофеля, обогащенные хитозаном, которые имели хорошие параметры прочности и выдерживали нагрузку 3,75 МПа. Это соотвествовало характеристикам используемой пластиковой упаковки [125].

**Выводы**

Строение растительной матрицы зерновой природы возобновляемых отходов пищевого

производства обуславливает комплексные методы переработки для получения органических соединений и продуктов на их основе. Необходимо учитывать направление применения выделенных соединений относительно методов извлечения, безопасности экстрагентов, затрат на переработку и очищение.

Актуальными способами переработки становятся экологичные, основанные на фракционировании измельченного растительного материала или его физической обработке, позволяющие достичь высокой степени выхода и чистоты получаемого органического соединения. Это важно при переработке дробины для получения биоактивных соединений (пептиды, фенольные соединения, жирные кислоты). Необходимо продолжать вести исследования в этом направлении, поскольку до конца не ясны ключевые механизмы воздействия на высвобождение органических соединений из матрицы зерновой дробины.

**Критерии авторства**

И. Н. Грибкова осуществляла руководство научной работой. Л. Н. Харламова и Е. М. Севостьянова согласовывали макет исследования. И. Н. Грибкова, И. В. Лазарева, М. А. Захаров и О. А. Борисенко осуществляли сбор информации и анализ аналитических данных.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Contribution**

I.N. Gribkova supervised the research L.N. Kharlamova and E.M. Sevostianova designed the study plan. I.N. Gribkova, I.V. Lazareva, M.A. Zakharov, and O.A. Borisenko collected and analyzed data.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**References/Список литературы**

1. Shen Y, Abeynayake R, Sun X, Ran T, Li J, Chen L, *et al.* Feed nutritional value of brewers' spent grain residue resulting from protease aided protein removal. Journal of Animal Science and Biotechnology. 2019;10(1). https://doi.org/10.1186/s40104-019-0382-1

2. Tang D-S, Yin G-M, He Y-Z, Hu S-Q, Li B, Li L, *et al.* Recovery of protein from brewer's spent grain by ultrafiltration. Biochemical Engineering Journal. 2009;48(1):1–5. https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.05.019

3. Lynch KM, Steffen EJ, Arendt EK. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. Journal of the Institute of Brewing. 2016;122(4):553–568. https://doi.org/10.1002/jib.363

4. Verni M, Pontonio E, Krona A, Jacob S, Pinto D, Rinaldi F, *et al.* Bioprocessing of brewers' spent grain enhances its antioxidant activity: Characterization of phenolic compounds and bioactive peptides. Frontiers in Microbiology. 2020;11. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01831

5. Santos M, Jiménez JJ, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C, Del Nozal MJ. Variability of brewer's spent grain within a brewery. Food Chemistry. 2003;80(1):17–21. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00229-7

6. Mussatto SI, Roberto IC. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 2006;81(3):268–274. https://doi.org/10.1002/jctb.1374

7. Waters DM, Jacob F, Titze J, Arendt EK, Zannini E. Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment. European Food Research and Technology. 2012;235(5):767–778. https://doi.org/10.1007/s00217-012-1805-9

8. Kanauchi O, Mitsuyama K, Araki Y. Development of a functional germinated barley foodstuff from brewer's spent grain for the treatment of ulcerative colitis. Journal of the American Society of Brewing Chemists. 2001;59(2):59–62.

9. Carvalheiro F, Esteves MP, Parajó JC, Pereira H, Gírio FM. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. Bioresource Technology. 2004;91(1):93–100. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00148-2

10. Verni M, Verardo V, Rizzello CG. How fermentation affects the antioxidant properties of cereals and legumes. Foods. 2019;8(9). https://doi.org/10.3390/foods8090362

11. Kobelev KV, Gernet MV, Gribkova IN. Innovative method for obtaining biologically active compounds from brewery mash. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):113–124. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-113-124

12. Faulds CB, Collins S, Robertson JA, Treimo J, Eijsink VGH, Hinz SWA, *et al.* Protease-induced solubilisation of carbohydrates from brewers' spent grain. Journal of Cereal Science. 2009;50(3):332–336. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.01.004

13. Forssell P, Kontkanen H, Schols HA, Hinz S, Eijsink VGH, Treimo J, *et al.* Hydrolysis of brewers' spent grain by carbohydrate degrading enzymes. Journal of the Institute of Brewing. 2008;114(4):306–314. https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00774.x

14. Almeida AD, Geraldo MRF, Ribeiro LF, Silva MV, Maciel MVOB, Haminiuk CWI. Bioactive compounds from brewer's spent grain: Phenolic compounds, fatty acids and in vitro antioxidant capacity. Acta Scientiarum – Technology. 2008;39(3):269–277.

15. Farcas AC, Socaci SA, Dulf FV, Tofană M, Mudura E, Diaconeasa Z. Volatile profile, fatty acids composition and total phenolics content of brewers' spent grain by-product with potential use in the development of new functional foods. Journal of Cereal Science. 2015;64:34–42. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.04.003

16. McCarthy AL, O'Callaghan YC, Piggott CO, FitzGerald RJ, O'Brien NM. Brewers' spent grain; bioactivity of phenolic component, its role in animal nutrition and potential for incorporation in functional foods: A review. Proceedings of the Nutrition Society. 2013;72(1):117–125. https://doi.org/10.1017/S0029665112002820

17. Reddy DHK, Lee S-M, Seshaiah K. Biosorption of toxic heavy metal ions from water environment using honeycomb biomass – An industrial waste material. Water, Air, and Soil Pollution. 2011;223(9):5967–5982. https://doi.org/10.1007/s11270-012-1332-0

18. Izinyon OC, Nwosu OE, Akhigbe LO, Ilaboya IR. Performance evaluation of Fe (III) adsorption onto brewers' spent grain. Nigerian Journal of Technology. 2016;35(4):970–978. https://doi.org/10.4314/njt.v35i4.36

19. Coseri S, Biliuta G, Simionescu BC, Stana-Kleinschek K, Ribitsch V, Harabagiu V. Oxidized cellulose – Survey of the most recent achievements. Carbohydrate Polymers. 2013;93(1):207–215. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.086

20. Ma H, Hsiao BS, Chu B. Ultrafine cellulose nanofibers as efficient adsorbents for removal of $UO_2^{2+}$ in water. ACS Macro Letters. 2012;1(1):213–216. https://doi.org/10.1021/mz200047q

21. Su Y, Wenzel M, Paasch S, Seifert M, Böhm W, Doert T, *et al.* Recycling of brewer's spent grain as a biosorbent by nitro-oxidation for uranyl ion removal from wastewater. ACS Omega. 2021;6(30):19364–19377. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00589

22. Samuel AE, Nwankwo IC, Ezebor F, Ojuolape AA. Adsorption of chromium by brewers spent grain -g-poly (acrylic acid-co-acryl amide) from electroplating effluent. African Journal of Pure and Applied Chemistry. 2019;13(5):64–71. https://doi.org/10.5897/AJPAC2017.0734

23. Li Q, Chai L, Qin W. Cadmium(II) adsorption on esterified spent grain: Equilibrium modeling and possible mechanisms. Chemical Engineering Journal. 2012;197:173–180. https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.04.102

24. Chai L, Li Q, Zhu Y, Zhang Z, Wang Q, Wang Y, *et al.* Synthesis of thiol-functionalized spent grain as a novel adsorbent for divalent metal ions. Bioresource Technology. 2010;101(15):6269–6272. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.009

25. Su Y, Böhm W, Wenzel M, Paasch S, Acker M, Doert T, *et al.* Mild hydrothermally treated brewer's spent grain for efficient removal of uranyl and rare earth metal ions. RSC Advances. 2020;10(73):45116–45129. https://doi.org/10.1039/D0RA08164G

26. Vanreppelen K, Vanderheyden S, Kuppens T, Schreurs S, Yperman J, Carleer R. Activated carbon from pyrolysis of brewer's spent grain: Production and adsorption properties. Waste Management and Research. 2014;32(7):634–645. https://doi.org/10.1177/0734242X14538306

27. Osman AI, O'Connor E, McSpadden G, Abu-Dahrieh JK, Farrell C, Al-Muhtaseb AH, *et al.* Upcycling brewer's spent grain waste into activated carbon and carbon nanotubes via two-stage activation for energy and other applications. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 2020;95(1):183–195. https://doi.org/10.1002/jctb.6220

28. Wierzba S, Kłos A. Heavy metal sorption in biosorbents – Using spent grain from the brewing industry. Journal of Cleaner Production. 2019;225:112–120. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.286

29. Forssell P, Treimo J, Eijsink VGH, Faulds CB, Collins S, Schols HA, *et al.* Enzyme-aided fractionation of brewer's spent grains in pilot scale. Journal of the American Society of Brewing Chemists. 2011;69(2):91–99. https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2011-0408-01

30. White JS, Yohannan BK, Walker GM. Bioconversion of brewer's spent grains to bioethanol. FEMS Yeast Research. 2008;8(7):1175–1184. https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00390.x

31. Maache-Rezzoug Z, Maugard T, Goude R, Nouviaire A, Sannier F, Rezzoug S-A. A thermomechanical process for improving enzymatic hydrolysis of brewer's spent grain. 18th International Congress of Chemical and Process Engineering – CHISA' 2008; 2008; Prague. Prague; 2008.

32. Hassan SS, Tiwari BK, Williams GA, Jaiswal AK. Bioprocessing of brewers' spent grain for production of xylanopectinolytic enzymes by *Mucor* sp. Bioresource Technology Reports. 2020;9. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100371

33. Bernal-Ruiz M, Correa-Lozano A, Gomez-Sánchez L, Quevedo-Hidalgo B, Rojas-Pérez LC, García-Castillo C, *et al.* Brewer's spent grain as substrate for enzyme and reducing sugar production using Penicillium sp. HC1. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Fisicas y Naturales. 2021;45(176):850–863.

34. Duarte LC, Carvalheiro F, Lopes S, Marques S, Parajó JC, Gírio FM. Comparison of two posthydrolysis processes of Brewery's spent grain autohydrolysis liquor to produce a pentose-containing culture medium. Applied Biochemistry and Biotechnology – Part A Enzyme Engineering and Biotechnology. 2004;115(1–3):1041–1058. https://doi.org/10.1385/ABAB:115:1-3:1041

35. Abdel-Rahman MA, Hassan SE-D, Fouda A, Radwan AA, Barghoth MG, Desouky SG. Evaluating the effect of lignocellulose-derived microbial inhibitors on the growth and lactic acid production by *Bacillus coagulans* Azu-10. Fermentation. 2021;7(1). https://doi.org/10.3390/fermentation7010017

36. Macheiner D, Adamitsch BF, Karner F, Hampel WA. Pretreatment and hydrolysis of brewer's spent grains. Engineering in Life Sciences. 2003;3(10):401–405. https://doi.org/10.1002/elsc.200301831

37. Knob A, Terrasan CRF, Carmona EC. β-Xylosidases from filamentous fungi: An overview. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2010;26(3):389–407. https://doi.org/10.1007/s11274-009-0190-4

38. Gusmão RO, Solidade LS, Ferreira LFAA, de Assis FGDV, Da Cruz AR, Leal PL. Filamentous fungi producing enzymes under fermentation in cassava liquid waste. Acta Scientiarum – Biological Sciences. 2018;40(1). https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v40i1.41512

39. Li Y, Yan P, Lu X, Qiu Y, Liang S, Liu G, *et al.* Involvement of *PaSNF1* in Fungal Development, Sterigmatocystin Biosynthesis, and Lignocellulosic Degradation in the Filamentous Fungus *Podospora anserina*. Frontiers in Microbiology. 2020;11. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01038

40. Lynch KM, Strain CR, Johnson C, Patangia D, Stanton C, Koc F, *et al.* Extraction and characterisation of arabinoxylan from brewers spent grain and investigation of microbiome modulation potential. European Journal of Nutrition. 2021;60(8):4393–4411. https://doi.org/10.1007/s00394-021-02570-8

41. Reis SF, Coelho E, Coimbra MA, Abu-Ghannam N. Improved efficiency of brewer's spent grain arabinoxylans by ultrasound-assisted extraction. Ultrasonics Sonochemistry. 2015;24:155–164. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.10.010

42. Parchami M, Ferreira JA, Taherzadeh MJ. Starch and protein recovery from brewer's spent grain using hydrothermal pretreatment and their conversion to edible filamentous fungi – A brewery biorefinery concept. Bioresource Technology. 2021;337. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125409

43. Coelho E, Rocha MAM, Saraiva JA, Coimbra MA. Microwave superheated water and dilute alkali extraction of brewers' spent grain arabinoxylans and arabinoxylo-oligosaccharides. Carbohydrate Polymers. 2014;99:415–422. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.003

44. Mendez DA, Marti E, Puyuelo B, Colon J, Ponsa S. Evaluation of pre-treatments of brewery's spent grain for growing bacteria in the production of polyhydroxyalkanoates. Chemical Engineering Transactions. 2018;65:403–408. https://doi.org/10.3303/CET1865068

45. Mishtra PK, Gregor T, Wimmer R. Utilising brewer's spent grain as a source of cellulose nanofibres following separation of protein-based biomass. BioResources. 2017;12(1):107–116.

46. Martínez-Encinas EG, Carvajal-Millán E, Calderón de la Barca AM, Rascón-Chu A, Martínez-Porchas M, Márquez-Escalante JA, *et al.* Extraction and characterization of arabinoxylans obtained from nixtamalized brewers' spent grains. Food Science and Technology International. 2021;9. https://doi.org/10.1177/10820132211060609

47. Reis SF, Coelho E, Coimbra MA, Abu-Ghannam N. Improved efficiency of brewer's spent grain arabinoxylans by ultrasound-assisted extraction. Ultrasonics Sonochemistry. 2015;24:155–164. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.10.010

48. Vieira E, Rocha MAM, Coelho E, Pinho O, Saraiva JA, Ferreira IMPLVO, *et al.* Valuation of brewer's spent grain using a fully recyclable integrated process for extraction of proteins and arabinoxylans. Industrial Crops and Products. 2014;52:136–143. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.012

49. Coelho E, Rocha MAM, Moreira ASP, Domingues MRM, Coimbra MA. Revisiting the structural features of arabinoxylans from brewers' spent grain. Carbohydrate Polymers. 2016;139:167–176. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.006

50. Abdi R, Joye IJ. Prebiotic potential of cereal components. Foods. 2021;10(10). https://doi.org/10.3390/foods10102338

51. Pires EJ, Ruiz HA, Teixeira JA, Vicente AA. A new approach on brewer's spent grains treatment and potential use as lignocellulosic yeast cells carriers. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2012;60(23):5994–5999. https://doi.org/10.1021/jf300299m

52. Kumari B, Tiwari BK, Walsh D, Griffin TP, Islam N, Lyng JG, *et al.* Impact of pulsed electric field pre-treatment on nutritional and polyphenolic contents and bioactivities of light and dark brewer's spent grains. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2019;54:200–210. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.04.012

53. Wu J, Magrakvelidze M, Schmidt LPH, Kunitski M, Pfeifer T, Schöffler M, *et al.* Understanding the role of phase in chemical bond breaking with coincidence angular streaking. Nature Communications. 2013;4. https://doi.org/10.1038/ncomms3177

54. Torres-Mayanga PC, Azambuja SPH, Tyufekchiev M, Tompsett GA, Timko MT, Goldbeck R, *et al.* Subcritical water hydrolysis of brewer's spent grains: Selective production of hemicellulosic sugars (C-5 sugars). Journal of Supercritical Fluids. 2019;145:19–30. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.11.019

55. Gernet MV, Zakharov MA, Gribkova IN. The antioxidant compounds determination of various brewer's spent grain extracts. Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry. 2020;21(2): 263–270.

56. Meneses NGT, Martins S, Teixeira JA, Mussatto SI. Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains. Separation and Purification Technology. 2013;108:152–158. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015

57. Apaeva AV, Yamansarova ET, Kukovinets OS. Studing of extraction of flavonoids from buckwheat husks. Bulletin of Bashkir University. 2015;20(4):1223–1226. (In Russ.). [Апаева А. В., Ямансарова Э. Т., Куковинец О. С. Исследование экстракции флавоноидов из плодовых оболочек гречихи в различных условиях // Вестник Башкирского университета. 2015. Т. 20. № 4. С. 1223–1226.].

58. Kochetova MV, Semenistaya EN, Larionov OG, Revina AA. The biologically active phenols and polyphenols determination in various objects by chromatography methods. Russian Chemical Reviews. 2007;76(1):79–90. https://doi.org/10.1070/RC2007v076n01ABEH003632

59. Tukhtaev HR, Zaripov RSh, Yodgorov MF. Quantitative assessment of the quality of dry sage extract, obtained in the presence of surfactants. Farmatsevtika jurnali. 2017;(2):112–116. (In Russ.). [Тухтаев Х. Р., Зарипова Р. Ш., Ёдгоров М. Ф. Количественная оценка качества сухого экстракта шалфея, полученного в присутствии поверхностно-активных веществ // Farmatsevtika jurnali. 2017. № 2. С. 112–116.].

60. Perevertkina IV, Volkov AD, Bolotov VM. The effect of glycerin on the extraction of anthocyanin pigments from plant materials. Chemistry of Plant Raw Material. 2011;(2):187–188. (In Russ.). [Переверткина И. В., Волков А. Д., Болотов В. М. Влияние глицерина на экстрагирование антоциановых пигментов из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2011. № 2. С. 187–188.].

61. Wahlström R, Rommi K, Willberg-Keyriläinen P, Ercili-Cura D, Holopainen-Mantila U, Hiltunen J, *et al.* High yield protein extraction from brewer's spent grain with novel carboxylate salt – urea aqueous deep eutectic solvents. ChemistrySelect. 2017;2(29):9355–9363. https://doi.org/10.1002/slct.201701492

62. Ikram S, Huang LY, Zhang H, Wang J, Yin M. Composition and nutrient value proposition of brewers spent grain. Journal of Food Science. 2017;82(10):2232–2242. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13794

63. Li W, Yang H, Coldea TE, Zhao H. Modification of structural and functional characteristics of brewer's spent grain protein by ultrasound assisted extraction. LWT. 2021;139. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110582

64. Chin YL, Chai KF, Chen WN. Upcycling of brewers' spent grains via solid-state fermentation for the production of protein hydrolysates with antioxidant and techno-functional properties. Food Chemistry: X. 2021;13. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100184

65. Celus I, Brijs K, Delcour JA. Enzymatic hydrolysis of Brewers' spent grain proteins and technofunctional properties of the resulting hydrolysates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007;55(21):8703–8710. https://doi.org/10.1021/jf071793c

66. Connolly A, Piggott CO, Fitzgerald RJ. Characterization of protein-rich isolates and antioxidant phenolic extracts from pale and black spent grain brewers. International Journal of Food Science and Technology. 2013;48(8):1670–1681.

67. Kramer RM, Shende VR, Motl N, Pace CN, Scholtz JM. Toward a molecular understanding of protein solubility: increased negative surface charge correlates with increased solubility. Biophysical Journal. 2012;102(8):1907–1915. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.01.060

68. Qin F, Johansen AZ, Mussatto SI. Evaluation of different pretreatment strategies for protein extraction from brewer's spent grains. Industrial Crops and Products. 2018;125:443–453. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.017

69. Treimo J, Aspmo SI, Eijsink VGH, Horn SJ. Enzymatic solubilization of proteins in Brewer's spent grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2008;56(12):5359–5365. https://doi.org/10.1021/jf073317s

70. Essien JP, Udotong IR. Amino acid profile of biodegraded brewers spent grains (BSG). Journal of Applied Sciences and Environmental Management. 2008;12(1):109–111. https://doi.org/10.4314/jasem.v12i1.55582

71. Barbosa C, García-Martínez J, Pérez-Ortín JE, Mendes-Ferreira A. Comparative transcriptomic analysis reveals similarities and dissimilarities in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains response to nitrogen availability. PLoS ONE. 2015;10(4). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122709

72. Cermeño M, Connolly A, O'Keeffe MB, Flynn C, Alashi AM, Aluko RE, *et al.* Identification of bioactive peptides from brewers' spent grain and contribution of Leu/Ile to bioactive potency. Journal of Functional Foods. 2019;60. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103455

73. Nongonierma AB, FitzGerald RJ. Features of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from dietary proteins. Journal of Food Biochemistry. 2019;43(1). https://doi.org/10.1111/jfbc.12451

74. Ma F-F, Wang H, Wei C-K, Thakur K, Wei Z-J, Jiang L. Three novel ACE inhibitory peptides isolated from *Ginkgo biloba* seeds: Purification, inhibitory kinetic and mechanism. Frontiers in Pharmacology. 2019;9. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01579

75. Tang D-S, Yin G-M, He Y-Z, Hu S-Q, Li B, Li L, *et al.* Recovery of protein from brewer's spent grain by ultrafiltration. Biochemical Engineering Journal. 2009;48(1):1–5. https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.05.019

76. Jaeger A, Zannini E, Sahin AW, Arendt EK. Barley protein properties, extraction and applications, with a focus on brewers' spent grain protein. Foods. 2021;10(6). https://doi.org/10.3390/foods10061389

77. Tang D-S, Tian Y-J, He Y-Z, Li L, Hu S-Q, Li B. Optimisation of ultrasonic-assisted protein extraction from brewer's spent grain. Czech Journal of Food Sciences. 2010;28(1):9–17. https://doi.org/10.17221/178/2009-cjfs

78. Macias-Garbett R, Serna-Hernández SO, Sosa-Hernández JE, Parra-Saldívar R. Phenolic compounds from brewer's spent grains: toward green recovery methods and applications in the cosmetic industry. Frontiers in Sustainable Food Systems. 2021;5. https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.681684

79. Zuorro A, Iannone A, Lavecchia R. Water-organic solvent extraction of phenolic antioxidants from brewers' spent grain. Processes. 2019;7(3). https://doi.org/10.3390/pr7030126

80. Andres AI, Petron MJ, Lopez AM, Timon ML. Optimization of extraction conditions to improve phenolic content and in vitro antioxidant activity in craft brewers' spent grain using Response Surface Methodology (RSM). Foods. 2020;9(10). https://doi.org/10.3390/foods9101398

81. Birsan RI, Wilde P, Waldron KW, Rai DK. Recovery of polyphenols from brewer's spent grains. Antioxidants. 2019;8(9). https://doi.org/10.3390/antiox8090380

82. Bonifácio-Lopes T, Vilas Boas AA, Coscueta ER, Costa EM, Silva S, Campos D, *et al.* Bioactive extracts from brewer's spent grain. Food and Function. 2020;11(10):8963–8977. https://doi.org/10.1039/D0FO01426E

83. Lemańska K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Zieliński R, Soffers AEMF, Rietjens IMCM. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. Free Radical Biology and Medicine. 2001;31(7):869–881. https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00638-4

84. Honda S, Ishida R, Hidaka K, Masuda T. Stability of polyphenols under alkaline conditions and the formation of a xanthine oxidase inhibitor from gallic acid in a solution at pH 7.4. Food Science and Technology Research. 2019;25(1):123–129. https://doi.org/10.3136/fstr.25.123

85. Friedman M, Jürgens HS. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000;48(6):2101–2110. https://doi.org/10.1021/jf990489

86. Zeng L, Ma M, Li C, Luo L. Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. International Journal of Food Properties. 2017;20(1):1–18. https://doi.org/10.1080/10942912.2014.983605

87. Zhou X, Iqbal A, Li J, Liu C, Murtaza A, Xu X, *et al.* Changes in browning degree and reducibility of polyphenols during autoxidation and enzymatic oxidation. Antioxidants. 2021;10(11). https://doi.org/10.3390/antiox10111809

88. Hernanz D, Nuñez V, Sancho AI, Faulds CB, Williamson G, Bartolomé B, *et al.* Hydroxycinnamic acids and ferulic acid dehydrodimers in barley and processed barley. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001;49(10):4884–4888. https://doi.org/10.1021/jf010530u

89. Bartolomé B, Santos M, Jimeénez JJ, Del Nozal MJ, Gomez-Cordoveés C. Pentoses and hydroxycinnamic acids in brewer's spent grain. Journal of Cereal Science. 2002;36(1):51–58. https://doi.org/10.1006/jcrs.2002.0442

90. Mandalari G, Faulds C, Sancho AI, Saija A, Bisignano G, Locurto R, *et al.* Fractionation and characterisation of arabinoxylans from brewers' spent grain and wheat bran. Journal of Cereal Science. 2005;42(2):205–212. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.03.001

91. Mussatto SI, Dragone G, Roberto IC. Ferulic and *p*-coumaric acids extraction by alkaline hydrolysis of brewer's spent grain. Industrial Crops and Products. 2007;25(2):231–237. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.11.001

92. Jay AJ, Parker ML, Faulks R, Husband F, Wilde P, Smith AC, *et al.* A systematic micro-dissection of brewers' spent grain. Journal of Cereal Science. 2008;47(2):357–364. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.05.006

93. McCarthy AL, O'Callaghan YC, Connolly A, Piggott CO, Fitzgerald RJ, O'Brien NM. Phenolic extracts of brewers' spent grain (BSG) as functional ingredients – Assessment of their DNA protective effect against oxidant-induced DNA single strand breaks in U937 cells. Food Chemistry. 2012;134(2):641–646. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.133

94. Reis SF, Abu-Ghannam N. Antioxidant capacity, arabinoxylans content and *in vitro* glycaemic index of cereal-based snacks incorporated with brewer's spent grain. LWT – Food Science and Technology. 2014;55(1):269–277. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.004

95. Stefanello FS, dos Santos CO, Bochi VC, Fruet APB, Soquetta MB, Dörr AC, *et al.* Analysis of polyphenols in brewer's spent grain and its comparison with corn silage and cereal brans commonly used for animal nutrition. Food Chemistry. 2018;239:385–401. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.130

96. Ideia P, Sousa-Ferreira I, Castilho PC. A novel and simpler alkaline hydrolysis methodology for extraction of ferulic acid from brewer's spent grain and its (partial) purification through adsorption in a synthetic resin. Foods. 2020;9(5). https://doi.org/10.3390/foods9050600

97. Tišma M, Jurić A, Bucić-Kojić A, Panjičko M, Planinić M. Biovalorization of brewers' spent grain for the production of laccase and polyphenols. Journal of the Institute of Brewing. 2018;124(2):182–186. https://doi.org/10.1002/jib.479

98. Leite P, Silva C, Salgado JM, Belo I. Simultaneous production of lignocellulolytic enzymes and extraction of antioxidant compounds by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. Industrial Crops and Products. 2019;137:315–322. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.044

99. Tan YX, Mok WK, Lee J, Kim J, Chen WN. Solid state fermentation of Brewers' spent grains for improved nutritional profile using *Bacillus subtilis* WX-17. Fermentation. 2019;5(3). https://doi.org/10.3390/fermentation5030052

100. da Costa Maia I, Thomaz dos Santos D'Almeida C, Guimarães Freire DM, d'Avila Costa Cavalcanti E, Cameron LC, Furtado Dias F, *et al.* Effect of solid-state fermentation over the release of phenolic compounds from brewer's spent grain revealed by UPLC-MS$^{E}$. LWT. 2020;133. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110136

101. Forssell P, Kontkanen H, Schols HA, Hinz S, Eijsink VGH, Treimo J, *et al.* Hydrolysis of brewers' spent grain by carobohydrate degrading enzymes. Journal of the Institute of Brewing. 2008;114(4):306–314. https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00774.x

102. Szwajgier D, Targoński Z. Release of free ferulic acid and feruloylated arabinoxylans from brewery's spent grain by commercial enzyme preparations. EJPAU. 2006;9(1).

103. Alonso-Riaño P, Diez MTS, Blanco B, Beltrán S, Trigueros E, Benito-Román O. Water ultrasound-assisted extraction of polyphenol compounds from brewer's spent grain: Kinetic study, extract characterization, and concentration. Antioxidants. 2020;9(3). https://doi.org/10.3390/antiox9030265

104. Chetrariu A, Dabija A. Spent grain from malt whisky: Assessment of the phenolic compounds. Molecules. 2021;26(11). https://doi.org/10.3390/molecules26113236

105. Herbst G, Hamerski F, Errico M, Corazza ML. Pressurized liquid extraction of brewer's spent grain: Kinetics and crude extracts characterization. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2021;102:370–383. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.07.020

106. Smeds AI, Eklund PC, Sjöholm RE, Willför SM, Nishibe S, Deyama T, *et al.* Quantification of a broad spectrum of lignans in cereals, oilseeds, and nuts. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007;55(4):1337–1346. https://doi.org/10.1021/jf0629134

107. Holtekjølen AK, Kinitz C, Knutsen SH. Flavanol and bound phenolic acid contents in different barley varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006;54(6):2253–2260. https://doi.org/10.1021/jf052394p

108. He R, Wu K, Zhang A, Xie Z, Sun P. Mechanochemical-assisted extraction and pharmacological study of triterpenoids from *Antrodia camphorata*. Applied Sciences. 2019;9(20). https://doi.org/10.3390/app9204281

109. de Oliveira AA, Torres AG, Perrone D, Monteiro M. Effect of high hydrostatic pressure processing on the anthocyanins content, antioxidant activity, sensorial acceptance and stability of jussara (*Euterpe edulis*) juice. Foods. 2021;10(10). https://doi.org/10.3390/foods10102246

110. Uribe E, Delgadillo A, Giovagnoli-Vicunã C, Quispe-Fuentes I, Zura-Bravo L. Extraction techniques for bioactive compounds and antioxidant capacity determination of chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) fruit. Journal of Chemistry. 2015;2015. https://doi.org/10.1155/2015/347532

111. Spinelli S, Conte A, Lecce L, Padalino L, Del Nobile MA. Supercritical carbon dioxide extraction of brewer's spent grain. Journal of Supercritical Fluids. 2015;107:69–74. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.08.017

112. Ferrentino G, Ndayishimiye J, Haman N, Scampicchio M. Functional activity of oils from brewer's spent grain extracted by supercritical carbon dioxide. Food and Bioprocess Technology. 2019;12(5):789–798. https://doi.org/10.1007/s11947-019-02249-3

113. López-Linares JC, Campillo V, Coca M, Lucas S, García-Cubero MT, *et al.* Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction of phenolic compounds from brewer's spent grain. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 2021;96(2):481–490. https://doi.org/10.1002/jctb.6565

114. Moreira MM, Morais S, Barros AA, Delerue-Matos C, Guido LF. A novel application of microwave-assisted extraction of polyphenols from brewer's spent grain with HPLC-DAD-MS analysis. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2012;403(4):1019–1029. https://doi.org/10.1007/s00216-011-5703-y

115. Martín-García B, Tylewicz U, Verardo V, Pasini F, Gómez-Caravaca AM, Caboni MF, *et al.* Pulsed electric field (PEF) as pre-treatment to improve the phenolic compounds recovery from brewers' spent grains. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020;64. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102402

116. Redondo D, Venturini ME, Luengo E, Raso J, Arias E. Pulsed electric fields as a green technology for the extraction of bioactive compounds from thinned peach by-products. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2018;45:335–343. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.12.004

117. Tzima K, Brunton NP, Lyng JG, Frontuto D, Rai DK. The effect of Pulsed Electric Field as a pre-treatment step in Ultrasound Assisted Extraction of phenolic compounds from fresh rosemary and thyme by-products. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2021;69. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102644

118. Eder R, Mappala H. The role of tocotrienols in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis- a meta-analysis. Gut. 2019;68:A144. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-IDDFabstracts.280

119. Thavasiappan V, Nanjappan K, Ezakial Napolean R, Visha P, Selvaraj P, Doraisamy KA. Fatty acid profile of wet brewer's spent grain. International Journal of Science, Environment and Technology. 2016;5(4): 2516–2521.

120. Zárate R, el Jaber-Vazdekis N, Tejera N, Pérez JA, Rodríguez C. Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. Clinical and Translational Medicine. 2017;6(1). https://doi.org/10.1186/s40169-017-0153-6

121. del Río JC, Prinsen P, Gutiérrez A. Chemical composition of lipids in brewer's spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. Journal of Cereal Science. 2013;58(2):248–254. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.001

122. Bohnsack C, Ternes W, Büsing A, Drotleff AM. Tocotrienol levels in sieving fraction extracts of brewer's spent grain. European Food Research and Technology. 2011;232(4):563–573. https://doi.org/10.1007/s00217-010-1419-z

123. Phelan A, Meissner K, Humphrey J, Ross H. Plastic pollution and packaging: Corporate commitments and actions from the food and beverage sector. Journal of Cleaner Production. 2022;331. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129827

124. Moreirinha C, Vilela C, Silva NHCS, Pinto RJB, Almeida A, Rocha MAM, *et al.* Antioxidant and antimicrobial films based on brewers spent grain arabinoxylans, nanocellulose and feruloylated compounds for active packaging. Food Hydrocolloids. 2020;108. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105836

125. Ferreira AM, Martins J, Carvalho LH, Magalhães FD. Biosourced disposable trays made of brewer's spent grain and potato starch. Polymers. 2019;11(5). https://doi.org/10.3390/polym11050923

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2382
https://elibrary.ru/VWDFAH

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Идентификация кристаллов тартратных солей в составе осадка вин

**Н. В. Гниломедова[1,*], Н. С. Аникина[1], А. В. Весютова[1], В. А. Олейникова[1], В. М. Гавриш[2], Т. В. Чайка[2]**

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

[2] *Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия*

*Поступила в редакцию: 22.02.2022*
*Принята после рецензирования: 17.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

**Н. В. Гниломедова: 231462@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1784-2370*
*Н. С. Аникина: https://orcid.org/0000-0001-5682-3426*
*А. В. Весютова: https://orcid.org/0000-0003-3815-5756*
*В. А. Олейникова: https://orcid.org/0000-0002-0252-8904*
*В. М. Гавриш: https://orcid.org/0000-0003-2009-5812*
*Т. В. Чайка: https://orcid.org/0000-0002-5549-2415*

*© Н. В. Гниломедова, Н. С. Аникина, А. В. Весютова, В. А. Олейникова, В. М. Гавриш, Т. В. Чайка, 2022*

**Аннотация.**
Одной из проблем винодельческой отрасли является выпадение в винах кристаллического осадка гидротартрата калия, реже – тартрата кальция. Идентификация кристаллов необходима для установления причин их формирования, а также принятия технологических решений по обработке вин. Целью работы являлось исследование морфологических особенностей солей винной кислоты калия и кальция методами микроскопии, а также разработка системы дескрипторов для характеристики их кристаллов.
Объектами исследования являлись осадки, образованные в винах естественным образом на протяжении 6 месяцев после окончания брожения, а также при провокации кристаллизации путем охлаждения вина до температуры, близкой к точке замерзания. Были изучены кристаллические осадки 105 образцов белых и красных вин. Микроскопирование проводилось на оптическом микроскопе Микмед-5 и сканирующем электронном микроскопе PHENOMproX. Идентификацию катионов в составе кристаллов проводили методом энергодисперсионной спектроскопии, а также по качественной реакции с сульфат-анионом в кислой среде.
Установлено, что для гидротартрата калия свойственно соосаждение коллоидных веществ. Это приводит к нарушению кристаллической решетки и обуславливает такие признаки, как окрашивание в цвет вина, полиморфизм (усеченно-элипсовидная → ланцетовидная → ромбовидная → геометрически неправильная формы), шероховатость поверхности и оптическая непрозрачность. Выраженность признаков усиливается по мере роста кристалла (3–350 мкм). Тартрат кальция характеризуется отсутствием эволюционных изменений, морфологическим однообразием, бесцветностью и прозрачностью, гладкостью граней и четкостью ребер, независимо от размеров кристалла (1–150 мкм) и особенностей химического состава вина.
Проведена систематизация морфологических особенностей кристаллов виннокислых солей, образующихся в винах. Полученные сведения являются важным элементом технохимического контроля при диагностике причин дестабилизации вин и могут быть рекомендованы как методический материал для дальнейших научных исследований, а также для применения в отраслевых лабораториях и профильных образовательных учреждениях.

**Ключевые слова.** Технохимический контроль, кристаллическая дестабилизация, битартрат калия, тартрат кальция, сканирующая электронная микроскопия, энергодисперсионная спектроскопия, виноделие

**Для цитирования:** Идентификация кристаллов тартратных солей в составе осадка вин / Н. В. Гниломедова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 490–499. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2382

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2382
https://elibrary.ru/VWDFAH

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Identifying Tartrate Salt Crystals in Wine Sediment

**Nonna V. Gnilomedova[1,*], Nadezhda S. Anikina[1], Antonina V. Vesyutova[1], Veronika A. Oleinikova[1], Vladimir M. Gavrish[2], Tatyana V. Chayka[2]**

[1] *All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking "Magarach" of the RAS, Yalta, Russia*

[2] *Sevastopol State University, Sevastopol, Russia*

*Received: 22.02.2022*
*Revised: 17.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

**Nonna V. Gnilomedova: 231462@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1784-2370*
*Nadezhda S. Anikina: https://orcid.org/0000-0001-5682-3426*
*Antonina V. Vesyutova: https://orcid.org/0000-0003-3815-5756*
*Veronika A. Oleinikova: https://orcid.org/0000-0002-0252-8904*
*Vladimir M. Gavrish: https://orcid.org/0000-0003-2009-5812*
*Tatyana V. Chayka: https://orcid.org/0000-0002-5549-2415*

*© N.V. Gnilomedova, N.S. Anikina, A.V. Vesyutova, V.A. Oleinikova, V.M. Gavrish, T.V. Chayka, 2022*

**Abstract.**
Crystalline sediment of potassium hydrotartrate and calcium tartrate in wines is a major problem of wine industry. Reliable identification of crystals can establish the cause of their formation and facilitate appropriate technological solutions. The research objective was to study the morphological features of potassium and calcium salts of tartaric acid via microscopy.
The study featured natural crystal sediments that developed in 105 samples of white and red wines over six months after the end of fermentation, as well as when crystallization was provoked by freezing. The microscopic examination involved a Micmed-5 optical microscope and a PHENOMproX scanning electron microscope. Identification of cations in the composition of crystals followed the method of energy-dispersive spectroscopy, as well as the method of quality reaction with sulfate-anion in acidic medium.
Co-precipitation of colloidal substances was typical of potassium hydrotartrate. It violated the crystal lattice construction and determined the wine color, polymorphism (truncated ellipsoid → lanceolar → rhomboid → geometrically irregular shapes), surface roughness, and optical opacity. The expressiveness increased with the crystal growth (3–350 μm). Calcium tartrate demonstrated no evolutionary changes; it was morphologically uniform, colorless, and transparent. Its crystals had smooth faces and clear edges, regardless of their size (1–150 μm) and the chemical composition of wine.
The research systemized the morphological features of tartrate crystals formed in wines. The obtained results are important for the technochemical control in the process of destabilization diagnosis. The data can be recommended for further studies in applied research laboratories and institutes.

**Keywords.** Technochemical control, crystalline destabilization, potassium bitartrate, calcium tartrate, electronic microscopy, scanning electron microscopy, energy-dispersive spectroscopy, winemaking

**For citation:** Gnilomedova NV, Anikina NS, Vesyutova AV, Oleinikova VA, Gavrish VM, Chayka TV. Identifying Tartrate Salt Crystals in Wine Sediment. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):490–499. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2382

## Введение

Одним из основных моментов технохимического контроля в виноделии является обеспечение гарантированного качества готовой продукции. В случае недостаточно эффективной технологической обработки или нарушений условий хранения некоторые компоненты вина приводят к формированию осадка в бутилированном вине [1–5]. В винах процесс образования кристаллов происходит за счет образования гидротартрата калия (взаимодействие ионов калия и винной кислоты, диссоциированной по первой ступени), реже – за счет тетрагидротартрата кальция (взаимодействие ионов кальция и винной кислоты, диссоциированной по второй ступени). Это объясняется особенностями химического состава вин: содержание калия превышает содержание кальция в 5–10 раз, гидротартрат-аниона, по сравнению с тартрат-анионом, – в 10–20 раз, а также быстрым

реагированием калиевой соли на понижение температурного фона [6–8].

Достоверное определение катиона в составе соли, образовавшей осадок вин, необходимо специалистам для установления причин, повлекших потерю растворимости тартратов, и принятия соответствующих технологических решений по устранению проблемы.

Наиболее доступным методом анализа осадков вин в условиях неспециализированной лаборатории является оптическая микроскопия. Она дает представление о форме, цвете и прозрачности объекта за счет проходящего луча света. Наличие соответствующего оборудования и программного обеспечения делает возможным проведение измерений и получение цифрового изображения предметов, находящихся в поле зрения. Однако информативность данного вида исследований ограничена относительно невысокой разрешающей способностью оптического микроскопа. В практике аналитических исследований топологии поверхности и микрообъектов, в частности кристаллов, все большее распространение получает сканирующая электронная микроскопия. Она дает не только трехмерное отображение кристаллов, но и четкий микрорельеф при увеличении в тысячи раз [9, 10]. Однако повсеместное распространение данного высокотехнологичного решения, в том числе на винодельческих предприятиях, ограничивается высокой стоимостью оборудования.

В чистых растворах все образованные кристаллы имеют типичную для конкретного соединения морфологию. Их размер зависит от скорости и длительности процесса формирования. Вино является сложной химической системой, в которой на процесс кристаллообразования способно оказывать влияние значительное количество веществ. Коллоидные вещества вина (полисахариды, белки, фенольные вещества) могут препятствовать развитию кристаллов гидротартрата калия, приводя к нарушению их морфологии и укорочению оси роста [11, 12]. Причем в красных винах возможно образование окрашенных кристаллов искаженной формы, по сравнению с белыми, за счет более высокого содержания высокомолекулярных компонентов.

Несмотря на подробное изучение калиевой соли винной кислоты, в современной научной литературе недостаточно внимания уделяется описанию кальциевой соли в винных осадках. Имеющаяся информация по влиянию различных веществ на внешнее строение тартрата кальция и способам блокирования роста кристаллов противоречива и недостаточна для применения в винодельческой практике. Работы по изучению тартрата кальция представляют определенный интерес вне сферы виноделия, т. к. это вещество широко используется в фармацевтике, а также в различных областях науки и техники [12–16]. Методом сканирующей электронной микроскопии установлено, что наличие аминокислот (концентрация 50–200 мг/дм$^3$) в среде, как и в случае гидротартрата калия, приводит к укорочению оси роста и формированию ромбовидных и пирамидальных кристаллов, по сравнению с чистым раствором, в котором образуются кристаллы длиннопризматической формы [12]. Оригинальные результаты получены методом стереомикроскопии. Она позволила обнаружить кристаллы тартрата кальция в пищевом тракте виноградной цикадки (*Empoasca vitis*) – насекомого, питающегося соком виноградного растения [15]. Форма и размер этих включений (в среднем длина составляла 87 мкм, ширина – 46 мкм) характерны для тартрата кальция, присутствующего в осадках вин. Это свидетельствует о типичности морфологии кристаллов кальциевой соли винной кислоты, полученных в разных условиях. Учитывая, что многие представленные в литературе данные получены на средах, достаточно отдаленных от химического состава вина, необходимы дополнительные исследования. Они позволят экстраполировать установленные закономерности на технологические процессы винодельческой промышленности.

В технохимическом контроле в виноделии отсутствует общепринятый терминологический аппарат для визуального описания картины микроскопирования. Характеристика специфики морфологии кристаллов субъективна и зависит от профессионального опыта и навыков специалиста. Это затрудняет получение достоверных выводов, необходимых для принятия соответствующих решений в области как технологических приемов обработки виноматериалов, так и нормоконтроля готовой продукции, что требует систематизации и обобщения информации по особенностям кристаллизации виннокислых солей калия и кальция.

Целью данной работы являлась разработка системы идентификации образовавшихся в вине кристаллов гидротартрата калия и тартрата кальция на основе результатов оптической и электронной микроскопии.

**Объекты и методы исследования**

Объектами исследования являлись кристаллические осадки, сформировавшиеся в винах в результате выпадения виннокислых солей калия и кальция в виноматериалах. Образцами сравнения служили промышленные препараты гидротартрата калия (Potassium bitartrate, «DVSA», Аргентина) и тартрата кальция (Calci-contact, «Erbslöh», Германия), применяемые в виноделии для обработки вин.

Вина были выработаны в условиях микровиноделия и промышленного производства. Исследования проводили в период 2018–2021 гг. Общий объем выборки составил 105 белых и красных образцов,

полученных из винограда европейских технических сортов, произрастающих на территории полуострова Крым.

Переработка винограда предусматривала ряд технологических этапов: по белому способу – гребнеотделение и дробление винограда, отделение сусла, сульфитация (75 мг/л $SO_2$), отстаивание, брожение (дрожжи из Коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач»), дображивание и осветление; по красному способу – гребнеотделение и дробление винограда, сульфитация (75 мг/л $SO_2$), брожение мезги (дрожжи из Коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач») до 1/3 остаточных сахаров, отделение сусла, дображивание и осветление.

Специфику кристаллизации виннокислых солей в винах изучали в условиях естественного (неиндуцированного) образования. Образцы вин закладывались на хранение в стеклянных баллонах объемом 3 л при температуре 14 ± 2 °С. Сформировавшийся осадок отбирали для анализа через 1, 3, 6 месяцев после завершения брожения. Провокацию кристаллизации проводили путем охлаждения образцов до температуры, близкой к точке замерзания. Для этого 100 см$^3$ вина наливали в стеклянные флаконы с завинчивающейся крышкой и помещали в морозильную камеру при температуре –4 ± 0,5 °С на 3 суток. Кристаллы микроскопировали каждые 24 ч.

Для анализа кристаллов, независимо от условий их образования, пипеткой отбирали пробы в трех точках осадочного слоя вина и объединяли. Затем анализировали усредненную пробу, полученную из каждого образца.

Визуальную оценку кристаллического осадка и его словесное описание проводили при просмотре стеклянного сосуда с вином в свете щелевого фонаря, а также после получения микропрепарта (на предметном стекле). Отмечали такие характеристики, как блеск, окрашивание и срощенность кристаллов, наличие коркообразного слоя.

Исследование кристаллических осадков методом прямой оптической микроскопии проводили на микроскопе Микмед-5 (АО «ЛОМО», Россия) с системой визуализации и программным обеспечением Image Scope M. на базе Всероссийского национального научно-исследовательского института виноградарства и виноделия «Магарач» РАН (Ялта). Выделенный осадок просматривали в капле вина без покровного стекла. Излишки жидкости предварительно удаляли с предметного стекла фильтровальной бумагой. Изучение каждой пробы осуществляли не менее чем в десяти полях зрения.

Изучение кристаллов методом сканирующей электронной микроскопии проводили на приборе PHENOMproX («Phenom-World B.V.», Нидерланды) на базе научно-образовательного центра «Перспективные технологии и материалы» Севастопольского государственного университета (Севастополь). Технические параметры: максимальное увеличение – ×150 000, разрешение – 8 нм, ускоряющее напряжение – 5, 10, 15 кВ. В качестве подложки для изучаемого образца использовали двустороннюю липкую углеродную пластину (диаметр 10 мм). Пробоподготовка осадка для анализа методом сканирующей электронной микроскопии, разработанная нами ранее, предполагала 3-х кратное его отмывание этиловым спиртом от органических веществ вина с дальнейшим высушиванием на воздухе.

Элементный состав определяли методом энергодисперсионной спектроскопии. В модификацию электронного микроскопа интегрирован энергодисперсионный рентгеновский спектрометр с кремниевым дрейфовым детектором, охлаждаемым элементом Пельтье. С помощью сфокусированного высокоэнергетического пучка электронов атомы исследуемого образца возбуждаются, испуская характерное для каждого химического элемента рентгеновское излучение. Обработка спектра излучения осуществлялась с помощью программы Element Identification (Phenom), позволяющая использовать электронный микроскоп Phenom ProX для качественного и количественного анализа образцов. Определение солеобразующего катиона кристаллов проводили в осадках, выделенных из красных и белых вин. В каждой пробе исследовали не менее десяти кристаллов, отличающихся по морфологическим особенностям.

Качественное определение катиона в составе осадка проводили по предложенному нами ранее методу идентификации кристаллов с помощью раствора сульфата натрия (15 %) в водном растворе азотной кислоты (10 %) [17]. На стекло шпателем помещали кристаллический осадок, осушали фильтровальной бумагой и наносили каплю реактива. Путем оптического микроскопирования при 150-кратном увеличении наблюдали реакцию: полное растворение кристаллов свидетельствует о их калиевой природе; формирование нерастворимого соединения – сульфата кальция, – обладающего специфической морфологией в виде отдельных звездчатых и игольчатых структур или их сростков, характерно для кальциевой соли.

Измерение отдельного кристалла проводили по его длинной оси. Данный параметр положен в основу систематизации полученных данных для объединения кристаллов в пять размерных групп: очень мелкие, мелкие, средние, крупные и очень крупные. Шкалы разработаны отдельно для гидротартрата калия и тартрата кальция с учетом их морфологических особенностей.

**Результаты и их обсуждение**

В качестве образцов сравнения морфологических особенностей виннокислых солей калия и кальция

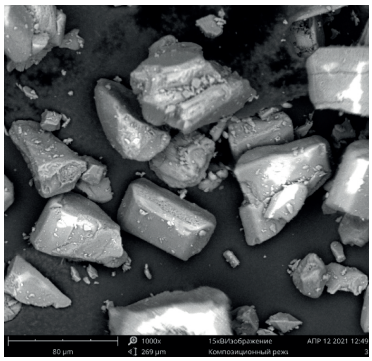


Рисунок 1. Гидротартрат калия

Figure 1. Potassium hydrogen tartrate

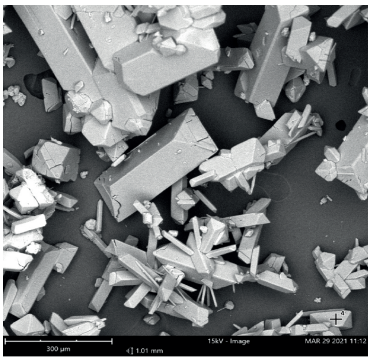


Рисунок 2. Тартрат кальция

Figure 2. Calcium tartrate

были исследованы препараты, которые применяются в винодельческой промышленности для стабилизации вин против кристаллических помутнений (рис. 1 и 2).

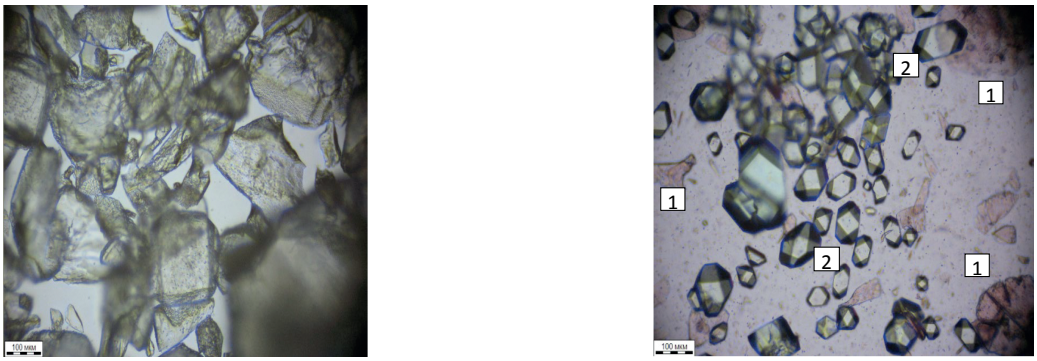
Как следует из представленных изображений, полученных методом сканирующей электронной микроскопии, кристаллы тартрата кальция имеют форму правильных удлиненных призм. Кристаллы гидротартрата калия представляют собой разрушенные условно-призматические структуры. Это связано с искусственным механическим измельчением препарата при его производстве, которое необходимо для увеличения площади поверхности и обеспечения высокой технологической эффективности.

Анализ осадков вин через 1 месяц после завершения брожения показал наличие отдельных кристаллов во всех образцах. Через 6 месяцев от момента закладки вин на хранение в осадке обнаружены как отдельные кристаллы, так и их сростки, которые постепенно сливались в коркообразный слой. Исследование показало, что гидротартрат калия присутствует в осадках в 100 % случаев, а тартрат кальция был обнаружен только в 60 %. Было отмечено большое разнообразие внешнего вида и размеров кристаллов гидротартрата калия, которые варьировались в широком диапазоне 5–1500 мкм. Это обусловлено различным исходным содержанием активных компонентов и длительностью процесса роста в отдельно взятом образце.

Для кристаллов гидротартрата калия, сформировавшихся в винах естественным образом без индукции охлаждением, характерны определенные эволюционные изменения. Методом оптической микроскопии установлено, что на начальных стадиях роста кристаллы характеризуются плоской формой, прозрачностью и бесцветностью. Общую динамику изменения морфологии можно описать следующим образом: усеченно-элипсовидная → ланцетовидная → ромбовидная. При этом прослеживается тенденция к увеличению толщины кристаллов с потерей прозрачности. По мере соосаждения фенольных веществ, в том числе красящих, происходит окрашивание кристаллов, что заметно на примере осадков красных вин. В густо-окрашенных винах за счет активного мешающего влияния коллоидных соединений деформация кристаллов более выражена. В некоторых случаях наблюдается полная потеря их сходства с объектами, имеющими кристаллическую структуру (рис. 3), что согласуется с литературными данными [11, 18–20].

Потеря блеска кристаллами зависит от скорости роста. Например, в случае значительного охлаждения вина прозрачные блестящие включения формируются достаточно быстро, т. к. скорость достраивания кристаллической решетки выше, чем соосаждение коллоидов. Это явление наблюдается при холодовой обработке вин и обуславливает рост блестящих прозрачных кристаллов в течение нескольких суток. Однако бесцветные кристаллы гидротартрата калия правильной формы с гладкими гранями, образовавшиеся естественным образом в вине, поступившем в продажу, являются редким явлением. Наличие таких кристаллов свидетельствует о резком переохлаждении вина в результате снижения температуры до уровня, близкого к точке замерзания. Этот факт наблюдается в случае нарушений условий хранения и/или транспортировки готовой продукции. Результаты исследований показывают, что образование осадка гидротартрата калия в бутилированных винах является следствием недостаточной эффективной стабилизации вина перед розливом. В этом случае по мере роста и «старения» кристаллы становятся полностью оптически непрозрачны, утрачивают грани и ребра и формируют хаотичные сростки, постепенно приводящие к разрастанию коркообразного слоя.

На основании систематизации и обобщения накопленных данных была проведена классификация морфологических признаков кристаллов гидротрата




a b

Рисунок 3. Оптическая микроскопия. Кристаллический осадок: a – гидротартрат калия, образовавшийся в белом вине; b – гидротартрат калия (1) и тартрат кальция (2), образовавшиеся в красном вине

Figure 3. Optical microscopy. Crystalline precipitate: a – potassium hydrogen tartrate in white wine; b – potassium hydrogen tartrate (1) and calcium tartrate (2) in red wine

Таблица 1. Характеристика кристаллов гидротартрата калия, образовавшихся в результате дестабилизации вин

Table 1. Potassium hydrotartrate crystals formed as a result of wine destabilization

| Величина кристаллов | Характеристика кристаллов | |
|---|---|---|
| | Микроскопирование (длина, мкм) | Визуальный осмотр вина в луче света |
| Очень мелкие | 3–10 | Блеском не обладают, отдельные кристаллы не выявляются |
| Мелкие | 11–50 | Обладают ярким блеском, отдельные кристаллы не выявляются |
| Средние | 51–150 | Частично утрачивают блеск, отдельные кристаллы не выявляются, заметны сростки кристаллов |
| Крупные | 151–350 | Полностью утрачивают блеск, окрашены в цвет вина, заметны отдельные кристаллы |
| Очень крупные | Более 350 | Полностью утрачивают блеск, окрашены в цвет вина, хорошо заметны отдельные кристаллы |

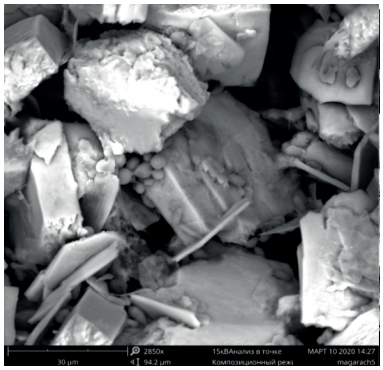
Таблица 2. Характеристика кристаллов тартрата кальция, образовавшихся в результате дестабилизации вин

Table 2. Calcium tartrate crystals formed as a result of wine destabilization

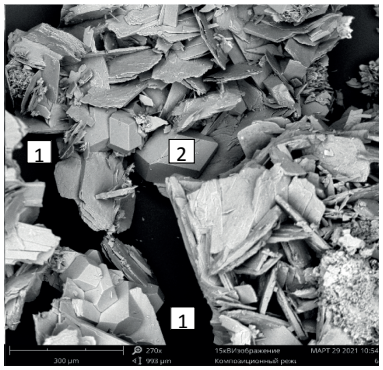
| Величина кристаллов | Характеристика кристаллов | |
|---|---|---|
| | Микроскопирование (длина, мкм) | Визуальный осмотр вина в луче света |
| Очень мелкие | 1–5 | Блеском не обладают, отдельные кристаллы не выявляются |
| Мелкие | 6–25 | |
| Средние | 26–100 | Обладают ярким блеском, отдельные кристаллы не выявляются |
| Крупные | 101–150 | Обладают ярким блеском, заметны отдельные кристаллы |
| Очень крупные | Более 150 | Обладают ярким блеском, бесцветны, хорошо заметны отдельные кристаллы |

калия и тартрата кальция с выделением размерных групп и описанием их специфических характеристик (табл. 1 и 2).

Несмотря на широкий полиморфизм кристаллов гидротартрата калия, они представлены исключительно калиевой солью. Это подтверждается методом оптической микроскопии. При воздействии на кристаллы кислого раствора, содержащего сульфат-анион, наблюдается их растворение с высвобождением коллоидных веществ, а также отмерших клеток дрожжей. Это заметно на примере окрашенных осадков красных вин. При разрушении в кислой среде кристаллы проходят своеобразную инволюцию, в обратном порядке «демонстрируя» стадии своего роста и перед полным растворением приобретая плоскую элипсовидную форму.



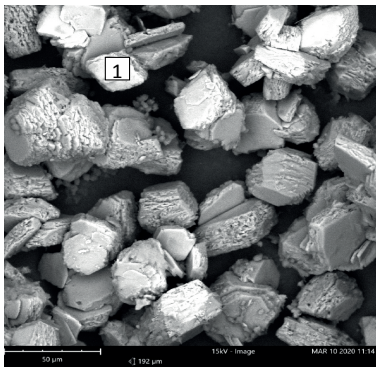
a



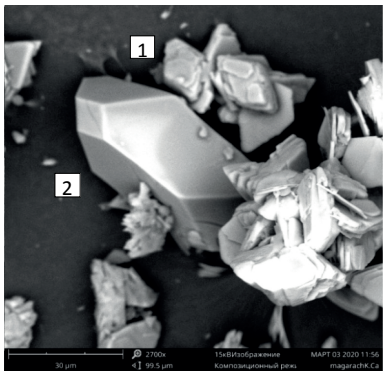

b

Рисунок 4. Сканирующая электронная микроскопия. Кристаллический осадок, образовавшийся в белом вине: a – гидротартрат калия; b – гидротартрат калия (1) и тартрат кальция (2)

Figure 4. Scanning electron microscopy. Crystalline precipitate in white wine: a – potassium hydrogen tartrate; b – potassium hydrotartrate (1) and calcium tartrate (2)




a




b

Рисунок 5. Сканирующая электронная микроскопия. Кристаллический осадок, образовавшийся в красном вине: a – гидротартрат калия; b – гидротартрат калия (1) и тартрат кальция (2)

Figure 5. Scanning electron microscopy. Crystalline precipitate in red wine: a – potassium hydrogen tartrate; b – potassium hydrotartrate (1) and calcium tartrate (2)

Исследование этих осадков методом сканирующей электронной микроскопии позволяет получить более детальную информацию по морфологии кристаллов гидротартрата калия (рис. 4 и 5). Как видно из представленных данных, поверхность кристаллов имеет неровности и множественные выросты, а в некоторых случаях отмечается слоистость структур. При более высоком увеличении поверхности (×3000–5000) четко выделяются хаотичные линии роста 1-го, 2-го и т. д. порядков.

В случае формирования обильного осадка наблюдается срощенность кристаллов с тенденцией к образованию крупных конгломератов с множественным направлением роста. Элементный анализ образца подтвердил наличие калия без примеси катионов других металлов (рис. 6а).

Особый интерес представляют кристаллы тартрата кальция, которые были обнаружены в составе осадка только 60 % исследованных вин, полученных в условиях микровиноделия. Данное вещество, потерявшее растворимость в вине, а не пересыщенного чистого раствора, сохраняет общий план строения. Однако укорачивается длинная ось. Это согласуется с данными, представленными в литературе [12]. Размерный ряд кристаллов тартрата кальция уступает гидротартрату калия, что связано с количеством действующего начала. В осадках вин, сформировавшихся после 6 месяцев хранения с момента прекращения брожения, крайне редко наблюдались включения свыше 150 мкм по длине. Независимо от размера, цвета и экстрактивности вина, а также длительности процесса (1, 3, 6 месяцев), форма

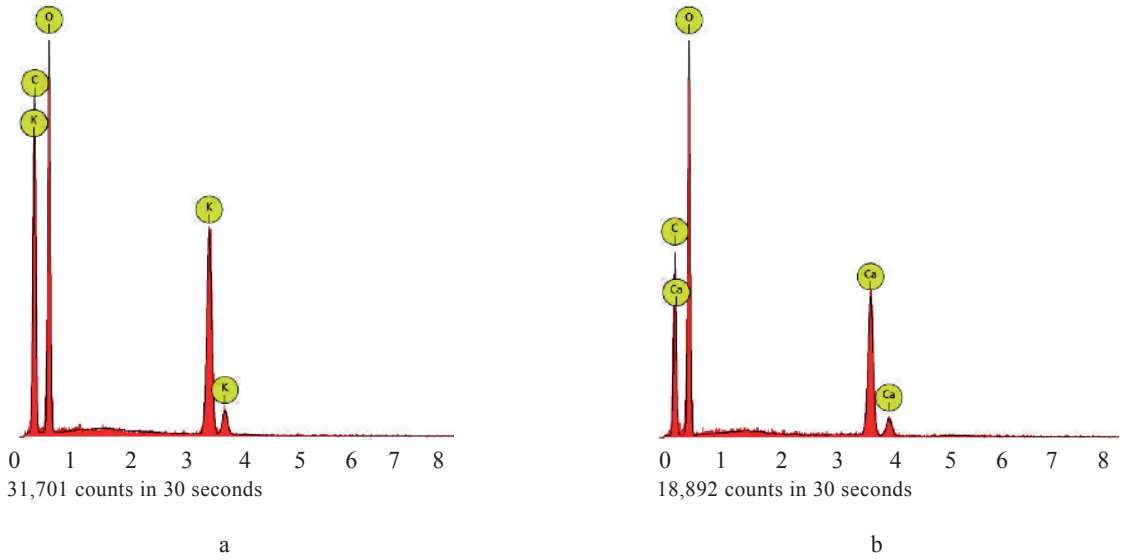



Рисунок 6. Элементный профиль, характерный для кристаллов гидротартрат калия (a) и тартрат кальция (b), образовавшихся в винах

Figure 6. Elemental profile of potassium hydrotartrate crystals (a) and calcium tartrate (b) in wines

кристаллов была идентична во всех исследуемых пробах. Все кристаллы отличались прозрачностью и ярким блеском, что установлено как при визуальном осмотре вина, так и при оптической микроскопии препаратов (рис. 3b, табл. 2). В готовой продукции кристаллы тартрата кальция в составе осадка встречаются редко. Однако они характеризуются одинаковым планом строения с варьированием размера. Охлаждение вина в течение 1–3 суток при отрицательной температуре не приводит к провокации кристаллизации данной соли.

Электронные микрофотографии подтверждают результаты, полученные с помощью оптической микроскопии (рис. 4b и 5b). Кристаллы тартрата кальция имеют четкие ребра и гладкие грани, обуславливающие отражение света. Причем их морфология близка к кристаллам, выращенным в искусственных условиях (гель, раствор) или образованных в живых организмах [12, 13, 15]. Ровная поверхность и идентичная форма всех кристаллов свидетельствует об отсутствии значимого ингибирующего влияния коллоидов вина. Это ставит под сомнение возможность блокировать развитие данного вида дестабилизации воздействием высокомолекулярных соединений.

В качестве солеобразующего катиона в составе данных кристаллов выступает кальций, что было показано сернокислой пробой, при которой происходит перекристаллизация тартрата в сульфат, представляющий собой игловидные образования и их сростки. Этот вывод подтвержден элементным составом, определенным методом энергодисперсионной спектроскопии, который показал наличие кальция. Другие катионы металлов в составе кристаллов достоверно не обнаружены (рис. 6b).

Применение двух методов микроскопирования позволило разработать систему дескрипторов для характеристики кристаллов и провести сравнительный анализ морфологии виннокислых солей калия и кальция (табл. 3).

Для гидротартрата калия свойственно соосаждение коллоидных веществ. Это приводит к нарушению построения кристаллической решетки и обуславливает такие признаки, как окрашивание в цвет вина, полиморфизм, шероховатость поверхности и оптическая непрозрачность. Все признаки проявляются по мере роста кристалла. Тартрат кальция характеризуется отсутствием эволюционных изменений, морфологическим однообразием, бесцветностью и прозрачностью, гладкостью граней и четкостью ребер, независимо от размеров кристалла и особенностей вина.

**Выводы**

Сочетание методов оптической и сканирующей электронной микроскопии позволило дать сравнительную характеристику специфическим морфологическим признакам кристаллов виннокислых солей, образовавшихся при естественной дестабилизации вин. Полученные данные актуальны для идентификации винных осадков и будут включены в общую систему управления качеством вин. Установленные закономерности являются основой для дальнейшего исследования влияния веществ,

Таблица. Сравнительная характеристика морфологии кристаллов виннокислых солей в осадках вин

Table 3. Comparative analysis of crystal morphology of tartrate salts in wine sediments

| Признак | Гидротартрат калия | Тартрат кальция |
|---|---|---|
| Полиморфизм | Значительный | Нет |
| Гладкость граней | Утрачивается по мере роста кристалла | Да |
| Четкость ребер | Утрачивается по мере роста кристалла | Да |
| Эволюционные изменения формы | Да | Нет |
| Окрашивание в цвет вина | Да | Нет |
| Прозрачность | Утрачивается по мере роста кристалла | Да |
| Склонность к срастанию | Да, с образованием коркообразного слоя | Нет (крайне редко: образование сростков 2–3 кристаллов) |

препятствующих развитию кристаллов с целью обеспечения розливостойкости винодельческой продукции. Предложена система дескрипторов для визуальной характеристики солей винной кислоты в кристаллических осадках вин. Результаты работы являются важным элементом технохимического контроля в виноделии при оценке эффективности технологической обработки и диагностике причин дестабилизации вин и могут быть рекомендованы как методический материал для дальнейших научных исследований, а также для применения в отраслевых лабораториях и профильных образовательных учреждениях.

**Критерии авторства**

Н. В. Гниломедова – планирование экспериментов, формулирование цели и проведение исследований, подготовка статьи. А. В. Весютова – подготовка материалов исследований. В. А. Олейникова и Т. В. Чайка – получение аналитических данных. Н. С. Аникина и В. М. Гавриш – редактирование статьи и формулирование выводов.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

**Contribution**

N.V. Gnilomedova designed the experiments, set up goals, conducted the research, and wrote the manuscript. A.V. Vesyutova prepared the research materials. V.A. Oleinikova and T.M. Chayka obtained the analytical data. N.S. Anikina and V.M. Gavrish proofread the article and formulated the conclusions.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**References/Список литературы**

1. Cosme F, Vilela A, Jordão AM. The role of tartaric acid in grapes and wines. In: Taylor JC, editor. Advances in chemistry research. Volume 40. Nova; 2017. pp. 198–216.

2. Bosso A, Motta S, Panero L, Lucini S, Guaita M. Use of potassium polyaspartate for stabilization of potassium bitartrate in wines: influence on colloidal stability and interactions with other additives and enological practices. Journal of Food Science. 2020;85(8):2406–2415. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15342

3. Filipe-Ribeiro L, Milheiro J, Guise R, Vilamarim R, Fraga JB, Martins-Gomes C, *et al.* Efficiency of carboxymethylcellulose in red wine tartaric stability: Effect on wine phenolic composition, chromatic characteristics and colouring matter stability. Food Chemistry. 2021;360. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129996

4. Pittari E, Catarino S, Andrade MC, Ricardo-da-Silva JM. Preliminary results on tartaric stabilization of red wine by adding different carboxymethylcelluloses. Ciência e Técnica Vitivinícola. 2018;33(1):47–57. https://doi.org/10.1051/ctv/20183301047

5. Kashkara KE, Kashkara GG, Guguchkina TI. Stabilization of wine to crystalline dimness by electric dialysis. Fruit Growing and Viticulture of the South of Russia. 2018;(50):123–135. (In Russ.). [Кашкара К. Э., Кашкара Г. Г., Гугучкина Т. И. Стабилизация вина к кристаллическим помутнениям с помощью электродиализа // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2018. № 50. С. 123–135.].

6. Gerzhikova VG, Anikina NS, Vesyutova AV, Ermikhina MV, Ryabinina OV. Influence of components ratio on the tendency of table wine materials to crystalline calcium haze. Magarach. Viticulture and Vinemaking. 2020;22(1):69–72. (In Russ.). https://doi.org/10.35547/IM.2020.22.1.014

7. Martínez-Pérez MP, Bautista-Ortín AB, Durant V, Gómez-Plaza E. Evaluating alternatives to cold stabilization in wineries: The use of carboxymethyl cellulose, potassium polyaspartate, electrodialysis and ion exchange resins. Foods. 2020;9(9). https://doi.org/10.3390/foods9091275

8. Henriques P, Brites Alves AM, Rodrigues M, Geraldes V. Controlled freeze-thawing test to determine the degree of deionization required for tartaric stabilization of wines by electrodialysis. Food Chemistry. 2019;278:84–91. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.043

9. Mateos JM, Singer G, Kaech A, Ziegler U, Eid K. Characterization of deposits in calcific tendinitis of the shoulder: Deposits are composed of large aggregates of highly crystalline, rod-like crystals. Orthopaedic Journal of Sports Medicine. 2021;9(10). https://doi.org/10.1177/23259671211044715

10. Cordeiro AJP, da Silva LFL, Paschoal W, Morelhão SL, Saraiva GD, Freire PTC, *et al.* New bladed habit of hexadecanoic-acid crystals observed by SEM combined with XRD, FT-IR and Raman studies. Vibrational Spectroscopy. 2020;111. https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103174

11. Swarts A. A look at tartrate stabilization of wine in the South African wine industry. PhD thesis. Cape Wine Academy; 2017. 136 p.

12. Polat S, Aytan-Goze E, Sayan P. Effects of amino acids on the crystallization of calcium tartrate tetrahydrate. Acta Chimica Slovenica. 2020;67(3):842–852. https://doi.org/10.17344/acsi.2020.5814

13. Shajan XS, Mahadevan C. On the growth of calcium tartrate tetrahydrate single crystals. Bulletin of Materials Science. 2004;27(4):327–331. https://doi.org/10.1007/BF02704767

14. Montoya G, Lopez K, Arenas J, Zamora C, Hoz L, Romo E, *et al.* Nucleation and growth inhibition of biological minerals by cementum attachment protein-derived peptide (CAP-pi). Journal of Peptide Science. 2020;26(12). https://doi.org/10.1002/psc.3282

15. Böll S, Schmitt T, Burschka C, Schreier P, Schwappach P, Herrmann JV. Calcium tartrate crystals in the midgut of the grape leafhopper. Journal of Chemical Ecology. 2005;31(12):2847–2856. https://doi.org/10.1007/s10886-005-8398-8

16. Younes M, Aquilina G, Castle L, Engel K-H, Fowler P, Frutos Fernandez MJ, *et al.* Re-evaluation of l(+)-tartaric acid (E 334), sodium tartrates (E 335), potassium tartrates (E 336), potassium sodium tartrate (E 337) and calcium tartrate (E 354) as food additives. EFSA Journal. 2020;18(3). https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6030

17. Gnilomedova NV, Ermikhina MV. Extension of the method for identifying crystals in the composition of wine sediment. Magarach. Viticulture and Vinemaking. 2021;23(3):265–269. (In Russ.). https://doi.org/10.35547/IM.2021.42.72.010

18. Bajul A, Gerbaud V, Teychene S, Devatine A, Bajul G. Effect of carboxymethylcellulose on potassium bitartrate crystallization on model solution and white wine. Journal of Crystal Growth. 2017;472:54–63. https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2017.03.024

19. Lankhorst PP, Voogt B, Tuinier R, Lefol B, Pellerin P, Virone C. Prevention of tartrate crystallization in wine by hydrocolloids: The mechanism studied by dynamic light scattering. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2017;65(40):8923–8929. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01854

20. Sprenger S, Hirn S, Dietrich H, Will F. Metatartaric acid: physicochemical characterization and analytical detection in wines and grape juices. European Food Research and Technology. 2015;241(6):785–791. https://doi.org/10.1007/s00217-015-2503-1

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2377
https://elibrary.ru/YGIUJI

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Разработка обогащенных кондитерских кремов на растительных маслах с модификацией углеводного профиля

**Л. В. Зайцева[1,*], Н. В. Рубан[2], Т. Б. Цыганова[2], Э. В. Мазукабзова[1]**

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности, Москва, Россия*

[2] *Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия*

*Поступила в редакцию: 16.03.2022*
*Принята после рецензирования: 15.04.2022*
*Принята к публикации: 04.05.2022*

**Л. В. Зайцева: lvz2360@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8176-1650*
*Н. В. Рубан: https://orcid.org/0000-0003-2511-172X*
*Т. Б. Цыганова: https://orcid.org/0000-0003-1659-9786*
*Э. В. Мазукабзова: https://orcid.org/0000-0002-2884-6767*

*© Л. В. Зайцева, Н. В. Рубан, Т. Б. Цыганова, Э. В. Мазукабзова, 2022*

**Аннотация.**
Для снижения распространения ожирения и сахарного диабета Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано ограничение в рационе питания легкоусвояемых углеводов и насыщенных жиров, а также исключение транс-изомеров жирных кислот. Поэтому изменение рецептур высококалорийных кондитерских изделий актуально. Целью исследования являлась разработка кондитерских кремов с модификацией углеводного профиля и пониженной калорийностью, обогащенных омега-3 жирными кислотами и пищевыми волокнами.
Объектами исследования являлись масляный крем «Новый» и экспериментальные образцы кремов на растительных маслах с модифицированным углеводным профилем. Применяли общепринятые и стандартные методы исследования органолептических и физико-химических свойств контрольного и экспериментальных образцов. Содержание растворимых и нерастворимых пищевых волокон определяли ферментативно-гравиметрическим методом, содержание токоферолов – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.
Были разработаны кондитерские кремы на растительных маслах с модифицированным углеводным профилем с содержанием пищевых волокон 4,0–18,5 г/100 г и омега-3 жирных кислот не менее 0,2 г/100 г жирностью 15–26 %. Содержание легкоусвояемых углеводов, представленных лактозой сухого молока, составляет 0,5–3,5 г/100 г крема. Дополнительно произвели обогащение кремов D-$\alpha$-токоферолацетатом до уровня источника или высокого содержания (2,6–4,5 мг/50 г). Плотность полученных изделий составляет 0,75–0,90 г/см$^3$. Это позволяет использовать их как самостоятельные десерты или отделочные полуфабрикаты.
Разработанные кондитерские кремы на растительных маслах, в соответствии с нормативной документацией ЕврАзЭс, относятся к пищевой продукции, обогащенной пищевыми волокнами и омега-3 жирными кислотами на уровне источника или высокого содержания. Они могут быть маркированы как изделия «без сахара» (не более 0,5 г/100 г) или «с низким содержанием сахара» (не более 5 г/100 г). Это позволяет использовать их в рационе питания лиц с повышенной массой тела, а также больных, страдающих ожирением и сахарным диабетом.

**Ключевые слова.** Крем, подсластители, пищевые волокна, омега-3 жирные кислоты, витамины, пищевая ценность

**Для цитирования:** Разработка обогащенных кондитерских кремов на растительных маслах с модификацией углеводного профиля / Л. В. Зайцева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 500–510. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2377

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2377
https://elibrary.ru/YGIUJI

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Fortified Confectionery Creams on Vegetable Oils with a Modified Carbohydrate Profile

**Larisa V. Zaytseva[1], Natalia V. Ruban[2], Tatiana B. Tsyganova[2], Ella V. Mazukabzova[1]**

[1] *All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry, Moscow, Russia*

[2] *Moscow State University of Food Industry, Moscow, Russia*

*Received: 16.03.2022*
*Revised: 15.04.2022*
*Accepted: 04.05.2022*

**Larisa V. Zaytseva: lvz2360@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8176-1650*
*Natalia V. Ruban: https://orcid.org/0000-0003-2511-172X*
*Tatiana B. Tsyganova: https://orcid.org/0000-0003-1659-9786*
*Ella V. Mazukabzova: https://orcid.org/0000-0002-2884-6767*

*© L.V. Zaytseva, N.V. Ruban, T.B. Tsyganova, E.V. Mazukabzova, 2022*

**Abstract.**
The World Health Organization insists on limiting easily digestible carbohydrates, saturated fats, and trans-isomers of fatty acids in human diet. Therefore, formulations of high-calorie confectionery products have to be modified. The research objective was to develop confectionery creams with a modified carbohydrate profile and a reduced calorie content, fortified with omega-3 fatty acids and dietary fibers.
The study featured a traditional formulation of butter cream and experimental samples of confectionery creams on vegetable oils with a modified carbohydrate profile. The research involved standard methods of assessing sensory and physicochemical properties of the control and experimental cream samples. The content of soluble and insoluble dietary fibers was estimated by enzymatic gravimetric method, while the content of tocopherols was determined by high-performance liquid chromatography. The test samples of creams on vegetable oil with modified carbohydrate profile had a fiber content of 4.0–18.5 g/100 g, represented by oat bran powder with 28% beta-glucan, arabinogalactan, and inulin. The amount of omega-3 fatty acids was 0.2 g/100 g, and the fat content was 15–26%. Easily digestible carbohydrates were represented exclusively by lactose of milk powder (0.5–3.5 g/100 g of cream). The test creams were fortified with D-$\alpha$-tocopherol acetate: 2.6–4.5 mg/50 g. The density of the resulting products was 0.75–0.90 g/cm$^3$, which made it possible to use them both as independent desserts and as semi-products.
The developed confectionery creams complied with the legislation of the EurAsEC on food products fortified with dietary fiber and omega-3 fatty acids. They can be labeled as sugar-free (≤ 0.5 g/100 g) or low sugar (≤ 5 g/100 g) products. Therefore, they are safe for customers with obesity and diabetes.

**Keywords.** Cream, sweeteners, dietary fiber, omega-3 fatty acids, vitamins, nutrition value

**For citation:** Zaytseva LV, Ruban NV, Tsyganova TB, Mazukabzova EV. Fortified Confectionery Creams on Vegetable Oils with a Modified Carbohydrate Profile. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):500–510. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2377

## Введение

Кондитерские изделия являются неотъемлемой частью пищевого рациона практически всех групп населения. При этом большую часть составляют высококалорийные изделия – 350 ккал/100 г и более. Во всем мире растет количество населения с избыточной массой тела, а также лиц, страдающих ожирением и сахарным диабетом [1–4]. Поэтому Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано снижение калорийности дневного рациона за счет максимального ограничения добавленных сахаров и насыщенных жиров, а также исключения транс-изомеров жирных кислот [5]. Данные рекомендации поддерживаются российскими учеными, диетологами и нутрициологами [6]. Необходима модификация рецептур кондитерских изделий для снижения их калорийности и увеличения содержания физиологически значимых веществ [7]. Людям с избыточной массой тела или ожирением рекомендуется включение в рацион продуктов с пониженной калорийностью, обогащенных ненасыщенными жирными кислотами и пищевыми

волокнами. Людям, страдающим сахарным диабетом 2 типа, разрешено потребление определенных видов кондитерских изделий с модифицированным углеводным профилем [8, 9].

В условиях пандемии COVID-19 было установлено, что риски тяжелого течения болезни и летального исхода характерны для пациентов, страдающих ожирением, сахарным диабетом и сердечно-сосудистыми заболеваниями [10]. Однако в этот период отмечено увеличение потребления кондитерских изделий. Это связано с удаленной работой, а именно более частыми чаепитиями, а также с привычкой многих людей бороться со стрессом, заедая его сладким.

Основными путями снижения калорийности пищевой продукции являются уменьшение содержания доли жира и замена простых углеводов в рецептуре на подсластители. В связи с этим увеличение выпуска кондитерских изделий пониженной калорийности с модифицированным углеводным профилем, обогащенных макро- и микронутриентами, включая витамины-антиоксиданты, будет способствовать разнообразию рациона питания всех групп населения, а также реализации рекомендаций Всемирной организации здравоохранения.

Имеются разработки мучных кондитерских изделий, желейных и сбивных изделий пониженной калорийности, обогащенных биологически активными веществами, включая изделия, предназначенные для больных сахарным диабетом [11–19]. Проведены исследования по разработке кондитерских кремов, обогащенных различными добавками, с частичной или полной заменой сахара на подсластители или полисахариды. Однако рецептуры масляных кремов основаны на использовании сливочного масла и отличаются высокой калорийностью и жирность 38–42 % [20–24].

Целью исследования являлась разработка обогащенных кондитерских кремов на растительных маслах с модификацией углеводного профиля и пониженной калорийностью. Основные этапы разработки представлены на рисунке 1.

**Объекты и методы исследования**

Содержание массовой доли влаги в кремах определяли по ГОСТ 5900-2014, плотность кремов – по ГОСТ 5902-80, жирнокислотный состав жировой фракции кремов – по ГОСТ 31663-2012 на основе анализа метиловых эфиров жирных кислот, полученных по ГОСТ 31665-2012, содержание общих, растворимых и нерастворимых пищевых волокон – ферментативно-гравиметрическим методом по МИ 01.00282-2008/0174.01.07.13, содержание токоферолов – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сравнении со стандартом по Р 4.1.1672-03. Все исследования проводили в 3-х повторностях. Достоверность результатов исследований оценивали по критерию

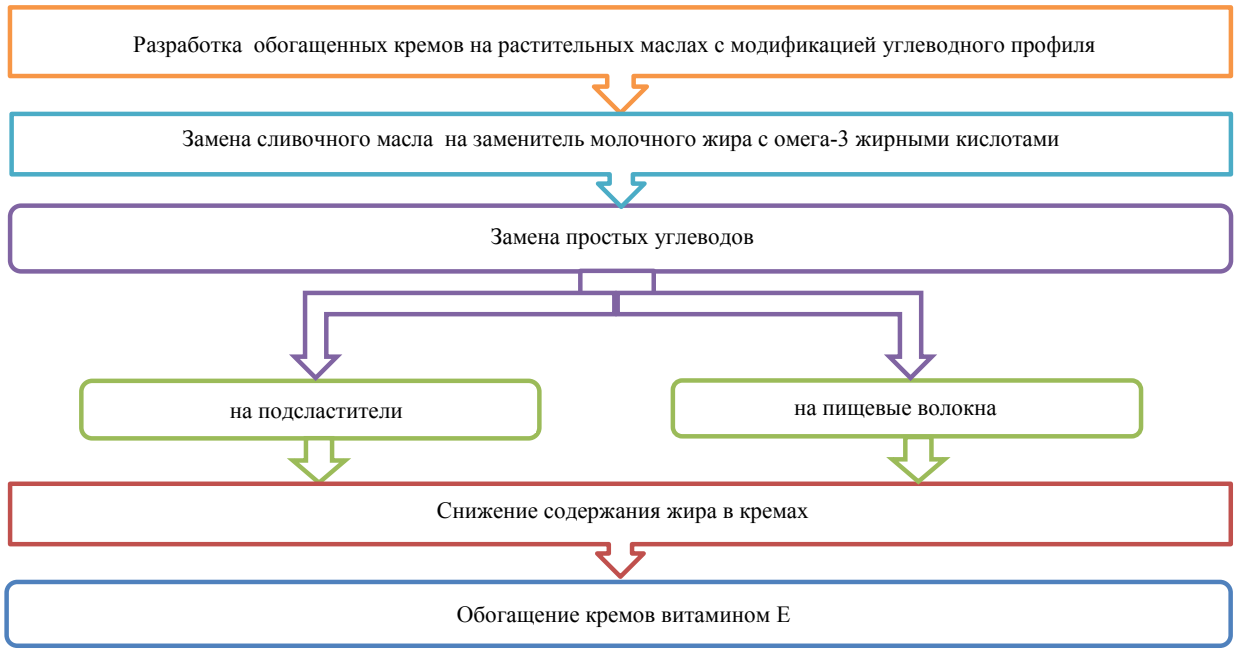



Рисунок 1. Основные этапы разработки обогащенных кондитерских кремов на растительных маслах с модификацией углеводного профиля

Figure 1. Production stages of fortified confectionery creams based on vegetable oils with a modified carbohydrate profile

Таблица 1. Основные рецептурные компоненты кондитерских кремов по вариантам

Table 1. Formualtions of confectionery creams by options

| № варианта | Рецептурные компоненты | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Сливочное масло | Заменитель молочного жира | Сахар белый | Молоко сгущенное с сахаром | Молоко сухое обезжиренное | Подсластитель | Пищевые волокна |
| 1 | + | – | + | + | – | – | – |
| 2 | – | + | + | + | – | – | – |
| 3 | – | + | – | – | + | + | + |
| 4 | – | + | – | – | + | + | + |
| 5 | – | + | – | – | + | + | + |
| 6 | – | + | – | – | + | + | + |
| 7 | – | + | – | – | + | + | + |

Стьюдента при доверительном интервале ≤ 0,05. В экспериментальной части приведены средние значения показателей. Калорийность кремов рассчитывали на основании рецептурного состава.

Для осуществления поставленных задач в качестве исходной была использована рецептура масляного крема «Новый» с минимальным набором ингредиентов [25]. Крем «Новый» имеет жирность 40 % и состоит из 82,5 % сливочного масла, белого сахара и молока цельного сгущенного с сахаром, ароматизирован ванильной пудрой и коньяком (или десертным вином). В процессе постановки эксперимента ванильная пудра и коньяк/вино были удалены из рецептуры для исключения их маскирующего воздействия на возможные изменения органолептических свойств готового изделия в результате внесения подсластителей и пищевых волокон. Крем «Новый» используется в качестве отделочного полуфабриката, имеет влажность 23,5 ± 2,0 % и плотность 0,75–0,90 г/см$^3$.

Для модификации жировой фазы изделия использовали заменитель молочного жира по ГОСТ 31648-2012 с содержанием $\alpha$-линоленовой кислоты не менее 1,4 г/100 г (Калининградский комбинат по переработке растительных масел, Калининград). В качестве подсластителей использовали изомальт (Hylen Chemical Co, Китай) и эритрит (ООО «НоваПродукт», Москва). В качестве источника пищевых волокон использовали порошок овсяных отрубей с 28 % содержанием бета-глюкана (OatWell$^R$ 28, DSM Nutritional Products Europe Ltd., Швейцария) и арабиногалактан, выделенный из лиственницы даурской (Ametis, Благовещенск). Также использовали полифруктозан инулин, выделенный из корней топинамбура (Fibruline® Instant, Novaprodukt, Бельгия). Витамин Е вносили в форме D-$\alpha$-токоферолацетата (DSM Nutritional Products Europe Ltd., Швейцария). Его количество рассчитывалось с учетом содержания токоферолов, присутствующих в заменителе молочного жира (в пересчете на токоферолацетат).

Алгоритм модификаций (варианты № 2–7) исходной рецептуры масляного крема «Новый» (вариант № 1) представлен в таблице 1.

**Результаты и их обсуждение**

Анализ рецептур масляных и жировых кремов показал, что практически все являются высококалорийными кондитерскими изделиями [25]. Наличие белого сахара и компонентов, содержащих простые углеводы (молоко сгущенное с сахаром, сиропы, пудра ванильная и т. д.), не позволяет использовать эти кремы в рационе питания больных сахарным диабетом и ограничивает их потребление для людей с избыточной массой тела и ожирением. С другой стороны, используемая в этих кремах жировая основа представлена насыщенными жирными кислотами при отсутствии дефицитных омега-3 жирных кислот. Поэтому использование заменителя молочного жира, содержащего жирные кислоты семейства омега-3 при минимальном присутствии атерогенных транс-изомеров жирных кислот (менее 1 %), влияющих на развитие сердечно-сосудистых заболеваний, онкологии, ожирения и сахарного диабета, будет способствовать достижению поставленной цели. Обогащение пищевого рациона омега-3 жирными кислотами важно для населения Российской Федерации, включая больных, страдающих ожирением и сахарным диабетом [4, 6, 26, 27].

На первом этапе исследования рассмотрена возможность замены сливочного масла в рецептуре на заменитель молочного жира, содержащий омега-3 жирные кислоты (вариант № 2). Содержание жира и количество остальных компонентов в рецептуре было оставлено без изменений. Содержание основных групп жирных кислот в жировой фазе кремов по исходной рецептуре (вариант № 1) и после замены жирового компонента (вариант № 2) представлено на рисунке 2.

Замена сливочного масла в модельных образцах кремов на заменитель молочного жира по ГОСТ 31648 улучшает жирнокислотный состав

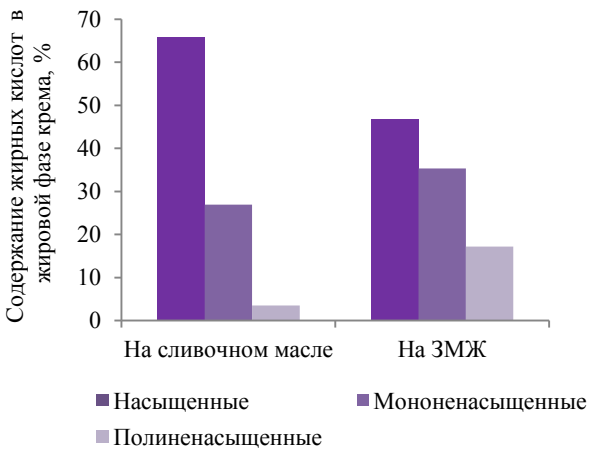



Рисунок 2. Жирнокислотный состав кремов на сливочном масле и заменителе молочного жира (вариант № 2)

Figure 2. Fatty acid composition of creams based on butter and milk fat substitute (option 2)

получаемого продукта: на одну треть снижалось содержание насыщенных жирных кислот; повышалось в 5 раз содержание полиненасыщенных жирных кислот, включая $\alpha$-линоленовую кислоту (1,4 % от суммы жирных кислот), отсутствующую в исходном продукте; снижалось содержание атерогенных транс-изомеров жирных кислот (с 3,6 до 0,8 % от суммы жирных кислот). Содержание в разовой порции продукта (50 г) $\alpha$-линоленовой кислоты составляло более 35 % от ее адекватного уровня потребления (700 мг), установленного в Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требованиях к товарам, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (Глава II, Раздел 1, Приложение 5). Это позволяет отнести продукт к пищевой продукции, обогащенной омега-3 жирными кислотами. Дополнительным преимуществом использования заменителя молочного жира стало содержание в нем атерогенных транс-изомеров жирных кислот менее 0,9 г/100 г.

Одним из способов снижения калорийности пищевой продукции является модификация его углеводного состава. Была рассмотрена замена простых углеводов (белый сахар, молоко цельное сгущенное с сахаром) на подсластители и пищевые волокна при использовании сухого обезжиренного молока для корректировки сухих веществ в рецептурах кремов. Модификация углеводного состава пищевых продуктов путем замены быстроусвояемых рафинированных сахаров на медленно усвояемые углеводы и пищевые волокна позволяет корригировать нарушения углеводного и липидного обмена у больных, страдающих ожирением и сахарным диабетом 2 типа [4, 5, 26, 28]. На основании этого рассмотрена возможность включения разработанных кремов на растительных маслах в количестве не более 50 г в рацион питания перечисленных групп населения (после проведения клинических исследований).

Анализ патентной документации, касающейся усовершенствования рецептур и технологий масляных кремов на подсластителях с внесением пищевых волокон, показал, что в качестве подсластителей используются сахароспирты (ксилит, сорбит, изомальт, эритрит), обладающие структурообразующими свойствами, а в качестве пищевых волокон – пектин или инулин [20, 21, 23, 24]. Использование в качестве подсластителей многоатомных спиртов (сахароспиртов) имеет преимущества перед применением таких подсластителей, как цикломаты, аспартам, ацесульфам калия и сахарин за счет меньшего побочного эффекта, оказываемого на организм человека [29]. Для снижения калорийности конечного продукта были выбраны низкокалорийные сахароспирты, такие как эритрит и изомальт, имеющие низкий гликемический индекс.

Изомальт (изомальтит, палатинит, Е953) или О-$\alpha$-D-глюкопиранозилманнит имеет калорийность 1,62 ккал/г, гликемический индекс 9, коэффициент сладости 0,5. Благодаря низкому гликемическому индексу изомальт не вызывает резких колебаний сахара в крови. В работе [29] сообщается об ограничении его использования в продуктах для больных фенилкетонурией. Однако это ограничение не введено на законодательном уровне.

Эритрит (Е968) или 1,2,3,4-бутантетраол практически не усваивается организмом и не принимает участия в обменных процессах, поскольку имеет калорийность 0,2 ккал/г, гликемический индекс 0, коэффициент сладости 0,7. Также эритрит не влияет на уровень сахара в крови. К недостаткам следует отнести возможность возникновения проблем с пищеварением при превышении дозировки 0,66 г/кг массы тела [29].

В Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требованиях к товарам, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), установлены адекватные уровни и верхние допустимые уровни потребления для пищевых и биологически активных веществ, входящих в состав пищевой продукции (Глава II, Раздел 1, Приложение 5). Для изомальта и эритрита максимальная дозировка составляет не более 40 и 45 г/сут соответственно. С учетом этого количество вносимых полиолов (в сумме и по отдельности) в рекомендуемой разовой порции разработанных кондитерских изделий (50 г) не превышало 18 г.

Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано увеличение содержания пищевых волокон в рационе питания. Диетические рекомендации установлены для людей с повышенной массой тела, а также для лиц, страдающих ожирением и

Таблица 2. Подсластители и пищевые волокна в кондитерских кремах по вариантам

Table 2. Sweeteners and dietary fiber in confectionery creams by option

| № варианта | Подсластители, соотношение | Пищевые волокна, соотношение |
|---|---|---|
| 3 | Изомальт | Порошок овсяных отрубей с 28 % бета-глюкана |
| 4 | Изомальт | Арабиногалактан |
| 5 | Изомальт | Порошок овсяных отрубей с 28 % бета-глюкана:инулин = 1:2 |
| 6 | Изомальт:эритрит = 1:1 | Арабиногалактан:инулин = 1:1 |
| 7 | Изомальт:эритрит = 1:2,5 | Арабиногалактан:инулин = 1:1 |

сахарным диабетом [3, 4, 26]. В последнем случае преимуществом пользуются пищевые волокна, обладающие способностью понижать или препятствовать повышению уровня глюкозы в крови, а также снижать содержание холестерина. С учетом этого были выбраны порошок овсяных отрубей с 28 % содержанием бета-глюкана и арабиногалактан. Также в некоторых случаях в рецептуру добавлялся инулин.

Бета-глюкан ((1-3),(1-4)-$\beta$-D-глюкан) является полисахаридом клеточной стенки грибов, некоторых микроорганизмов и злаков, таких как овес. Бета-глюкан способен снижать уровень глюкозы и инсулиновую реакцию, холестерин и липопротеиды низкой плотности в крови, ускорять обмен веществ, активизировать иммунную систему и оказывать противовоспалительное действие. Это позволяет рекомендовать его для использования в продуктах диабетического питания, а также в диетах для снижения веса и укрепления сердечно-сосудистой системы. Бета-глюкан обладает также противоопухолевой активностью [3, 4, 26, 28, 30].

Арабиногалактан (Е409) – камедь из сибирской лиственницы. Он способствует снижению уровня сахара и холестерина в крови, обладает ярко выраженным антиоксидантным воздействием путем замедления процессов пероксидного окисления липидов в печени, резко снижая уровень их токсического воздействия, а также иммуномодулирующим воздействием и противоопухолевой активностью [31]. В соответствие с Едиными санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требования к товарам, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), верхний допустимый уровень потребления арабиногалактана составляет 20 г/сут. Разрешено его использование в сочетании с другими пищевыми волокнами. Общее потребление пищевых волокон не должно превышать 40 г/сут.

Инулин является полифруктозаном – запасным полисахаридом растений. Он помогает усваиваться инсулину, снижает гликемический индекс пищи, тем самым препятствуя росту уровня глюкозы в крови, принимает участие в углеводном и липидном метаболизме и способствует снижению кровяного давления при гиперлипидемии. Выступая иммуномодулятором, инулин повышает интенсивность метаболизма и адаптационные свойства организма [26]. Этот полисахарид широко используется при производстве пищевой продукции с пониженной калорийностью, выполняя функцию имитатора жира.

Наименования подсластителей и некрахмальных полисахаридов, включая пищевые волокна, использованных в модифицированных рецептурах кремов на растительных маслах по вариантам, представлены в таблице 2.

Была рассчитана пищевая ценность исходного масляного крема и разработанных кремов на растительных маслах (табл. 3). Установлено, что полная замена сырья, содержащего простые углеводы (белый сахар, молоко сгущенное с сахаром), на сахароспирты и пищевые волокна при сохранении исходной жирности продукта (40 %) позволяет снизить калорийность кондитерского изделия на 14 % (табл. 3, вариант № 3). При этом содержание легкоусвояемых углеводов, представленных лактозой из сухого молока, составляло не более 0,5 г/100 г. Это позволяет маркировать продукт «без сахара» (ТР ТС 022/2011). Содержание в разовой порции крема $\alpha$-линоленовой кислоты в количестве 37 % от адекватного уровня потребления, а также витамина Е в количестве 30 % от рекомендуемого уровня позволяет отнести разработанные кремы к категории обогащенной пищевой продукции (табл. 3, вариант № 3).

Дальнейшее снижение калорийности разрабатываемых кремов было осуществлено за счет уменьшения содержания заменителя молочного жира и увеличения количества пищевых волокон в рецептуре. В результате подбора рецептурных соотношений подсластителей и пищевых волокон (табл. 2) было достигнуто снижение калорийности продуктов более чем на 30 % относительно исходной рецептуры крема «Новый» (табл. 3, варианты № 4–7). При этом была сохранена массовая доля влаги на том же уровне – 25,00 ± 2,00 %. Плотность всех разработанных кремов на растительных маслах находилась в пределах 0,8–0,9 г/см$^3$. Это соответствует плотности крема

Таблица 3. Пищевая ценность кондитерских кремов по вариантам

Table 3. Nutritional value of confectionery creams by options

| Показатель | Варианты | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | № 1 | № 2 | № 3 | № 4 | № 5 | № 6 | № 7 |
| Белки, г/100 г | 0,6 | 0,6 | 0,3 | 2,2 | 2,2 | 0,8 | 1,5 |
| Жиры, г/100 г | 40 | 40 | 40 | 26 | 20 | 20 | 15 |
| Углеводы[1], г/100 г, в т. ч. добавленные сахара | 33<br>33 | 33<br>33 | 0,5<br>– | 3,5<br>– | 3,5<br>– | 1,2<br>– | 2,4<br>– |
| Пищевые волокна, г/100 г | – | – | 4,1 | 6,5 | 14,5 | 16,3 | 18,5 |
| Пищевые волокна, г/50 г (разовая порция) | – | – | 2,1 | 3,3 | 7,3 | 8,2 | 9,3 |
| Пищевые волокна, % от РП[2] | – | – | 7,0 | 10,3 | 24,3 | 27,3 | 31,0 |
| Омега-3 жирные кислоты: г/100 г | – | 0,51 | 0,52 | 0,33 | 0,26 | 0,26 | 0,20 |
| г/50 г (разовая порция) | – | 0,25 | 0,26 | 0,17 | 0,13 | 0,13 | 0,11 |
| % от АП[3] | – | 35,7 | 37,0 | 24,3 | 19,0 | 19,0 | 15,7 |
| Витамин Е: мг/100г | – | – | 6,0 | – | – | 9,1 | 5,2 |
| мг/50 г (разовая порция) | – | – | 3,0 | – | – | 4,5 | 2,6 |
| % от РП[2] | – | – | 30 | – | – | 45,0 | 26 |
| Калорийность, ккал/кДж в 100 г | 500/1750 | 500/1750 | 430/1570 | 330/1370 | 290/1200 | 250/980 | 190/480 |

1 – в вариантах № 3–7 углеводы представлены лактозой, присутствующей в молоке сухом обезжиренном; 2 – РП – рекомендуемый уровень суточного потребления (ТР ТС 022/2011, Приложение 2); 3 – АП – адекватный уровень потребления $\alpha$-линоленовой кислоты (Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), Глава II, Раздел 1, Приложение 5).

1 – in 3–7, carbohydrates are represented by lactose in skimmed milk powder; 2 – “РП” stands for the recommended daily intake according to TR CU 022/2011, Appendix 2; 3 – “АП” stands for an adequate intake of $\alpha$-linolenic acid according to Uniform Sanitary-Epidemiological and Hygienic Requirements for Goods Subject to Sanitary-Epidemiological Supervision, Chapter II, Section 1, Appendix 5.

a b

Рисунок 3. Внешний вид кондитерских кремов на: a – сливочном масле; b – заменителе молочного жира

Figure 3. Appearance of confectionery creams on: a – butter; b – milk fat substitute

«Новый», используемого в качестве отделочного полуфабриката. На рисунке 3 представлен внешний вид контрольного крема и крема по модифицированной рецептуре при их использовании в качестве отделочных полуфабрикатов. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования разработанных кремов не только в качестве самостоятельных десертов, но и как отделочные полуфабрикаты.

Сравнение содержания основных нутриентов в исходном и модифицированном кремах (вариант № 7) представлено на рисунке 4.

Произведенная модификация углеводного состава позволила получить кремы, в которых содержание простых углеводов (варианты № 4–7), представленных лактозой из сухого обезжиренного молока, не превышает 3,5 %. В соответствии с ТР ТС 022/2011 (Приложение 5) эти продукты могут быть маркированы как пищевая продукция «с низким содержанием сахара» (не более 5 г/100 г). Из рисунка 4 видно, что в разработанных кремах отмечается высокое содержание пищевых волокон, отсутствующих в исходной рецептуре крема «Новый». Проведенный количественный анализ различных групп пищевых волокон в изделии позволил установить, что при использовании порошка овсяных отрубей содержание нерастворимых пищевых волокон в креме практически в 2 раза превышало содержание растворимых (вариант № 3). В остальных случаях растворимые и нерастворимые пищевые волокна содержались в конечном продукте примерно в равном количестве. Разработанные кремы, в соответствии с ТР ТС 022/2011, являются пищевой продукцией, обогащенной пищевыми волокнами на уровне

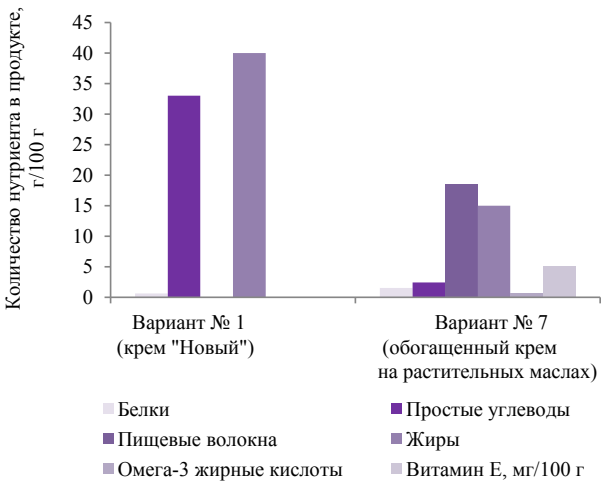



Рисунок 4. Содержание нутриентов в исходном (вариант № 1) и модифицированном (вариант № 7) кремах

Figure 4. Nutrients in the original (option № 1) and modified (option № 7) creams

«источника» (не менее 3 г/100 г) или «высокого содержания» (не менее 6 г/100 г).

Анализ пищевой ценности разработанных кремов на растительных маслах (табл. 3) показал, что в результате замены сливочного масла на заменитель молочного жира (ГОСТ 31648) кремы являются пищевой продукцией, обогащенной омега-3 жирными кислотами на уровне «источника» (не менее 0,2 г/100 г) или «высокого содержания» (не менее 0,4 г/100 г) (ТР ТС 022/2011).

Наличие жировой и водной фаз в разработанных кремах позволяет дополнительно обогащать их жиро- и водорастворимыми витаминами. В соответствии с поставленной задачей считаем, что оптимальным является обогащение изделий витаминами $B_1$, $B_6$, $B_7$, С и Е. Они способствуют снижению уровня глюкозы в крови, укреплению иммунитета и сердечно-сосудистой системы. В качестве примера было рассмотрено обогащение кремов витамином Е в форме D-$\alpha$-токоферолацетата. В используемом заменителе молочного жира присутствовали токоферолы исходных растительных масел. Поэтому расчет витамина Е осуществлялся с их учетом в пересчете на токоферолацетат. Токоферолы дополнительно обладают антиоксидантными свойствами, способствуют укреплению иммунитета, препятствуют развитию воспалений, оказывают положительное воздействие на укрепление и оздоровление сердечно-сосудистой системы. В связи с этим они рекомендованы для всех групп населения, а также для включения в диету лицам, страдающим ожирением и сахарным диабетом 2 типа [10, 32, 33]. Получены кремы на растительных маслах (табл. 4, варианты № 3, 6, 7), в разовой порции которых содержание витамина Е составляло 26–45 % от среднесуточной потребности в них взрослого человека. В соответствии с ТР ТС 022/2011 они могут быть маркированы как «источник витамина Е» (не менее 15 % от рекомендуемого уровня суточного потребления) или «с высоким содержанием витамина Е» (не менее 30 % от рекомендуемого уровня суточного потребления).

Внесение подсластителей и пищевых волокон повлияло на изменение органолептического профиля полученных кремов. Замена сахара на изомальт (варианты № 3–5) снизила сладость изделия. Для усиления сладкого вкуса в рецептуру могут быть добавлены подсластители с высоким коэффициентом сладости. Внесение инулина в рецептуру увеличивало сладость кремов. Использование эритрита в рецептуре сопровождалось холодящим послевкусием. Внесение арабиногалактана придавало кондитерскому изделию кремовый оттенок и карамельный привкус. Для придания готовому крему других вкусов и ароматов целесообразно использовать натуральные вкусоароматические вещества. Вместо ванильной пудры, содержащей простые углеводы, возможно использование порошка ванилина. Для придания цвета обогащенным кремам в качестве красителей целесообразно использовать натуральные красители, такие как каротиноиды (Е160 a, d), лютеин (Е161 b), хлорофилл (Е140), антоциановые красители (Е163), рибофлавин (Е101), уголь растительный (Е153), сахарный колер (Е150 a-d) и красный свекольный (Е162).

**Выводы**

В результате проведенного исследования были разработаны обогащенные кондитерские кремы на растительных маслах с модифицированным углеводным профилем, обладающие на 34–60 % пониженной калорийностью относительно исходной рецептуры масляного крема. Модификация углеводного состава кремов позволила получить продукты, практически не содержащие легкоусвояемых углеводов и характеризующиеся присутствием пищевых волокон на уровне 4,0–18,5 г/100 г изделия. По действующему в ЕврАзЭс законодательству разработанные кремы могут быть отнесены к продуктам, обогащенным пищевыми волокнами (не менее 3 г/100 г). Замена легкоусвояемых углеводов в рецептуре изделия на подсластители с низким гликемическим индексом (изомальт, эритрит) и пищевые волокна, обладающие способностью снижать уровень глюкозы в крови, позволяет рассмотреть возможность использования разработанных кремов в качестве десерта в рационе питания лиц с повышенной массой тела, а также страдающих ожирением и сахарным диабетом.

Использование в рецептуре заменителей молочного жира, содержащих $\alpha$-линоленовую кислоту, способствовало дополнительному обогащению продуктов жирными кислотами семейства омега-3 (не менее 0,2 г/100 г), дефицит которых отмечен в питании россиян.

Разработанные кремы дополнительно могут быть обогащены водо- и жирорастворимыми витаминами с целью усиления их функциональной направленности. Были получены кремы на растительных маслах, обогащенные витамином Е до уровня «источник» и «высокое содержание».

Плотность разработанных кондитерских кремов на растительных маслах составляет 0,8–0,9 г/см$^3$. Это позволит их использовать как самостоятельный десерт (разовая порция – 50 г) с добавлением фруктов или ягод или как отделочный полуфабрикат.

Актуальность и новизна исследования была подтверждена получением патента Российской Федерации [34].

**Критерии авторства**

Авторы принимали равное участие в обсуждении полученных результатов и подготовке материалов исследования к публикации.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности**

Авторы выражают благодарность сотрудникам ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи» М. А. Макаренко и М. С. Масленниковой за помощь в проведении анализов химического состава разработанных кремов.

**Contribution**

The authors took an equal part in the discussion of the results obtained and the preparation of research materials for publication.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Acknowledgements**

The authors express their gratitude to M.A. Makarenko and M.S. Maslennikova from the Federal Institution of Nutrition, Biotechnology and Food Safety for their help in analyzing the chemical composition of the developed creams.

**References/Список литературы**

1. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. Obesity Reviews. 2017;18(7):715–723. https://doi.org/10.1111/obr.12551

2. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. Nature Reviews Endocrinology. 2019;15(5):288–298. https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8

3. Sharafetdinov KhKh, Plotnikova OA. Obesity as a global challenge of the 21st century: Clinical medical nutrition, prevention and therapy. Problems of Nutrition. 2020;89(4):161–171. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10050

4. Sharafetdinov KhKh, Plotnikova OA, Nazarova AM, Kondratieva OV. Specialized foods with a modified carbohydrate profile in the correction of metabolic disorders in type 2 diabetes. Problems of Nutrition. 2017;86(6):56–66. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00006

5. Global strategy on diet, physical activity and health. World Health Organization; 2004.

6. Tutelyan VA, Nikityuk DB, Baturin AK, Vasiliev AV, Gapparov MM, Zhilinskaya NV, *et al.* Nutriome as the direction of the “main blow”: Determination of physiological needs in macroand micronutrients, minor biologically active substances. Problems of Nutrition. 2020;89(4):24–34. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10039

7. Reznichenko IYu, Renzyaeva TV, Tabatorovich AN, Surkov IV, Chistyakov AM. Formation of a range of functional flour confectionery products. Food Processing: Techniques and Technology. 2017;45(2):149–162. (In Russ.). [Формирование ассортимента мучных кондитерских изделий функциональной направленности / И. Ю. Резниченко [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2017. Т. 45. № 2. С. 149–162.].

8. Kochetkova AA, Vorobyeva IS, Vorobyeva VM, Sharafetdinov KhKh, Plotnikova OA, Pilipenko VV, *et al.* Specialized food products with modified carbohydrate profile for dietary correction of diet of patients with type 2 diabetes. Problems of Nutrition. 2018;87(6):76–88. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10069

9. Vorobyeva VM, Vorobyeva IS, Kochetkova AA, Sharafetdinov KhKh, Zorina EE. Modification of carbohydrate composition of confectionery for diabetics type 2. Problems of Nutrition. 2014;83(6):66–73. (In Russ.). [Модификация углеводного состава кондитерских изделий для больных сахарным диабетом 2 типа / В. М. Воробьева [и др.] // Вопросы питания. 2014. Т. 83. № 6. С. 66–73.].

10. Tutelyan VA, Nikityuk DB, Burlyaeva EA, Khotimchenko SA, Baturin AK, Starodubova AV, *et al.* COVID-19: New challenges for medical science and practical health. Problems of Nutrition. 2020;89(3):6–13. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10024

11. Sharafetdinov KhKh, Plotnikova OA, Churicheva AM, Pilipenko VV, Alekseeva RI, Sentsova TB, *et al.* Assessment of efficacy of specialized food products with modified carbohydrate profile in patients with type 2 diabetes. Problems of Nutrition. 2016;85(6):103–109. (In Russ.). [Оценка эффективности специализированного пищевого продукта с модифицированным углеводным профилем у больных сахарным диабетом 2 типа / Х. Х. Шарафетдинов [и др.] // Вопросы питания. 2016. Т. 85. № 6. С. 103–109.].

12. Vas'kina VA, L'vovich NA, Golovacheva AV, Platonov EA, Astashkina TI, Bobrova IV, *et al.* Meringue production method. Russia patent RU 2452190C1. 2012. [Способ производства безе: пат. 2452190C1 Рос. Федерация. № 2011104792/13 / Васькина В. А. [и др.]; заявл. 10.02.2011; опубл. 10.06.2012; Бюл. № 16. 6 с.].

13. Tkeshelashvili ME. Aerated confectionary product with low glycaemic index. Russia patent RU 2492690C2. 2013. [Сбивное кондитерское изделие с низким гликемическим индексом: пат. 2492690C2 Рос. Федерация. № 2011148414/13 / Ткешелашвили М. Е.; заявл. 29.11.2011; опубл. 20.09.2013; Бюл. № 26. 10 с.].

14. Magomedov GO, Plotnikova IV, Krivosheeva AV. Marshmallow production method. Russia patent RU 2651288C1. 2018. [Способ производства зефира: пат. 2651288C1 Рос. Федерация. № 2017114089 / Магомедов Г. О., Плотникова И. В., Кривошеева А. В.; заявл. 24.04.2017; опубл. 19.04.2018; Бюл. № 11. 9 с.].

15. Savenkova TV, Osipov MV, Kazantsev EV, Kochetkova AA, Vorobieva VM, Vorobieva IS, *et al.* The production technology of diabetic confection with modified carbohydrate profile. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016;7(6):3123–3130.

16. Macejchik IV, Korpacheva SM, Kudryashova AN, Lomovskij OI. Increased antioxidant activity of frozen whipped functional desserts. Food Industry. 2018;(11):28–31. (In Russ.). [Повышение антиоксидантной активности замороженных взбитых десертов функциональной направленности / И. В. Мацейчик [и др.] // Пищевая промышленность. 2018. № 11. С. 28–31.].

17. Krylova EN, Savenkova TV, Rudenko OS, Mavrina EN. The use of milk protein in the production of jelly products. Food Processing: Techniques and Technology. 2018;48(3):58–64. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-3-58-64

18. Smykov IT. Protein-polysaccharide interactions in dairy production. Food systems. 2020;3(4):24–33. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-4-24-33

19. Momin MA, Jubayer MF, Begum AA, Nupur AH, Ranganathan TV, Mazumder MAR. Substituting wheat flour with okara flour in biscuit production. Foods and Raw Materials. 2020;8(2):422–428. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-422-428

20. Lur'e IS, Ivanov AV, Tumanova AE. Cream production method. Russia patent RU 2165150C1. 2001. [Способ приготовления крема: пат. 2165150C1 Рос. Федерация. № 99119866/13 / Лурье И. С., Иванов А. В., Туманова А. Е.; заявл. 17.09.1999; опубл. 20.04.2001. 4 с.].

21. Strupan EA. Composition of "Charlotte" cream and method of its production. Russia patent RU 2334402C1. 2008. [Композиция крема «Шарлотт» и способ ее приготовления: пат. 2334402C1 Рос. Федерация. № 2007124840/13 / Струпан Е. А.; заявл. 02.07.2007; опубл. 27.09.2008; Бюл. № 27. 4 с.].

22. Vas'kina VA, Golovacheva AV, L'vovich NA, Nasedkina AV, Rodjukova EV, Onikova MA, *et al.* Finish semi-product production method. Russia patent RU 2452189C1. 2012. [Способ производства отделочного полуфабриката: пат. 2452189C1 Рос. Федерация. № 2011117212/13 / Васькина В. А. [и др.]; заявл. 04.05.2011; опубл. 10.06.2012; Бюл. № 16. 6 с.].

23. Ruban NV, Vas'kina VA, Bogatyreva TG, Mazukabzova EV. The use of protein-polysaccharide in mixtures production of creams for cakes and pastries. Storage and Processing of Farm Products. 2014;(11):5–8. (In Russ.). [Использование белок-полисахаридных смесей в производстве кремов для тортов и пирожных / Н. В. Рубан [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2014. № 11. С. 5–8.].

24. Bogatyreva TG, Ruban NV, Vaskina VA, Belyavskaya IG. Polisaharidnye proteinmixtureto increasethe shelf lifeof oilcreams. Food Industry. 2015;(3):24–26. (In Russ.). [Белок-полисахаридные смеси для увеличения продолжительности хранения масляных кремов / Т. Г. Богатырева [и др.] // Пищевая промышленность. 2015. № 3. С. 24–26.].

25. Mogil′nyy MP. Confectionary formulations. Moscow: DeLi plyus; 2019. 570 p. (In Russ.). [Могильный М. П. Сборник рецептур на продукцию кондитерского производства. М.: ДеЛи плюс, 2019. 570 с.].

26. Tutelyan VA, Sharafetdinov KhKh, Lapik IA, Vorobyeva IS, Sukhanov BP. Priorities in the development of specialized food products with optimized composition for patients with type 2 diabetes mellitus. Problems of Nutrition. 2014;83(6):41–51. (In Russ.). [Приоритеты в разработке специализированных пищевых продуктов оптимизированного состава для больных сахарным диабетом 2 типа / В. А. Тутельян [и др.] // Вопросы питания. 2014. Т. 83. № 6. С. 41–51.].

27. Simopoulos AP, De Meester F, Koletzko B. A balanced omega-6/omega-3 fatty acids ratio, cholesterol and coronary heart disease: World review of nutrition and dietetics. Vol. 100. Karger; 2009. 126 p.

28. Pyryeva EA, Safronova AI. The role of dietary fibers in the nutrition of the population. Problems of Nutrition. 2019;88(6):5–11. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10059

29. Reznichenko IYu, Shcheglov MS. Sugar substitutes and sweeteners in confectionery technology. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(4):576–587. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-576-587

30. Schuster J, Benincá G, Vitorazzi R, del Bosco SM. Effects of oats on lipid profile, insulin resistance and weight loss. Nutricion Hospitalaria. 2015;32(5):2111–2116. https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.5.9590

31. Medvedeva EN, Babkin VA, Ostroukhova LA. Larch arabinogalactan: a review of properties and prospects. Chemistry of Plant Raw Materials. 2003;(1):27–37. (In Russ.). [Медведева Е. Н., Бабкин В. А., Остроухова Л. А. Арабиногалактан лиственницы – свойства и перспективы использования (обзор) // Химия растительного сырья. 2003. № 1. С. 27–37.].

32. Beketova NA, Pavlovskaya EV, Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Kosheleva OV, Sokolnikov AA, *et al.* Biomarkers of vitamin status in obese school children. Problems of Nutrition. 2019;88(6):5–11. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10043

33. Kinash MI, Boyarchuk OR. Fat-soluble vitamins and immunodeficiency: Mechanisms of influence and opportunities for use. Problems of Nutrition. 2020;89(3):22–32. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10026

34. Zajtseva LV, Ruban NV, Kravchenko VS, Spiryugov AN, Ruban DI. Dietary cream semi-product. Russia patent RU 2724689C1. 2020. [Диетический кремовый полуфабрикат: пат. 2724689C1 Рос. Федерация. № 2019138225 / Зайцева Л. В. [и др.]; заявл. 26.11.2019; опубл. 25.06.2020; Бюл. № 18. 16 с.].

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2385
https://elibrary.ru/UBJCWH

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Изучение влияния комплексной растительной добавки на свойства мучных смесей и пшеничного теста

**А. В. Маслов*, З. Ш. Мингалеева, Т. А. Ямашев, Н. Ф. Шибаева**

*Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия*

*Поступила в редакцию: 08.02.2022*
*Принята после рецензирования: 18.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

**А. В. Маслов: maslov-aleksandr95@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5841-0705*
*З. Ш. Мингалеева: https://orcid.org/0000-0003-3076-9104*
*Т. А. Ямашев: https://orcid.org/0000-0002-4758-7924*
*Н. Ф. Шибаева: https://orcid.org/0000-0002-0482-4723*

*© А. В. Маслов, З. Ш. Мингалеева, Т. А. Ямашев, Н. Ф. Шибаева, 2022*

**Аннотация.**
Для создания обогащенных хлебобулочных изделий используются пищевые добавки из нетрадиционного растительного сырья. Однако включение их в рецептуру с пшеничной мукой способно влиять на структуру белково-крахмального матрикса и реологические характеристики тестовых полуфабрикатов, что может сказаться на качестве готового изделия. Цель исследования заключалась в изучении влияния пищевой добавки на основе композиции растительных компонентов на влажность, водопоглощение и состояние белково-протеиназного комплекса мучных смесей, а также на реологические свойства пшеничного теста.
Объектами исследования являлись мучные смеси из муки пшеничной высшего сорта и пищевой комплексной добавки (в концентрациях 10, 16 и 22 % к массе готовых мучных смесей) и тестовые полуфабрикаты на их основе. Пищевая комплексная добавка состоит из муки пшеничной обойной и порошков пророщенной спельты, семян тыквы, плодовых тел грибов вешенки и ягод крыжовника в соотношении 56,3:25,0:17,2:0,9:0,6 соответственно. Влажности мучных смесей определяли гравиметрическим методом, водопоглощение и реологические свойства – прибором Farinograph-AT, содержание сырой клейковины – отмыванием клейковины, сухой – методом высушивания, качество клейковины – по показаниям прибора ИДК-3М.
Внесение добавки в пшеничную муку приводило к снижению водопоглощения смеси и времени образования теста, способствовало расслаблению клейковины, увеличению количества и влажности сырой клейковины. Количество сухой клейковины при дозировках добавки 16 и 22 % к массе мучной смеси уменьшалось на 3,4 и 4,0 % соответственно по отношению к контролю, а при 10 % возрастало на 3,3 %. Наилучшие значения устойчивости, степени разжижения теста и показателя качества фаринографа (критерий качества муки) имел образец с дозировкой добавки в количестве 16 % к массе мучной смеси.
Результаты исследования могут применяться в производстве хлебобулочных изделий, обогащенных пищевой комплексной добавкой на основе растительных компонентов. Необходимо производить перерасчет количества воды на замес теста и определение его продолжительности. Дальнейшие исследования следует направить на изучение влияния добавки на свойства тестовых полуфабрикатов в процессе брожения и расстойки.

**Ключевые слова.** Хлебобулочные изделия, тесто, мучная смесь, клейковина, реология, растительное сырье, обогащение

**Для цитирования:** Изучение влияния комплексной растительной добавки на свойства мучных смесей и пшеничного теста / А. В. Маслов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 511–525. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2385

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2385
https://elibrary.ru/UBJCWH

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Effect of a Complex Plant Additive on Flour Mixes and Wheat Dough

**Alexander V. Maslov*, Zamira Sh. Mingaleeva, Timur A. Yamashev, Nailya F. Shibaeva**

*Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia*

*Received: 08.02.2022*
*Revised: 18.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

**Alexander V. Maslov: maslov-aleksandr95@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5841-0705*
*Zamira Sh. Mingaleeva: https://orcid.org/0000-0003-3076-9104*
*Timur A. Yamashev: https://orcid.org/0000-0002-4758-7924*
*Nailya F. Shibaeva: https://orcid.org/0000-0002-0482-4723*

*© A.V. Maslov, Z.Sh. Mingaleeva, T.A. Yamashev, N.F. Shibaeva, 2022*

**Abstract.**
Food additives from non-traditional plant raw materials are a promising source of new fortified bakery products. However, they can affect the protein-starch structure of wheat flour and the rheological profile of the semi-finished bakery products, thus changing the quality of the finished product. The research objective was to study the effect of a novel plant food additive on the moisture, water absorption, and protein-proteinase complex of flour mixes and the rheological properties of wheat dough. The study featured flour mixes of top-grade wheat flour and the new food complex additive (10, 16, and 22%), as well as dough semi-finished products. The food complex additive consisted of whole grain wheat flour and powders of germinated spelt, pumpkin seeds, oyster mushrooms, and gooseberries in a ratio of 56.3:25.0:17.2:0.9:0.6, respectively. The moisture content was determined by the gravimetric method, while the water absorption and rheological properties were described using a Farinograph-AT. The content of wet gluten was measured by washing, the content of dry gluten was determined by drying, and the quality of gluten was tested according using an IDK-3M device.
The additive decreased the water absorption and the dough development time, contributed to the gluten relaxation, and increased the amount and humidity of wet gluten. At 16 and 22% of the additive, the amount of dry gluten decreased by 3.4 and 4.0%, respectively; at 10%, it increased by 3.3%. The best stability, dough softening degree, and farinograph quality indicator were observed at 16%.
The results can be used to produce new bakery products fortified with the new complex plant food additive, with the amount of water and kneading time adjusted for each particular case. Further research will feature the effect of the additive on the properties of dough semi-finished products during fermentation and proofing.

**Keywords.** Bakery products, dough, flour mixture, gluten, rheology, plant raw materials, enrichment

**For citation:** Maslov AV, Mingaleeva ZSh, Yamashev TA, Shibaeva NF. Effect of a Complex Plant Additive on Flour Mixes and Wheat Dough. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):511–525. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2385

## Введение

Объем производства хлеба и хлебобулочных изделий снижается, но изделия из муки остаются продуктам питания повседневного потребления. В связи с этим перед производителями стоит задача повышения конкурентоспособности выпускаемой продукции и придания ей свойств, позволяющих выделить изделия среди других аналогичных товаров в своей категории. Кроме того, возросла ориентация потребителей на здоровый образ жизни, в результате чего повысились требования к продуктам питания. Потребители желают приобретать хлеб с улучшенным составом, повышенной пищевой ценностью и высоким содержанием «здоровых» добавок [1, 2].

Возросло число работ, нацеленных на повышение пищевой ценности хлебобулочных изделий [3]. При проведении таких исследований важно не только создание конечного продукта с заданным химическим составом, но и разработка технологии производства.

Одним из главных этапов при производстве хлебобулочных изделий является замес тестовых полуфабрикатов. На данной стадии технологического

процесса происходит формирование структуры матрикса клейковинных белков, в который включаются зерна крахмала [4]. Белково-крахмальный матрикс определяет структурно-механические свойства готовых хлебобулочных изделий. Реологические характеристики тестовых полуфабрикатов зависят от свойств клейковины. Они определяются соотношением и взаимодействием глютенина и глиадина, имеющих важное значение при формировании вязкоупругих свойств полуфабрикатов (например, удержание углекислого газа, выделяющегося при брожении теста) и качества конечного продукта. Глиадины определяют вязкость и растяжимость теста, а глютенины обладают когезионными свойствами и способствуют приданию тесту прочности и эластичности [5, 6]. На белково-крахмальный матрикс и структурно-механические характеристики тестовых полуфабрикатов могут оказывать влияние обогащающие добавки, вносимые в тесто [3, 7].

Оценить влияние вносимых добавок на хлебопекарные свойства мучных смесей и степень их воздействия на белково-крахмальный матрикс возможно с помощью различных химических, технологических и реологических методов. В хлебопекарной промышленности применяют несколько приборов, измеряющих реологические свойства теста: альвеограф, фаринограф, миксограф и экстенсограф. Наиболее точные результаты измерения возможно получить с использованием фаринографа Farinograph-AT [8].

Фаринограф является широко используемым физическим прибором для измерения реологических свойств тестовых полуфабрикатов. В фаринографе с постоянной скоростью происходит замешивание теста, в процессе которого регистрируется возникающее сопротивление, на основе чего составляется фаринограмма. Это диаграмма, на оси абсцисс которой отмечается время замешивания теста, а на оси ординат – консистенция, выраженная в единицах фаринографа (FE). Консистенция пропорциональна величине крутящего момента лопастей мешалки, который уравновешивает сопротивление теста напряжению сдвига [9–12].

Кривая фаринограммы разделена на две части. Первая часть характеризует стадию развития теста и отличается увеличением консистенции, отражающей повышение сопротивления тестового полуфабриката в процессе смешивания. Вторая часть фаринограммы начинается при достижении консистенцией своего пика и дальнейшего снижения, которое вызвано чрезмерным перемешиванием. Данное снижение консистенции называется стадией размягчения теста [13, 14].

Учеными проводятся исследования, которые показывают, что добавки, повышающие пищевую ценность хлеба (порошки из семян тыквы, грибов вешенок, ягод, нетрадиционных зерновых культур и пророщенных зерен), оказывают влияние на структуру белково-крахмального матрикса и реологические характеристики тестовых полуфабрикатов [15–18]. Авторами [19, 20] установлено, что внесение порошков из семян тыквы и грибов вешенок в муку повышает водопоглощающую способность мучных смесей, время образования и устойчивость теста, но способствует понижению степени разжижения теста. Недостаточно информации представлено о влиянии комплекса добавок на водопоглощение мучных смесей, реологические свойства и структуру белкового матрикса тестовых полуфабрикатов.

В нашем предыдущем исследовании было показано, что применение пищевой комплексной добавки позволяет повысить пищевую ценность пшеничного хлеба: увеличить содержание белков, жиров и пищевых волокон и снизить содержание углеводов [21]. В состав пищевой комплексной добавки входили следующие компоненты: мука пшеничная обойная, порошок пророщенной спельты, порошки семян тыквы, плодовых тел грибов вешенки и ягод крыжовника, полученных путем сушки сырья в вибрационной сушилке-мельнице, при соотношении 56,3:25,0:17,2:0,9:0,6 соответственно [2, 22].

Целью исследования являлось изучение влияния пищевой комплексной добавки на реологические свойства пшеничного теста, водопоглощение и состояние белково-протеиназного комплекса мучных смесей.

**Объекты и методы исследования**

Объектами исследования выступали мука пшеничная высшего сорта (ГОСТ 26574-2017), мучные смеси и тестовые полуфабрикаты.

Мучные смеси готовили с использованием муки пшеничной высшего сорта (ГОСТ 26574-2017) и пищевой комплексной добавки, состоящей из муки пшеничной обойной, порошков пророщенной спельты, семян тыквы, плодовых тел грибов вешенки и ягод крыжовника в соотношении 56,3:25,0:17,2:0,9:0,6 соответственно. Содержание компонентов в составе пищевой комплексной добавки определено по результатам экспериментов, представленных в работе [21]. Пищевая комплексная добавка представляет собой порошок, максимальное количество частиц которого соответствует диапазону 1–40 мкм. Содержание основных веществ в добавке на 100 г следующее: вода – 8,2 г, белки – 13,1 г, жиры – 9,9 г, усвояемые углеводы – 64,2 г, сырая клетчатка – 2,8 г, зола – 1,9 г. Пищевую комплексную добавку вносили в муку пшеничную высшего сорта в концентрациях 10, 16 и 22 % к массе готовых мучных смесей.

Влажность мучных смесей определяли гравиметрическим методом согласно ГОСТ 9404-88.

Водопоглощение мучных смесей и реологические свойства тестовых полуфабрикатов (время образования теста, консистенция, устойчивость,

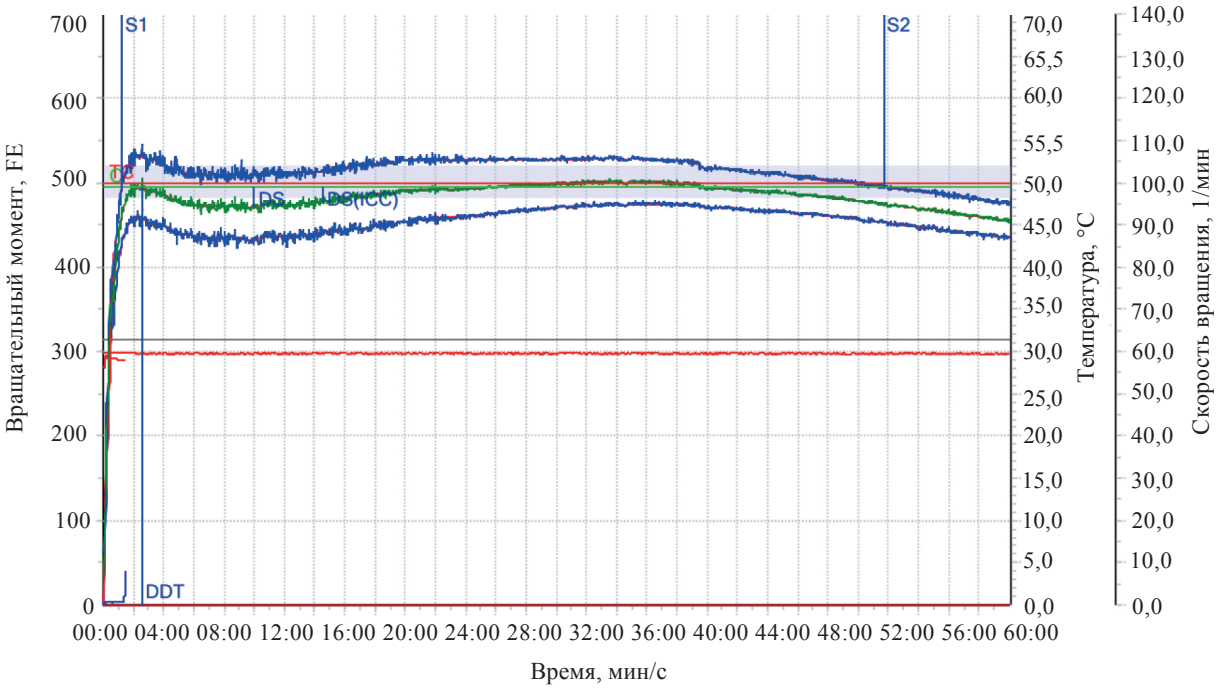



Рисунок 1. Фаринограмма тестового полуфабриката из пшеничной муки высшего сорта (контроль)

Figure 1. Farinogram of a semi-finished bakery product from top-grade wheat flour (control)

степень разжижения через 10 мин после старта и через 12 мин после максимума, показатели качества) определяли с использованием фаринографа Farinograph-AT (Brabender, Дуйсбург, Германия) согласно ГОСТ ISO 5530-1-2013. Тесто готовили в мешалке фаринографа из мучной смеси массой, эквивалентной 300 г муки влажностью 14 %, согласно ГОСТ ISO 5530-1-2013.

Содержание сырой клейковины определяли методом отмывания клейковины из замешанного теста, сухой – методом высушивания сырой клейковины, качество клейковины оценивали по показаниям прибора ИДК-3М согласно ГОСТ 27839-2013. Влажность сырой клейковины определяли гравиметрическим методом и рассчитывали по формуле:

$$W = (M_{\text{сыр.к.}} - M_{\text{сух.к.}})\cdot 100/M_{\text{сыр.к.}} \quad (1)$$

где $M_{\text{сыр.к.}}$ – масса сырой клейковины; $M_{\text{сух.к.}}$ – масса сухой клейковины; 100 – коэффициент пересчета в %.

Статистический анализ данных, получение уравнений полиномиальной регрессии второй степени и определение величины достоверной аппроксимации $R^2$ проводили в MS Excel, корреляционный анализ – в программе Statistica 13.

**Результаты и их обсуждение**

Для оценки влияния пищевой комплексной добавки на водопоглощение мучных смесей и реологические характеристики тестовых полуфабрикатов проведена оценка графика фаринограммы контрольного образца тестового полуфабриката из пшеничной муки высшего сорта без добавления пищевой комплексной добавки (рис. 1).

На стадию формирования структуры тестовых полуфабрикатов влияют два основных процесса: поглощение воды компонентами мучной смеси (гидратация) и структурообразование. Последний процесс заключается в образовании межмолекулярных дисульфидных связей между белками клейковины и постепенном формировании пространственно непрерывной сети клейковины, которая связывает крахмал и другие компоненты мучной смеси [13, 23].

Благодаря данным процессам консистенция теста увеличивается. Однако чем медленнее происходит гидратация компонентов муки, тем более длительнее становится процесс формирования белково-крахмального матрикса. Исследователи J. Lefebvre и N. Mahmoudi установили, что увеличение гидратации теста приводит к уменьшению его консистенции, в то время как повышение числа межмолекулярных связей, образующих сеть клейковины, способствует улучшению консистенции теста [24].

Стадия формирования структуры тестовых полуфабрикатов заканчивается в тот момент, когда продолжающееся перемешивание приводит к ослаблению консистенции теста, т. е. начинается стадия размягчения.

Описанные выше изменения консистенции теста визуализируются с помощью фаринограммы с одним

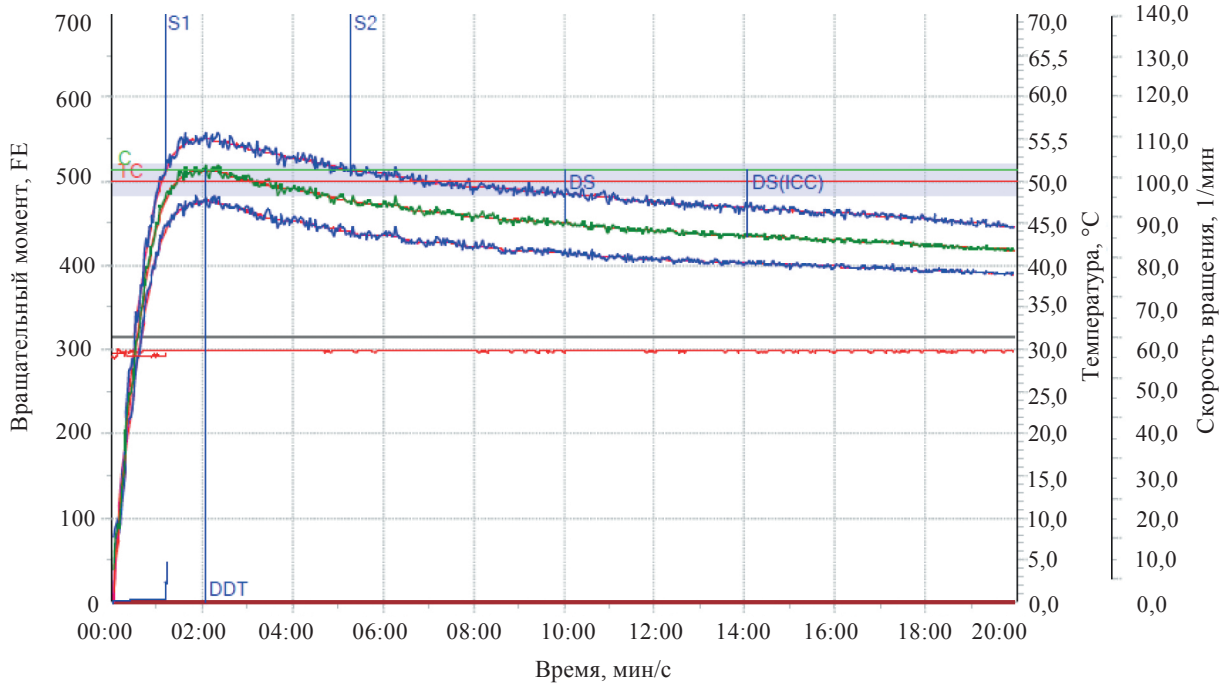



Рисунок 2. Фаринограмма тестового полуфабриката из пшеничной муки высшего сорта с добавлением пищевой комплексной добавки в концентрации 10 % к массе мучной смеси

Figure 2. Farinogram of a semi-finished bakery product from top-grade wheat flour with 10% of food complex additive by flour mix weight

пиком и типичны для однородных видов пшеничной муки, не содержащих улучшителей [13]. Однако анализ рисунка 1 позволяет сделать вывод о том, что фаринограмма пшеничной муки высшего сорта без добавления пищевой комплексной добавки относится к типу фаринограмм с двумя или несколькими пиками (максимумами) консистенции. Данный график отличался ростом консистенции до достижения пика через 2,57 мин после начала перемешивания муки и воды в мешалке фаринографа. Затем наблюдалось снижение консистенции, после чего на 8–10 мин происходил повторный рост консистенции, который достиг второго пика на 33,68 мин замеса. Так как во время проведения анализа на кривой наблюдалось образование второго максимума консистенции, то время испытания увеличили до 60 мин.

Значение консистенции во время второго пика фаринограммы (502 FE) превышало это же значение во время первого пика (495 FE). Из-за этого временем образования теста можно считать второй пик, что технически неверно, т. к. по ГОСТ ISO 5530-1-2013 время образования теста – это разность между временем начала добавления воды и временем появления первых признаков снижения консистенции. Поэтому моментом образования теста следует считать первый пик. Образование второго максимума консистенции нехарактерно для обычной муки. Итальянские ученые M. Migliori и S. Correra в своем исследовании показали, что второй пик консистенции на фаринограмме часто наблюдается, когда тестовые полуфабрикаты замешиваются из смеси нескольких видов пшеничной муки, различающихся физическими параметрами. Например, способностью связывать воду и размер частиц [12]. Установлено, что на процесс поглощения воды мучной смесью и структуру белков клейковины во время замеса теста могут влиять степень разрушения крахмальных зерен муки, содержание высокомолекулярных глютенинов и присутствие добавок с отложенным эффектом на белково-крахмальный матрикс: пищевые волокна, антиоксиданты и глюкозоксидаза [25–28].

Следовательно, в данном случае при определении водопоглощения и реологических характеристик контрольного образца тестового полуфабриката корректно принимать во внимание только первый пик, т. к. второй пик не определялся изначальными свойствами белково-протеиназного комплекса муки. Анализ полученных результатов проводился с использованием в качестве контрольных значений показателей фаринограммы, рассчитанных по первому пику.

На рисунках 2–4 представлены фаринограммы опытных образцов тестовых полуфабрикатов из пшеничной муки высшего сорта с добавления пищевой комплексной добавки в концентрациях 10, 16 и 22 % к массе мучных смесей.

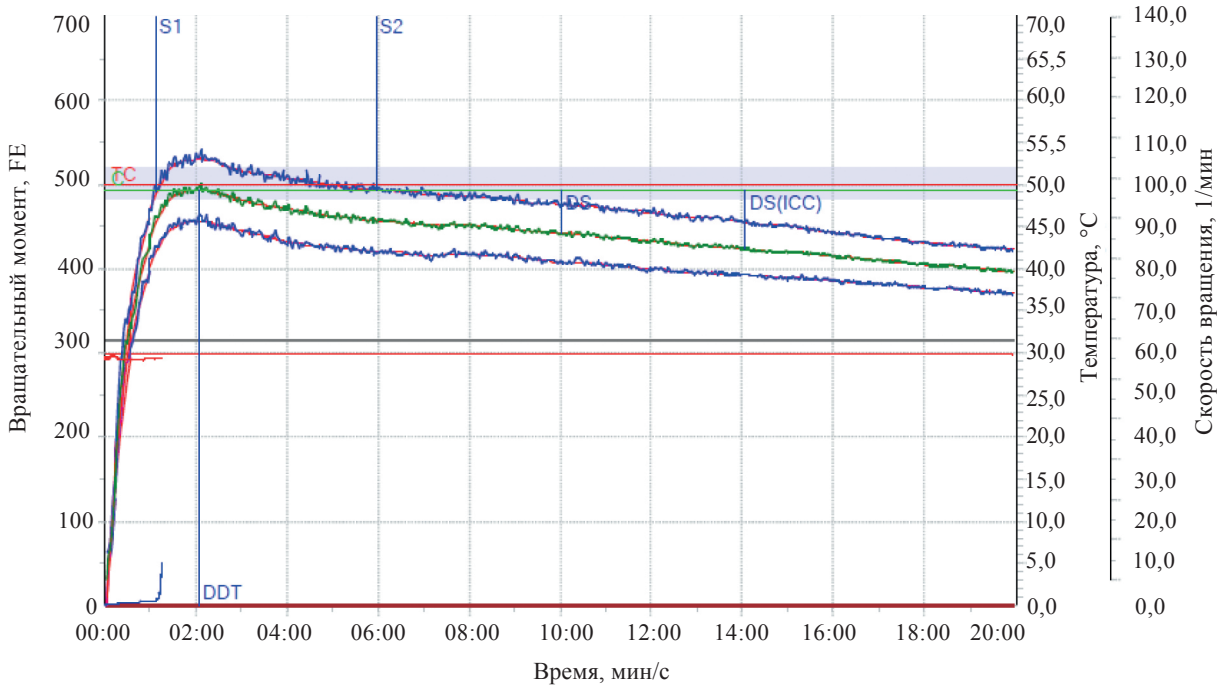



Рисунок 3. Фаринограмма тестового полуфабриката из пшеничной муки высшего сорта с добавлением пищевой комплексной добавки в концентрации 16 % к массе мучной смеси

Figure 3. Farinogram of a semi-finished bakery product from top-grade wheat flour with 16% of food complex additive by flour mix weight

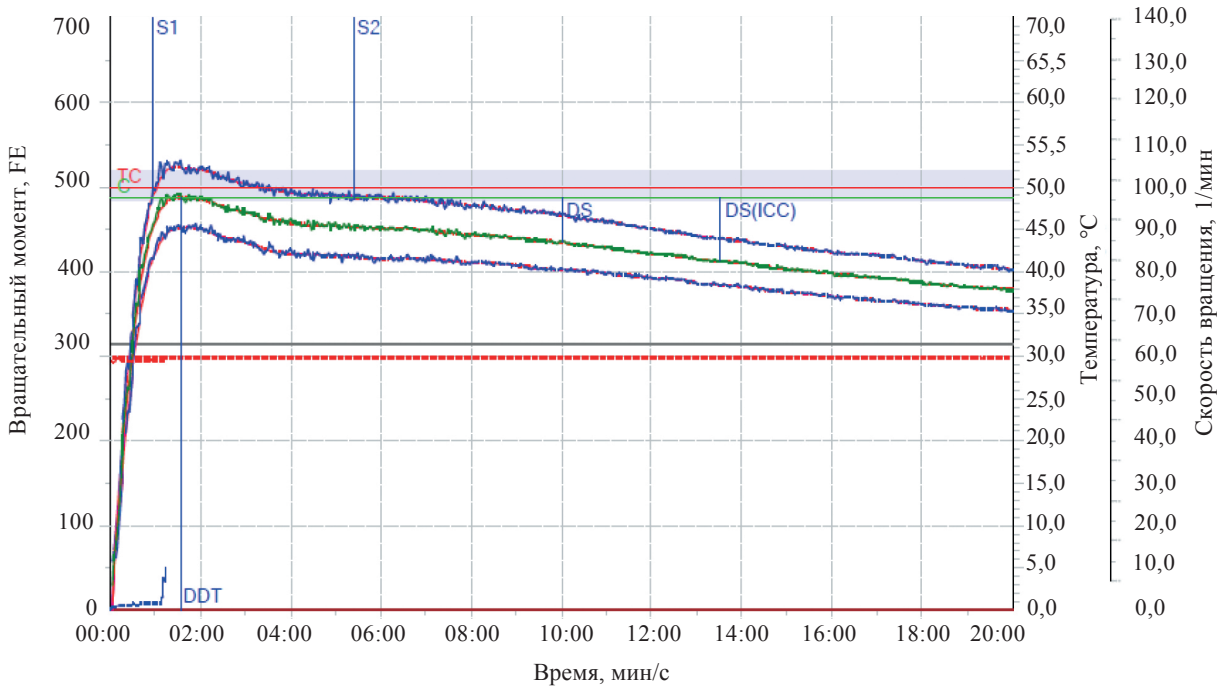



Рисунок 4. Фаринограмма тестового полуфабриката из пшеничной муки высшего сорта с добавлением пищевой комплексной добавки в концентрации 22 % к массе мучной смеси

Figure 4. Farinogram of a semi-finished bakery product from top-grade wheat flour with 22% of food complex additive by flour mix weight

Рисунки 2–4 демонстрируют, что фаринограммы тестовых полуфабрикатов, приготовленных из мучных смесей с пищевой комплексной добавкой, характеризовались наличием одного пика консистенции. Полученные результаты говорят о влиянии пищевой комплексной добавки на формирование структуры белково-крахмального матрикса тестовых полуфабрикатов во время их замеса.

На рисунках 5–8 представлен математический анализ фаринограмм в виде графических иллюстраций и уравнений регрессии (полиномы второй степени), характеризующих влияние пищевой комплексной добавки на водопоглощение мучных смесей и реологические свойства тестовых полуфабрикатов.

Показатель водопоглощения определяет количество воды, которое необходимо для получения теста требуемой консистенции. В данном исследовании определяли влияние пищевой комплексной добавки на водопоглощение и влажность мучных смесей. Результаты представлены на рисунке 5.

Данные рисунка 5 показывают, что внесение пищевой комплексной добавки в пшеничную муку высшего сорта способствовало повышению показателя водопоглощения, которое соответствует фактическому пику консистенции и влажности мучных смесей, а также водопоглощению, скорректированному на требуемую консистенцию 500 FE. Увеличение указанных показателей при повышении концентрации пищевой комплексной добавки соответствовало полиномиальной регрессии второй степени. Это подтверждается соответствующими величинами достоверной аппроксимации $R^2$.

В технологии хлебопечения наиболее важным является показатель водопоглощения, скорректированный на базисную влажность мучных смесей 14,0 %. Он позволяет сравнить между собой водопоглощение смесей, имеющих разную фактическую влажность. Более высокое водопоглощение указывает на то, что для достижения желаемой консистенции требуется больше воды [3, 6, 20]. Анализ данных рисунка 5 показывает, что увеличение концентрации пищевой комплексной добавки в мучных смесях приводило к снижению их влажности. При дозировках пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % показатель влажности мучных смесей уменьшился на 6,0, 6,9 и 7,7 % соответственно по сравнению с пшеничной мукой высшего сорта. Полученные данные объясняются более низкой влажностью пищевой комплексной

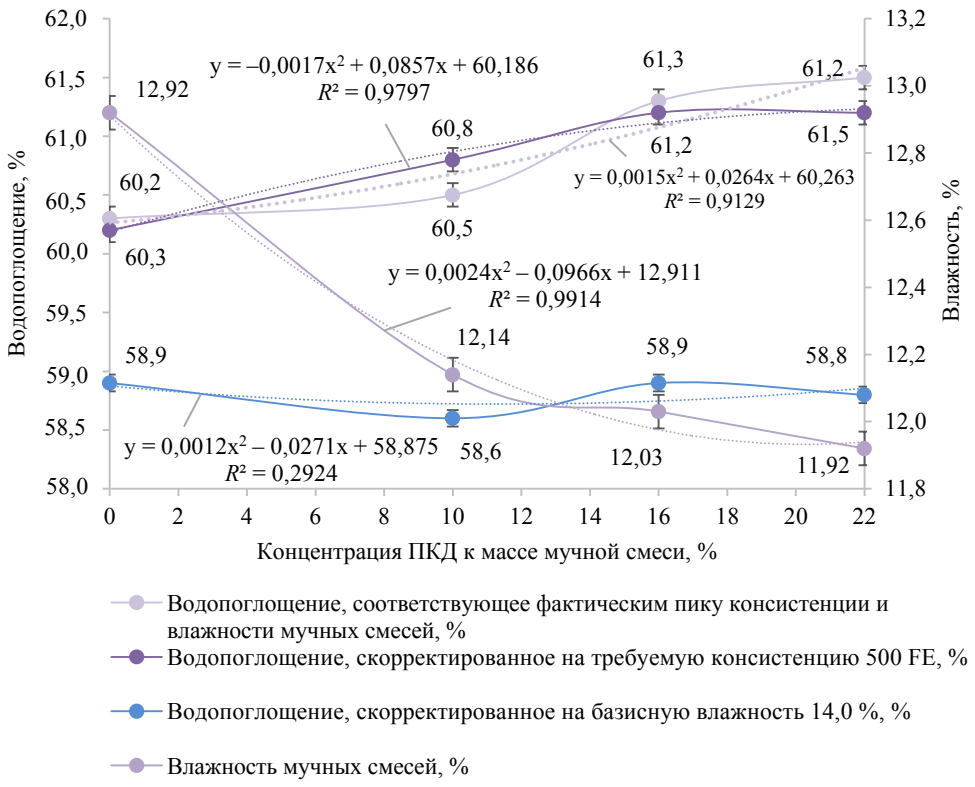



Рисунок 5. Влияние пищевой комплексной добавки на влажность и водопоглощение мучных смесей

Figure 5. Effect of the complex additive on the moisture and water absorption of the flour mixes

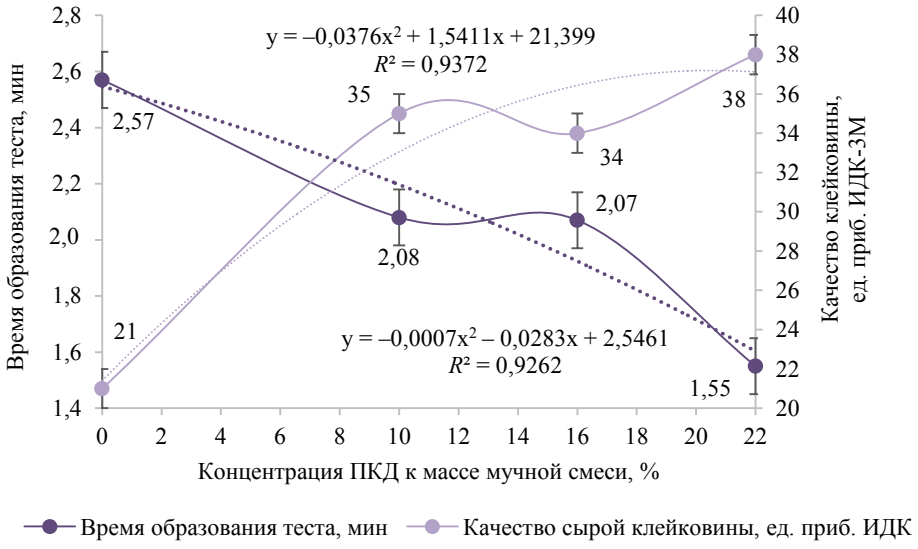



Рисунок 6. Влияние пищевой комплексной добавки на время образования теста и качество клейковины по показаниям прибора ИДК-3М

Figure 6. Effect of the complex additive on the dough development time and gluten quality

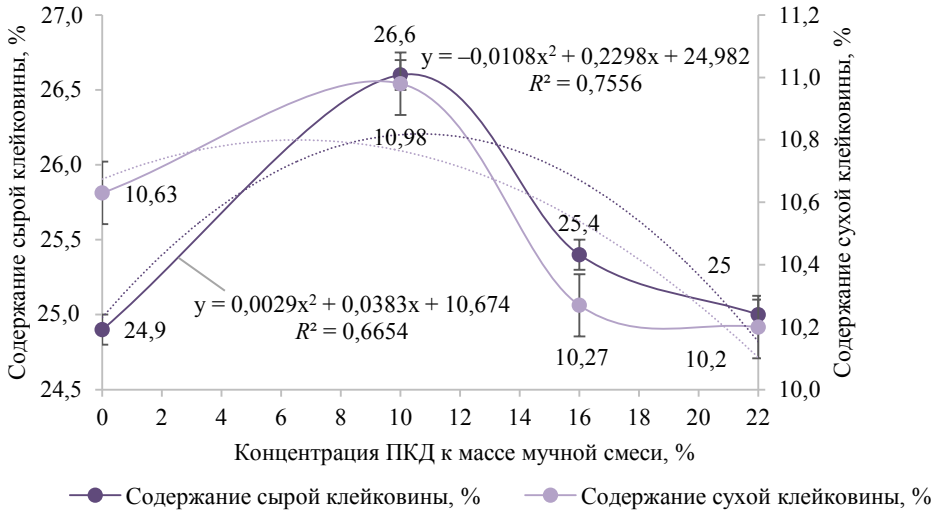



Рисунок 7. Влияние пищевой комплексной добавки на содержание сырой и сухой клейковины в мучных смесях и влажность сырой клейковины

Figure 7. Effect of the complex additive on the content of wet and dry gluten in flour mixes and the moisture content of wet gluten

добавки, которая зависит от влажности входящих в ее состав компонентов.

В связи с уменьшением влажности мучных смесей при увеличении дозировок пищевой комплексной добавки наблюдалось незначительное снижение показателя водопоглощения, скорректированного на базисную влажность мучных смесей 14,0 %. Данный показатель снижался при концентрациях пищевой комплексной добавки к массе мучной смеси 10 и 22 % на 0,51 и 0,17 % соответственно по сравнению с контролем. При концентрации пищевой комплексной добавки 16 % показатель водопоглощения был равен контрольному.

Водопоглощение пшеничной муки зависит от крупности помола, степени повреждения крахмала, количества пентозанов, а также содержания белка, пищевых волокон, прочности клейковины и других факторов [9, 29, 30]. Согласно литературным данным семена тыквы, грибы вешенки и спельта

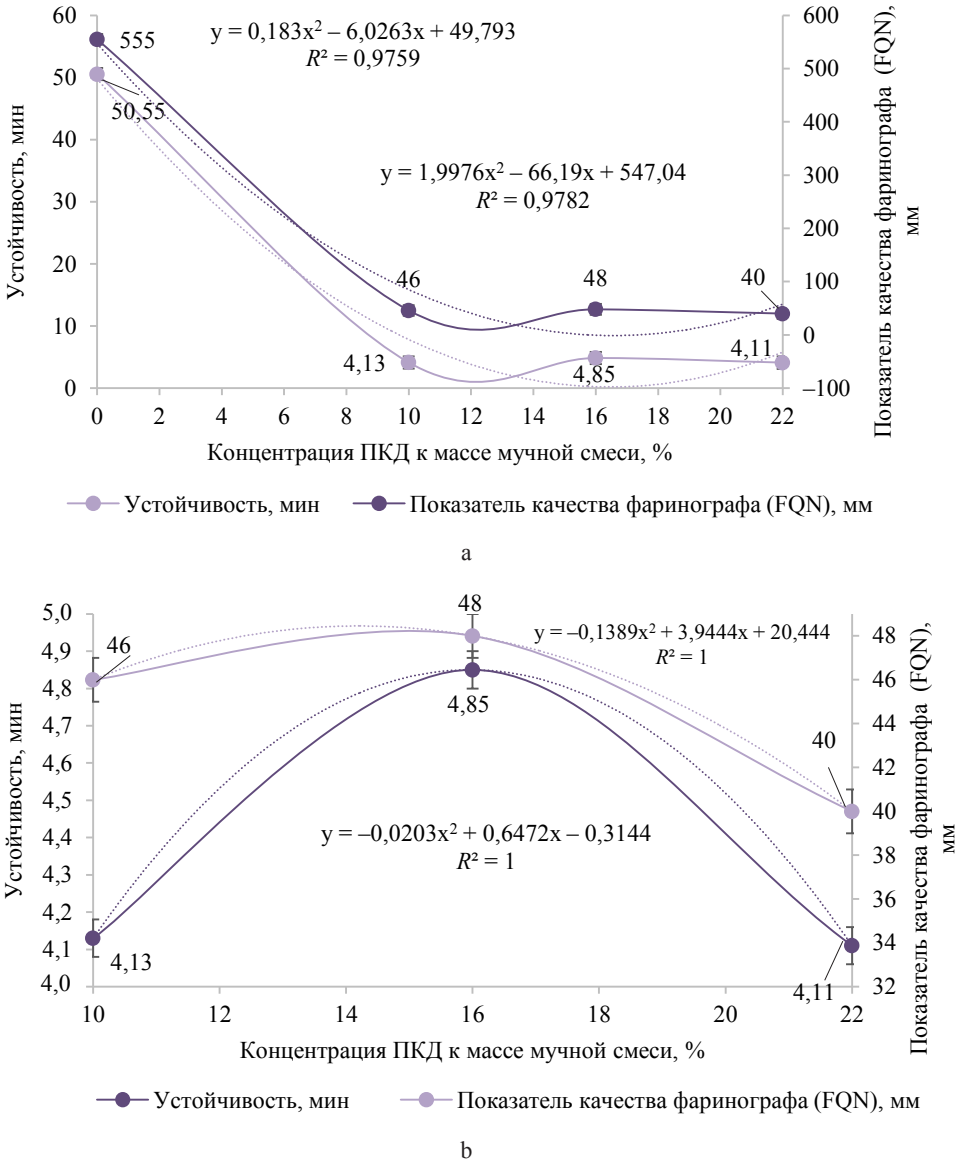



Рисунок 8. Влияние пищевой комплексной добавки на устойчивость и показатель качества (FQN) тестовых полуфабрикатов: a – сравнение опытных образцов с контролем; b – сравнение между опытными образцами

Figure 8. Effect of the complex additive on the stability and quality number of the semi-finished bakery products: a – test samples vs. control; b – comparative analysis of test samples

отличаются высоким содержанием белка и пищевых волокон [31–33]. Благодаря этому при увеличении концентрации пищевой комплексной добавки водопоглощение опытных смесей оставалось примерно равным контролю, несмотря на уменьшение их влажности.

Внесение пищевой комплексной добавки оказывало влияние на все показатели реологических свойств теста. Результаты анализа фаринограмм, представленные на рисунке 6, показывают, что время образования теста сокращалось по мере добавления пищевой комплексной добавки в мучную смесь. При концентрациях пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси время образования теста сокращалось на 19,1, 19,5 и 39,7 % соответственно по сравнению со временем образования теста из пшеничной муки высшего сорта.

W. Biel с соавторами предположили, что время образования теста зависит от количества и качества клейковины и ее водосвязывающей способности [17]. Поэтому в данном исследовании оценивали влияние пищевой комплексной добавки на содержание сырой и сухой клейковины в мучных смесях, а также

влажность и качество сырой клейковины. Результаты исследований и их математическая обработка представлены на рисунках 6–8.

Корреляционный анализ данных показал, что наблюдалась отрицательная взаимосвязь между качеством клейковины (ед. приб. ИДК-3М) и временем образования теста: коэффициент корреляции $R = -0{,}91$ при уровне значимости $P = 0{,}087$. Увеличение растяжимости клейковины приводило к уменьшению времени образования теста. Полученные данные подтверждают гипотезу W. Biel с соавторами [17].

Данные рисунка 7 показывают, что при концентрациях пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси содержание сырой клейковины возрастало на 6,4, 2,0 и 0,4 % соответственно по сравнению с контролем. Содержание сухой клейковины при концентрации пищевой комплексной добавки 10 % к массе мучной смеси возрастало на 3,3 %, а при дозировках 16 и 22 % уменьшалось на 3,4 и 4,0 % соответственно по отношению к контролю. Расхождения в содержании сырой и сухой клейковины в мучных смесях связано с тем, что пищевая комплексная добавка оказывала влияние на формирование белкового матрикса в процессе набухания и отмывания клейковины. Согласно данным S. H. V. Cornet с соавторами клейковинные белки при гидратации могут взаимодействовать с неглютеновой фазой, что приводит к снижению их коэффициента набухания [33]. Поэтому во время отмывания клейковины вместе с крахмалом и другими неглютеновыми компонентами мучных смесей произошло отделение части клейковинных белков. В результате содержание сухой клейковины в мучных смесях с пищевой комплексной добавкой было ниже, по сравнению с контролем, чем содержание сырой клейковины.

При увеличении концентрации пищевой комплексной добавки наблюдалось повышение влажности сырой клейковины (рис. 7). При концентрациях пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси показатель влажности сырой клейковины увеличивался на 2,4, 3,9 и 3,5 % соответственно по сравнению с контролем. Согласно требованиям ГОСТ 27839-2013 высушивание отмытой клейковины ведут до момента ее прилипания. Внесение пищевой комплексной добавки в пшеничную муку высшего сорта привело к ослаблению связей между белками клейковины. В результате этого клейковина приобрела большую эластичность и стала более липкой, чем контроль. Данное предположение подтверждается также показаниями прибора ИДК-3М (рис. 6), которые возрастали при концентрации пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси на 66,7, 61,9 и 81 % соответственно по сравнению с контролем. Ослабление клейковины обусловлено действием пророщенной спельты, порошками семян тыквы и грибов вешенки, которые входят в состав пищевой комплексной добавки.

Вследствие неестественной пологости фаринограммы пшеничной муки высшего сорта без добавления пищевой комплексной добавки указанные показатели для опытных образцов мучных смесей следует сравнивать не с контролем, а друг с другом для достижения репрезентативности результатов. Показатели устойчивости, качества и степени разжижения, рассчитанные по кривой фаринограммы с двумя пиками консистенции, невозможно сравнивать с показателями, которые рассчитаны по кривой фаринограммы с одним пиком консистенции. В связи с этим на рисунках 8 и 9 показаны данные по влиянию пищевой комплексной добавки на устойчивость, показатели качества и степень разжижения тестовых полуфабрикатов через 10 мин после старта и 12 мин после достижения максимума в сравнении с контролем (a) и между опытными образцами (b).

Устойчивость теста – это разница во времени между точкой, где вершина кривой впервые пересекает линию 500 FE, и точкой, где вершина кривой повторно пересекает линию 500 FE. Показатель качества фаринографа (FQN) характеризует устойчивость консистенции теста в процессе замеса и определяется как расстояние по горизонтальной оси от начала замешивания до момента, когда консистенция снизится от уровня пика середины кривой на 30 единиц. Среди опытных образцов тестовых полуфабрикатов наибольшие показатели устойчивости теста и качества фаринографа имел образец с дозировкой пищевой комплексной добавки в количестве 16 % к массе мучной смеси.

Среди опытных образцов тестовых полуфабрикатов наименьшую степень разжижения (рис. 9) имел образец с концентрацией пищевой комплексной добавки 16 % к массе мучной смеси. Степень разжижения через 10 мин после старта у данного образца была на 19,0 и 3,9 % ниже, чем у опытных образцов с дозировками 10 и 22 %. Степень разжижения через 12 мин после максимума характеризовалась примерно такими же величинами: была ниже на 10,3 и 7,9 % по сравнению с опытными образцами с дозировками пищевой комплексной добавки 10 и 22 % к массе мучной смеси. Полученные данные коррелируют с данными рисунка 8 и подтверждают, что тестовый полуфабрикат, приготовленный с пищевой комплексной добавкой в концентрации 16 % к массе мучной смеси, был наиболее устойчивым к потере консистенции из-за перемешивания. Данная концентрация пищевой комплексной добавки способствовала образованию более устойчивого клейковинного каркаса теста по сравнению с дозировками 10 и 22 % к массе мучной смеси.

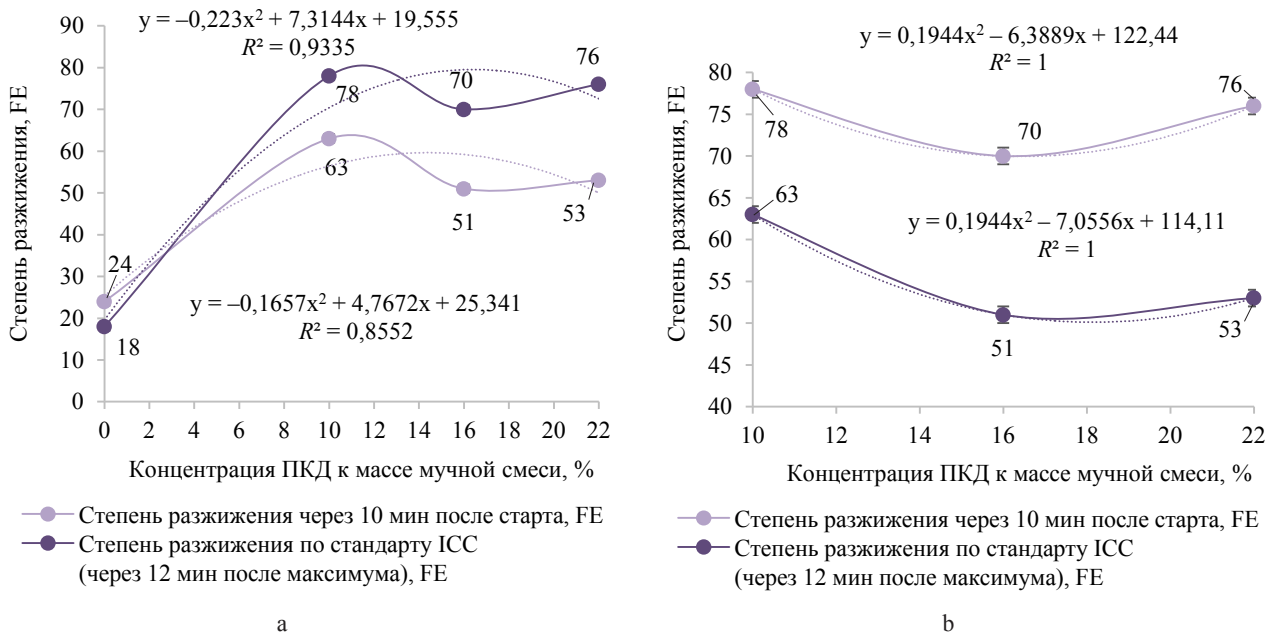



Рисунок 9. Влияние пищевой комплексной добавки на степень разжижения тестовых полуфабрикатов через 10 мин после старта и 12 мин после максимума: a – сравнение опытных образцов с контролем; b – сравнение между опытными образцами

Figure 9. Effect of the complex additive on the liquefaction of semi-finished bakery products 10 min after the start and 12 min after the maximum: a – test samples vs. control; b – comparative analysis of test samples

Внесение пищевой комплексной добавки в пшеничную муку высшего сорта приводило к понижению показателей устойчивости теста и качества фаринографа, а также повышению степеней разжижения (через 10 мин после старта и 12 мин после достижения максимума) по сравнению с пшеничной мукой высшего сорта без внесения пищевой комплексной добавки (рис. 8 и 9). Уравнения полиномиальной регрессии, описывающие данные изменения показателей по отношению к контролю, характеризовались более низкими величинами достоверной аппроксимации $R^2$, по сравнению с такой же величиной для уравнений полиномиальной регрессии, полученных при сравнении между собой данных опытных образцов.

Для определения взаимосвязи между показателями, характеризующими свойства клейковины, и показателями фаринографа был проведен корреляционный анализ. Диаграммы рассеяния, характеризующие зависимость между указанными показателями, приведены на рисунке 10.

В результате анализа экспериментальных данных установлено, что существовала статистически достоверная отрицательная зависимость между качеством сырой клейковины (ед. приб. ИДК-3М) и устойчивостью тестовых полуфабрикатов ($R = –0,98$, $P = 0,02$), а также показателем качества фаринографа ($R = –0,98$, $P = 0,02$). Наблюдалась статистически достоверная положительная зависимость между качеством сырой клейковины (ед. приб. ИДК-3М) и степенью разжижения теста через 12 мин после максимума ($R = 0,98$, $P = 0,02$). Полученные результаты подтверждают надежность данных, полученных с использованием фаринографа.

**Выводы**

В результате проведенных исследований изучено влияние пищевой комплексной добавки на реологические свойства пшеничного теста, водопоглощение и состояние белково-протеиназного комплекса мучных смесей.

Установлено, что внесение пищевой комплексной добавки в пшеничную муку высшего сорта в концентрациях 10 и 22 % к массе мучной смеси приводило к снижению показателя водопоглощения, скорректированного на базисную влажность мучных смесей 14,0 %, на 0,51 и 0,17 % соответственно по сравнению с контролем. Однако при концентрации 16 % указанный показатель равен контрольному.

При концентрациях пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси время образования теста сокращалось на 19,1, 19,5 и 39,7 % соответственно по сравнению со временем образования теста из пшеничной муки высшего сорта.

Изучено влияние пищевой комплексной добавки на свойства клейковины пшеничной муки высшего

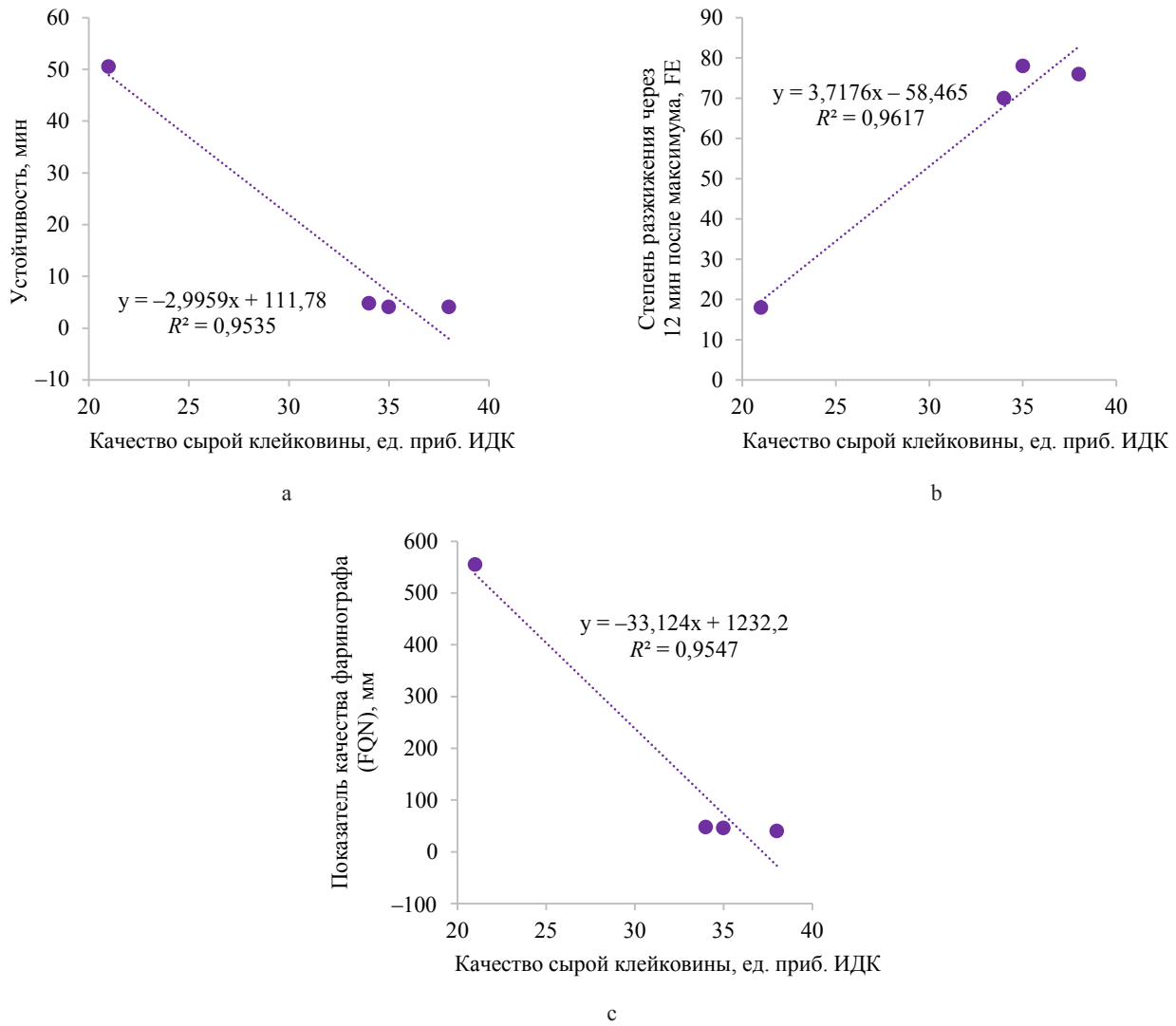



Рисунок 10. Диаграммы рассеяния, характеризующие зависимость между свойствами клейковины и показателями фаринографа

Figure 10. Scatterplots of gluten properties vs. farinograph parameters

сорта. При концентрациях пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси содержание сырой клейковины возрастало на 6,4, 2,0 и 0,4 % соответственно по сравнению с контролем. Содержание сухой клейковины при концентрации пищевой комплексной добавки 10 % к массе мучной смеси возрастало на 3,3 %, а при дозировках 16 и 22 % уменьшалось на 3,4 и 4,0 % соответственно по отношению к контролю. Показатель качества сырой клейковины по показаниям прибора ИДК-3М возрастал при концентрациях пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси на 66,7, 61,9 и 81 % соответственно по сравнению с контролем. Показатель влажности сырой клейковины при концентрациях пищевой комплексной добавки 10, 16 и 22 % к массе мучной смеси увеличивался на 2,4, 3,9 и 3,5 % соответственно по сравнению с контролем. Обнаружена отрицательная взаимосвязь между качеством клейковины (ед. приб. ИДК-3М) и временем образования теста ($R$ = –0,91, $P$ = 0,087).

Среди опытных образцов тестовых полуфабрикатов наибольшие показатели устойчивости теста и качества фаринографа, а также наименьшую степень разжижения теста (через 10 мин после старта и через 12 мин после максимума) имел образец с дозировкой пищевой комплексной добавки в количестве 16 % к массе мучной смеси.

Определена статистически достоверная отрицательная зависимость между качеством сырой клейковины (ед. приб. ИДК-3М) и устойчивостью тестовых полуфабрикатов ($R$ = –0,98, $P$ = 0,02), а также показателем качества фаринографа ($R$ = –0,98,

$P$ = 0,02). Установлена статистически достоверная положительная зависимость между качеством сырой клейковины (ед. приб. ИДК-3М) и степенью разжижения теста через 12 мин после максимума ($R$ = 0,98, $P$ = 0,02).

Практическая значимость исследования заключается в том, что результаты работы могут быть использованы в процессе производства обогащенных хлебобулочных изделий из пшеничной муки высшего сорта с использованием пищевой комплексной добавки при расчете количества воды на замес тестовых полуфабрикатов и определении продолжительности замеса. Для получения стандартной консистенции теста количество воды на замес тестовых полуфабрикатов с пищевой комплексной добавкой в концентрациях 10 и 22 % к массе мучной смеси следует снизить на 0,51 и 0,17 % соответственно от расчетного количества воды. Продолжительность замеса тестовых полуфабрикатов с пищевой комплексной добавкой в концентрациях 10, 16 и 22 % к массе мучных смесей должна составлять 2,08, 2,07 и 1,55 мин соответственно.

Целесообразно продолжить дальнейшие исследования в направлении изучения влияния пищевой комплексной добавки на газообразующую и газоудерживающую способности, а также на структурно-механические свойства тестовых полуфабрикатов в процессе брожения и расстойки.

**Критерии авторства**

А. В. Маслов – аналитический обзор литературных источников, проведение экспериментальных исследований, анализ экспериментальных данных, корректировка рукописи. З. Ш. Мингалеева и Т. А. Ямашев – администрирование и разработка концепции исследования, корректировка рукописи. Н. Ф. Шибаева – проведение экспериментальных исследований.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности**

Выражаем благодарность ООО «Брабендер» за возможность проведение исследований на приборе Farinograph-AT.

**Contribution**

A.V. Maslov reviewed research publications, performed the experimental research, analyzed the experimental data, and proofread the manuscript. Z.Sh. Mingaleeva and T.A. Yamashev developed the research concept and corrected the manuscript. N.F. Shibaeva performed the experimental studies.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Acknowledgements**

The authors express their deepest gratitude to Brabender LLC for lending their Farinograph-AT device.

**References/Список литературы**

1. Savelyeva EV, Zinurova EE, Mingaleeva ZSh, Maslov AV, Starovoitova OV, Borisova SV, *et al.* The study of the possibility of using the additive of plant origin for improvement the quality of yeast and wheat bread. Journal of Environmental Treatment Techniques. 2019;7:1036–1040.

2. Dubkova NZ, Kharkov VV, Vakhitov MR. Using Jerusalem artichoke powder in functional food production. Foods and Raw Materials. 2021;9(1):69–78. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-69-78

3. Yamashev TA, Gematdinova VM, Kanarsky AV. The effect of oat beta-glucan isolate on the rheology of dough from premium wheat flour and the quality of bakery products. Processes and Food Production Equipment. 2020;44(2):62–75. (In Russ.). https://doi.org/10.17586/2310-1164-2020-10-2-62-75

4. Abedi E, Pourmohammadi K. The effect of redox agents on conformation and structure characterization of gluten protein: An extensive review. Food Science and Nutrition. 2020;8(12):6301–6319. https://doi.org/10.1002/fsn3.1937

5. Biesiekierski JR. What is gluten? Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2017;32:78–81. https://doi.org/10.1111/jgh.13703

6. Liu N, Ma S, Li L, Wang X. Study on the effect of wheat bran dietary fiber on the rheological properties of dough. Grain and Oil Science and Technology. 2019;2(1):1–5. https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.04.005

7. Krekora M, Szymańska-Chargot M, Niewiadomski Z, Miś A, Nawrocka A. Effect of cinnamic acid and its derivatives on structure of gluten proteins – A study on model dough with application of FT-Raman spectroscopy. Food Hydrocolloids. 2020;107. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105935

8. Sahin M, Akcacik AG, Aydogan S, Hamzaoglu S, Demir B. Evaluation of grain yield, some quality traits and farinograph parameters in bread wheat genotypes grown in irrigated and rainfed. Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences. 2019;7(3):119–123. https://doi.org/10.22194/JGIASS/7.867

9. Akbar QA, Arif S, Yousaf S, Khurshid S, Sahar N. Effects of flour particle size on farinographic properties of wheat dough. Sarhad Journal of Agriculture. 2020;36(4):1136–1140. https://doi.org/10.17582/journal.sja/2020/36.4.1136.1140

10. Paula T, Gheorghe V, Gabriel-Alexandru C, Elena-Madalina S, Mariana-Gabriela M, Vasilica S. Aspects regarding the representation of farinographic curve to assess wheat flour dough by mathematical equations. INMATEH-Agricultural Engineering. 2021;64(2):385–392.

11. Onyango C, Luvitaa SK, Lagat K, K'osambo L. Impact of carrageenan copolymers from two red seaweed varieties on dough and bread quality. Journal of Applied Phycology. 2021;33(5):3347–3356. https://doi.org/10.1007/s10811-021-02524-x

12. Migliori M, Correra S. Modelling of dough formation process and structure evolution during farinograph test. International Journal of Food Science and Technology. 2013;48(1):121–127. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03167.x

13. Miś A, Nawrocka A, Dziki D. Behaviour of dietary fibre supplements during bread dough development evaluated using novel farinograph curve analysis. Food and Bioprocess Technology. 2017;10(6):1031–1041. https://doi.org/10.1007/s11947-017-1881-8

14. Stojceska V, Butler F. Digitization of farinogram plots and estimation of mixing stability. Journal of Cereal Science. 2008;48(3):729–733. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.04.001

15. Nie Y, Zhang P, Deng C, Xu L, Yu M, Yang W, *et al.* Effects of *Pleurotus eryngii* (mushroom) powder and soluble polysaccharide addition on the rheological and microstructural properties of dough. Food Science and Nutrition. 2019;7(6):2113–2122. https://doi.org/10.1002/fsn3.1054

16. Lachowicz S, Świeca M, Pejcz E. Biological activity, phytochemical parameters, and potential bioaccessibility of wheat bread enriched with powder and microcapsules made from Saskatoon berry. Food Chemistry. 2021;338. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128026

17. Biel W, Jaroszewska A, Stankowski S, Sobolewska M, Kępińska-Pacelik J. Comparison of yield, chemical composition and farinograph properties of common and ancient wheat grains. European Food Research and Technology. 2021;247(6):1525–1538. https://doi.org/10.1007/s00217-021-03729-7

18. Hassoon WH, Dziki D, Miś A, Biernacka B. Wheat grinding process with low moisture content: A new approach for wholemeal flour production. Processes. 2021;9(1). https://doi.org/10.3390/pr9010032

19. Istrate AM, Stroe SG, Gontariu I, Codină GG. Mixing and pasting characteristics of the pumpkin seeds-wheat flour blends. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies. 2020;24(2):112–116.

20. Majeed M, Khan MU, Owaid MN, Khan MR, Shariati MA, Igor P, *et al.* Development of oyster mushroom powder and its effects on physicochemical and rheological properties of bakery products. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2021;6(5):1221–1227. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.5.1221-1227

21. Maslov AV, Biktagirova AI, Agzamova LI, Mingaleeva ZSh. Method application of generalized reduced gradient and fractional factor experiment in the composition optimization of the complex food additive for bread of increased nutritional value. Food Industry. 2021;6(3):5–14. (In Russ.). https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-3-1

22. Dubkova N, Kharkov V, Ziganshin B. Effect of mode amplitude on power consumption in vibrating mixer. Lecture Notes in Mechanical Engineering. 2021;362–369. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54817-9_42

23. Maeda T, Kokawa M, Nango N, Miura M, Araki T, Yamada M, *et al.* Development of a quantification method of the gluten matrix in bread dough by fluorescence microscopy and image analysis. Food and Bioprocess Technology. 2015;6(8):1349–1354. https://doi.org/10.1007/s11947-015-1497-9

24. Lefebvre J, Mahmoudi N. The pattern of the linear viscoelastic behaviour of wheat flour dough as delineated from the effects of water content and high molecular weight glutenin subunits composition. Journal of Cereal Science. 2007;45(1):49–58. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.06.005

25. Hammed AM, Ozsisli B, Ohm J-B, Simsek S. Relationship between solvent retention capacity and protein molecular weight distribution, quality characteristics, and breadmaking functionality of hard red spring wheat flour. Cereal Chemistry. 2015;92(5):466–474. https://doi.org/10.1094/CCHEM-12-14-0262-R

26. Chareonthaikij P, Uan-On T, Prinyawiwatkul W. Effects of pineapple pomace fibre on physicochemical properties of composite flour and dough, and consumer acceptance of fibre-enriched wheat bread. International Journal of Food Science and Technology. 2016;51(5):1120–1129. https://doi.org/10.1111/ijfs.13072

27. Rosa NN, Barron C, Gaiani C, Dufour C, Micard V. Ultra-fine grinding increases the antioxidant capacity of wheat bran. Journal of Cereal Science. 2013;57(1):84–90. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.10.002

28. Khadiulin R. Reading farinograms in flour parameter studies. Confectionery and Bakery Products. 2019;182(7–8):20–25. (In Russ.). [Хадиулин Р. Практикум по чтению фаринограмм при исследовании параметров муки // Кондитерское и хлебопекарное производство. 2019. Т. 182. № 7–8. С. 20–25.].

29. Zaidul IS, Abd Karim A, Manan DMA, Ariffin A, Nik Norulaini NA, Mohd Omar AK. A farinograph study on the viscoelastic properties of sago/wheat flour dough systems. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2004;84(7):616–622. https://doi.org/10.1002/jsfa.1713

30. Lee L, Ng PKW, Whallon JH, Steffe JF. Relationship between rheological properties and microstructural characteristics of nondeveloped, partially developed, and developed doughs. Cereal Chemistry. 2001;78(4):447–452. https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.4.447

31. Mejía-Morales C, Rodríguez-Macías R, Salcedo-Pérez E, Zamora-Natera JF, Rodríguez-Zaragoza FA, Molina-Torres J, *et al.* Contrasting metabolic fingerprints and seed protein profiles of *Cucurbita foetidissima* and C. *radicans* fruits from feral plants sampled in central Mexico. Plants. 2021;10(11). https://doi.org/10.3390/plants10112451

32. Majesty D, Ijeoma E, Winner K, Prince O. Nutritional, anti-nutritional and biochemical studies on the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. EC Nutrition. 2019;14(1):36–59.

33. Cornet SHV, Bühler JM, Gonçalves R, Bruins ME, van der Sman RGM, van der Goot AJ. Apparent universality of leguminous proteins in swelling and fibre formation when mixed with gluten. Food Hydrocolloids. 2021;120. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106788

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2379
https://elibrary.ru/XIKMOP

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Phase Transitions of Sweetened Condensed Milk in Extended Storage Temperature Ranges

**Anastasia E. Ryabova*, Vladislav A. Tolmachev, Aram G. Galstyan**

*All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia*

*Received: 31.05.2022*
*Revised: 20.06.2022*
*Accepted: 05.07.2022*

**Anastasia E. Ryabova: a_ryabova@vnimi.org, https://orcid.org/0000-0002-5712-2020*
*Vladislav A. Tolmachev: https://orcid.org/0000-0001-5967-063X*
*Aram G. Galstyan: https://orcid.org/0000-0002-0786-2055*

*© A.E. Ryabova, V.A. Tolmachev, A.G. Galstyan, 2022*

**Abstract.**
Sweetened condensed milk is a popular food in various climatic zones, including those regions where average winter temperature falls below –30°C. Such low temperatures can trigger crystallization because they disrupt the native structure of biopolymers. These processes spoil the quality of sweetened condensed milk. However, no scientific publications feature the cryoscopic temperature of sweet condensed milk or systematize the data on its low-temperature storage.
Sugar, sugar-milk, and milk solutions of various concentrations were frozen to determine their cryoscopic temperature by the thermographic method using a Testo 176T4 meter (Germany) with K-type probes (NiCr-Ni) at –78.5°C. The phase transitions were studied using a Mettler Toledo DCS 822e DSC analyzer.
The nucleation temperature, the cryoscopic temperature, and the subcooling degree depended on the concentration and the type of the solute. For sugar solutions, the cryoscopic temperature varied from –0.4 ± 0.1 to –6.4 ± 0.1°C; for sugar-milk solutions, it ranged from –2.1 ± 0.1 to –10.9 ± 0.1°C; for whole milk solutions, it was from –0.4 ± 0.1 to –4.6 ± 0.1°C. The thermographic method failed to obtain the phase transition and the cryoscopic temperature in analogue models of sweetened condensed milk. The loss of fluidity was about –30°C when the storage time exceeded 2 h. This effect was comparable to 54 min of storage at –35°C. The differential scanning calorimetry method showed that the phase transition occurred at –80°C.
This research opens new prospects for differential scanning calorimetry studies of phase transitions in condensed sweetened dairy products.

**Keywords.** Sweetened condensed milk, cryoscopic temperature, freezing, loss of fluidity, storage

**For citation:** Ryabova AE, Tolmachev VA, Galstyan AG. Phase Transitions of Sweetened Condensed Milk in Extended Storage Temperature Ranges. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):526–535. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2379

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2379
https://elibrary.ru/XIKMOP

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Фазовые переходы сгущенного молока с сахаром в расширенных температурных диапазонах хранения

**А. Е. Рябова*, В. А. Толмачев, А. Г. Галстян**

*Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия*

*Поступила в редакцию: 31.05.2022*
*Принята после рецензирования: 20.06.2022*
*Принята к публикации: 05.07.2022*

**А. Е. Рябова: a_ryabova@vnimi.org, https://orcid.org/0000-0002-5712-2020*
*В. А. Толмачев: https://orcid.org/0000-0001-5967-063X*
*А. Г. Галстян: https://orcid.org/0000-0002-0786-2055*

*© А. Е. Рябова, В. А. Толмачев, А. Г. Галстян, 2022*

**Аннотация.**
Сгущенные молочные консервы с сахаром пользуются спросом у потребителей в различных климатических поясах, в том числе в регионах со среднегодовой температурой зимой более –30 °C. Хранение при отрицательных температурах может оказывать негативное влияние на качественные показатели продукта, что связано с процессами кристаллизации и нарушения нативной структуры биополимеров. Однако современные систематизированные данные о процессах в области низкотемпературного хранения, а также криоскопической температуры сгущенного молока с сахаром практически отсутствуют.
Объектами исследования являлись сахарные, сахарно-молочные и молочные растворы различной концентрации. Их замораживали и определяли криоскопическую температуру термографическим способом с применением измерителя Testo 176T4 с зондами K-типа (NiCr-Ni) при температуре охлаждения до –78,5 °C. Фазовые переходы в сгущенном молоке с сахаром исследовали с применением дифференциальной сканирующей калориметрии анализатора Mettler Toledo DCS 822e.
Установлено, что температуры нуклеации, криоскопическая температура и степень переохлаждения зависели от концентрации и вида растворимого вещества. Криоскопическая температура составила для сахарных растворов с различной массовой долей сухих веществ от –0,4 ± 0,1 до –6,4 ± 0,1 °C, для сахарно-молочных растворов – от –2,1 ± 0,1 до –10,9 ± 0,1 °C, для растворов цельного молока – от –0,4 ± 0,1 до –4,6 ± 0,1 °C. В моделях-аналогах сгущенного молока с сахаром зафиксировать фазовый переход и определить криоскопическую температуру термографическим методом не удалось. Однако установлено, что потеря текучести моделей-аналогов ориентировочно фиксируется при температуре –30 °C и хранении более 2-х часов. Данный эффект был сопоставим с хранением на протяжение 54 мин при температуре –35 °C. Исследования сгущенного молока с сахаром методом дифференциальной сканирующей калориметрии показали, что фазовый переход наступает при температуре около –80 °C.
Созданы предпосылки для глубокого исследования фазовых переходов в сгущенных молочных продуктах с сахаром с применением дифференциальной сканирующей калориметрии.

**Ключевые слова.** Сгущенное молоко, криоскопическая температура, замораживание, текучесть, хранение

**Для цитирования:** Рябова А. Е., Толмачев В. А., Галстян А. Г. Фазовые переходы сгущенного молока с сахаром в расширенных температурных диапазонах хранения // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 526–535. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2379

## Introduction

Sweetened condensed milk is a strategic high-energy food product because it is rich in milk and sucrose [1–6]. It is especially popular in the Business-to-Consumer segment and highly applicable in the daily diet. Its use patterns in the industrial sector are also extremely diversified, the main consumers being the confectionery industry and the ice-cream production [7–13]. Sweetened condensed milk has a high nutritional value and a long shelf life, which explains why this product has become an integral part of the state food reserve, humanitarian aid, dry rations, etc. [4, 7, 11]. Regions with no dairy farming of their own are stable consumers of sweetened condensed milk. The indigenous peoples of the Russian Arctic are known to depend on sweetened condensed milk because they have to eat a lot of high-carbohydrate foods [6]. The air temperature in the region can fall much below –40°C. As a result, consumers cannot but violate

Table 1. Formulation of sugar-milk solutions

Таблица 1. Рецептурный состав сахарно-молочных растворов

| Component | Variants of solution models | | | |
|---|---|---|---|---|
| Sucrose solution | | | | |
| | A1 | A2 | A3 | A4 |
| Sugar, g | 15.0 | 30.0 | 45.0 | 68.0 |
| Distilled water, g | 85.0 | 70.0 | 55.0 | 32.0 |
| Sugar-milk solution | | | | |
| | B1 | B2 | B3 | B4 |
| Whole milk powder, g | 28,5 | | | |
| Distilled water, g | 85.0 | 70.0 | 55.0 | 32.0 |
| Sugar, g | 15.0 | 30.0 | 45.0 | 68.0 |
| Solids, % | 33.9 | 45.5 | 57.2 | 75.1 |
| Whole milk solution | | | | |
| | C1 | C2 | C3 | C4 |
| Whole milk powder, g | 12.5 | 25.0 | 37.5 | 50.0 |
| Distilled water, g | 87.5 | 75.0 | 62.5 | 50.0 |

the recommended storage conditions of 0–10°C. However, industry experts put stress on the universality of the use of sweetened dairy products, regardless of climatic conditions and geographical location, which explains the relevance of research on their low-temperature storage.

Our review of scientific and technical publications revealed no systematic data on the freezing point of sweetened condensed milk and its subsequent storage at freezing temperatures [14–19]. The only publication that mentioned low-temperature storage of condensed milk was that by Pavlova, where the cryoscopic temperature of fresh sweetened condensed milk ranged from –26 to –29°C [14]. When the product reaches the cryoscopic temperature, moisture begins to crystallize. The resulting crystals of various shapes can trigger the abiogenic degradation of macrocomponents, which implies a decrease in storage stability [20–23]. Low storage temperature also reduces the rate of biochemical reactions.

In theory, the freezing process for simple solutions means that the stability of one phase ends at a certain point that corresponds to a particular set of system variables. In practice, point phase transitions are abstractions that imply infinite ideal and defect-free systems [24]. In real systems, they are *a priori* blurred. The diffusion dilemma consists in determining the range of characteristic values. In some cases, this diffusion can be so weak that the point phase transition stops being an abstraction. In other cases, the phase transition can be so blurred that its limits are impossible to determine. Therefore, no boundary exists between phase transitions of the first and second levels. For instance, point phase transition can be determined for the system of water – extra pure sucrose but not for the system of water – food grade sucrose – milk powder, for which the probability of a point phase transition vanishes as the concentration of the components increases.

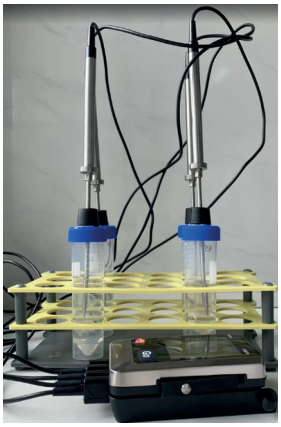


Figure 1. Experimental stand for determining the cryoscopic temperature

Рисунок 1. Экспериментальный стенд для определения криоскопической температуры

The present research objective was to analyze the change in the aggregate state of analogue models of sweetened condensed milk in the temperature range from +20 to –50°C and to determine its cryoscopic temperature.

**Study objects and methods**

The research was conducted at the Laboratory of Canned Dairy Products of the All-Russian Dairy Research Institute.

The study featured sugar, sugar-milk, and milk solutions of various concentrations, whole milk powder,

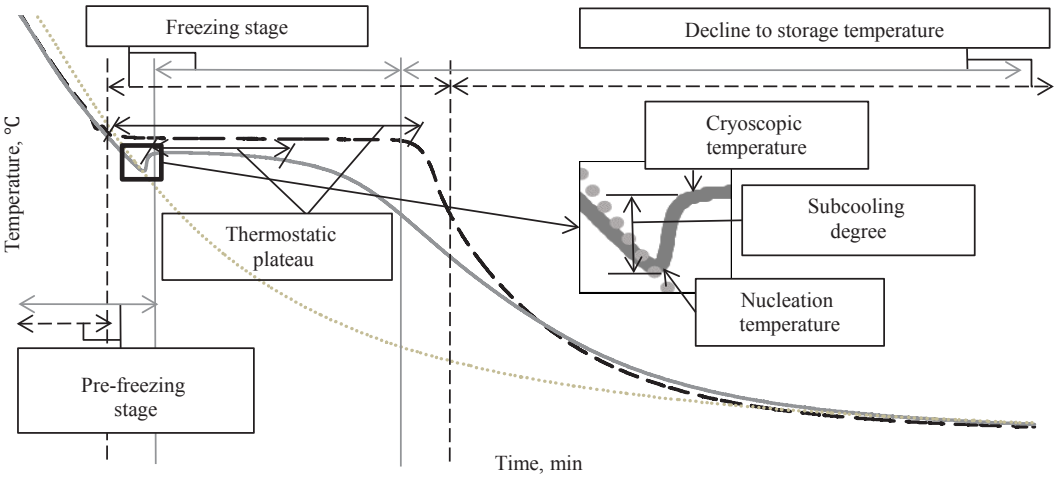



Figure 2. Freezing process

Рисунок 2. Схематическое представление процесса замораживания

and commercial samples of sweetened condensed milk (State Standard 31688).

The sugar solutions had a concentration of 15, 30, 45, and 68%, while the milk solutions had a concentration of 12.5, 25, 37.5, and 50%. They were prepared by dissolving a certain mass of sucrose and whole milk powder in a given amount of water at 25 and 40°C, respectively. The calculations ignored the moisture content in the powder.

To assess the effect of the milk solid concentration on freezing and defrosting, the sugar-milk solutions were obtained by restoring the whole milk powder at 40°C for 20 min, followed by adding sugar according to State Standard 33222-2015 (Table 1). The whole milk powder was produced according to State Standard 33629-2015: 96.46% solids, 26% fat, 26% protein, solubility index = 0.1 mL of crude residue. The low saturation of the solution was maintained by the controlled mixing rate of 27 $min^{-1}$ during the dissolution process.

All the solution samples weighed 35 g. They were poured into plastic flasks and sealed hermetically with lids with integrated temperature probes (Fig. 1).

The solutions were frozen in a low-temperature laboratory freezer Vestfrort VT 327 (Denmark) at –50 ± 1°C. Solid carbon dioxide in thermally insulated containers made it possible to obtain temperatures as low as –78.5 ± 0.5°C. The temperature was recorded every second using a combined Testo 176T4 meter (Germany). The device had four waterproof food probes made of K-type stainless steel (NiCr-Ni) with boundary values from –60 to –400°C. The samples were stored at the specified temperature. After they were taken out of the freezer, they thawed at 22 ± 1°C. Instrument readings and data export to Microsoft Excel for analysis and visualization were processed using the Testo-ComSoft Basic software.

The cryoscopic temperature was determined thermographically based the temperature curve plateau [25].

The fluidity of sweetened condensed milk analogue models was determined by freezing, followed by retrievability and visual assessment of the probes at –25 ... –50°C under refrigerator conditions.

The thawing kinetics of the analogue models was studied using a DSC822e Mettler Toledo differential scanning calorimeter under conditions of dynamic heating at a constant rate (https://www.mt.com). The results were processed using the STAR$^{e}$ software.

**Results and discussion**

We divided the freezing process into three successive stages to ensure the terminological uniformity (Fig. 2):

– pre-freezing stage: the period of time between the start of freezing and the cryoscopic temperature (freezing point). At this stage, the system is supercooled to the nucleation temperature to trigger the nucleation of ice crystals. The release of latent crystallization heat corresponds to the start of the thermostatic plateau;

– freezing stage: the temperature at the considered area of the product is almost constant because the heat removal makes a large amount of water turn into ice, i.e., phase transformation;

– decline to storage temperature: most of the water has frozen, and the temperature decreases to the required end temperature [26].

At the first stage, we determined how the time of rational low-temperature storage of solutions affected their aggregation state. The main criterion for determining the exposure time in the dynamic temperature – time – concentration system was to register all the stages of the freezing process. Figure 3 shows the data for sugar

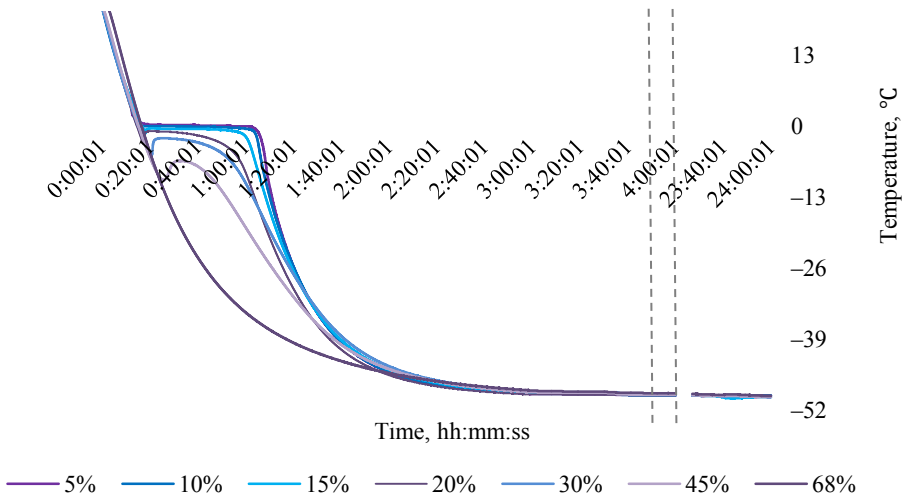



Figure 3. Thermograms of sugar solutions at various concentrations

Рисунок 3. Термограммы сахарных растворов различной концентрации

Table 2. Moisture crystallization criteria in sugar, sugar-milk, and milk solutions.

Таблица 2. Критерии кристаллизации влаги в сахарных, сахарно-молочных и молочных растворах

| Variants of solution models | Indicator | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Nucleation temperature, °C | Cryoscopic temperature, °C | Subcooling degree | Freezing time, s | Point phase transition, s |
| A1 | –1.4 ± 0.1 | –0.4 ± 0.1 | 1.0 | 2827 | 2922 |
| A2 | –5.3 ± 0.1 | –2.2 ± 0.1 | 3.0 | 2308 | 2500 |
| A3 | –9.9 ± 0.1 | –6.4 ± 0.1 | 3.5 | 1570 | 1885 |
| A4 | – | – | – | – | – |
| B1 | –2.1 ± 0.1 | –2.1 ± 0.1 | 0 | 2224 | 2224 |
| B2 | –5.0 ± 0.1 | –5.0 ± 0.1 | 0.9 | 1579 | 1927 |
| B3 | –10.9 ± 0.1 | –10.9 ± 0.1 | 1.3 | 1276 | 1635 |
| B4 | – | – | – | – | – |
| C1 | –0.4 ± 0.1 | –0.4 ± 0.1 | 0 | 2730 | 2730 |
| C2 | –1.2 ± 0.1 | –1.2 ± 0.1 | 0 | 2850 | 2850 |
| C3 | –2.6 ± 0.1 | –2.6 ± 0.1 | 0 | 2280 | 2280 |
| C4 | –4.6 ± 0.1 | –4.6 ± 0.1 | 0 | 1740 | 1740 |

solutions. Milk and sugar-milk solutions underwent the same procedure.

The onset of moisture crystallization process correlated with the temperature of the system: for 5% sucrose, the crystallization temperature was 0°C; for 45% sucrose, it was –9.9°C. Also, it was inversely dependent on the concentration of solids. The crystallization time decreased in proportion to the concentration of sucrose: for 5% sucrose, it was 39 min 14 s; for 45% sucrose, it lasted 6 min 40 s. However, no change in the aggregate state of the system was recorded as the sucrose concentration reached 68%. This effect was probably associated with the concentration features of the system, or inability to reach the critical temperature at which the phase transition occurs. Thus, it took the system four hours to stabilize completely and for the temperature of the solutions to reach that of the external environment.

Table 2 shows the values of the obtained criteria that describe the process of freezing sugar, sugar-milk, and milk solutions.

Models A4 and B4 were analogues of sweetened condensed milk with sugar. They demonstrated no liquid-solid phase transition. However, a visual inspection revealed a change in the transparency of the solutions. All the samples had a firm texture, typical of frozen foods. The nucleation temperature, the cryoscopic temperature, and the subcooling degree directly depended on the concentration and the type of the solute. The dairy component had a strong impact on these indicators. The freezing time and the phase transition period declined as the concentration increased.

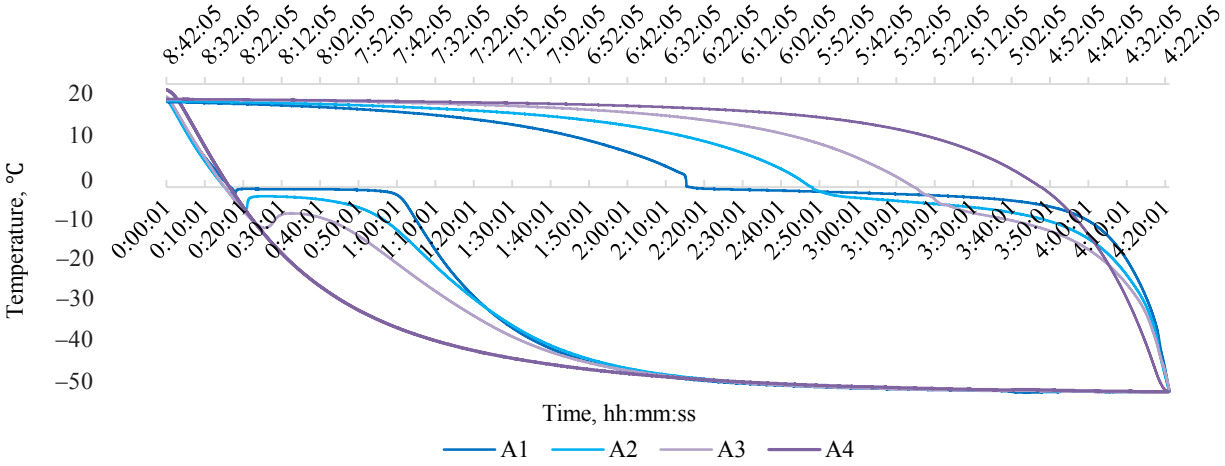



Figure 4. Freezing and defrosting curves for sugar solutions at various concentrations

Рисунок 4. Типовые кривые замерзания и размораживания сахарных растворов различной концентрации

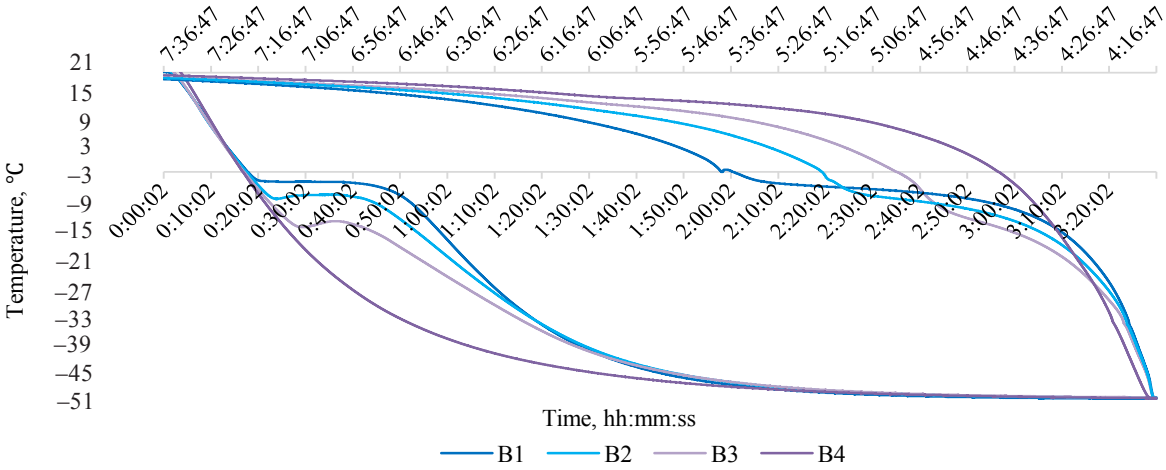



Figure 5. Freezing and defrosting curves for sugar solutions at various concentrations

Рисунок 5. Типовые кривые замерзания и размораживания сахарно-молочных растворов различной

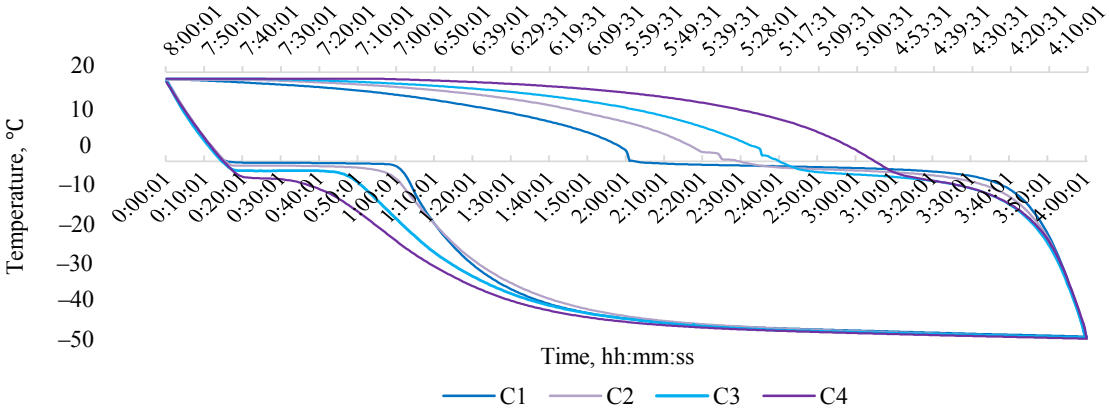



Figure 6. Freezing and defrosting curves for milk solutions at various concentrations

Рисунок 6. Типовые кривые замерзания и размораживания молочных растворов различной концентрации

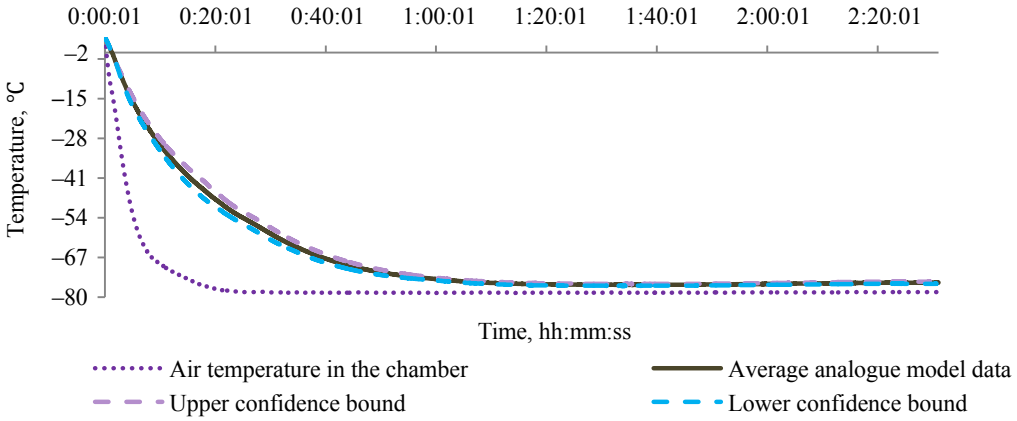



Figure 7. Thermograms of analogue models of sweetened condensed milk frozen with solid carbon dioxide

Рисунок 7. Термограммы моделей-аналогов сгущенного молока с сахаром при замораживании твердым диоксидом углерода

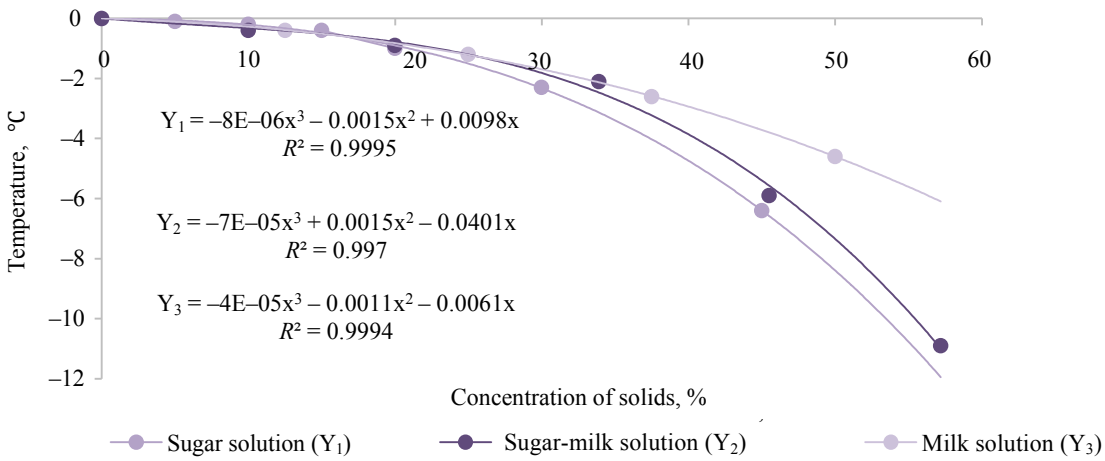



Figure 8. Effect of concentration on cryoscopic temperature

Рисунок 8. Зависимость изменения криоскопической температуры от концентрации растворов

Figures 3, 4, and 5 visualize the typical freezing and defrosting curves for sugar, sugar-milk, and milk solutions, respectively. As the graphs show, when milk was introduced into the system, it reduced the water crystallization time, like in sugar solutions. The defrosting data were particularly remarkable. The phase transition time during defrosting was 2–2.5 times longer than during freezing. The defrosting time decreased after the milk component was introduced into the system, which resulted in a smoother phase transition. Thus, the milk component shortened the freezing/defrosting time. Probably, this phenomenon could be explained by the extra moisture-binding agents that entered the system, i.e., powdered milk components and, in particular, protein. Models A4 and B4 had a much faster defrosting rate.

As the previous stage revealed no phase transition, additional studies had to be performed. Solid carbon dioxide with a temperature of –78.5°C served as a refrigerant. However, this experiment also demonstrated no thermostatic plateaus typical for phase transitions (Fig. 7). The obtained results did not correspond to the data published by Pavlova in [14]. However, the multiple repetition of the experiment and the convergence of the values obtained made it possible to limit the scope of possible causal relationships to several options:

1. The rate of phase transition in this temperature range is less than one second. This value corresponds to the technical parameters of signal recorded by the device;

2. The technical parameters of the probes generate errors at the temperature range from –60 to –78.5°C;

3. Phase transitions occur at lower temperatures in complex polycomponent systems;

4. Diffusion dilemma.

a b c

Figure 9. Loss of fluidity after 54 min: a – at –30°C, b – at –32.5°C, c – at –35°C

Рисунок 9. Визуализация потери текучести исследуемых образцов моделей аналогов сгущенного молока с сахаром при хранении в течение 54 мин: a – при –30 °C; b – при –32,5 °C; c – при –35 °C

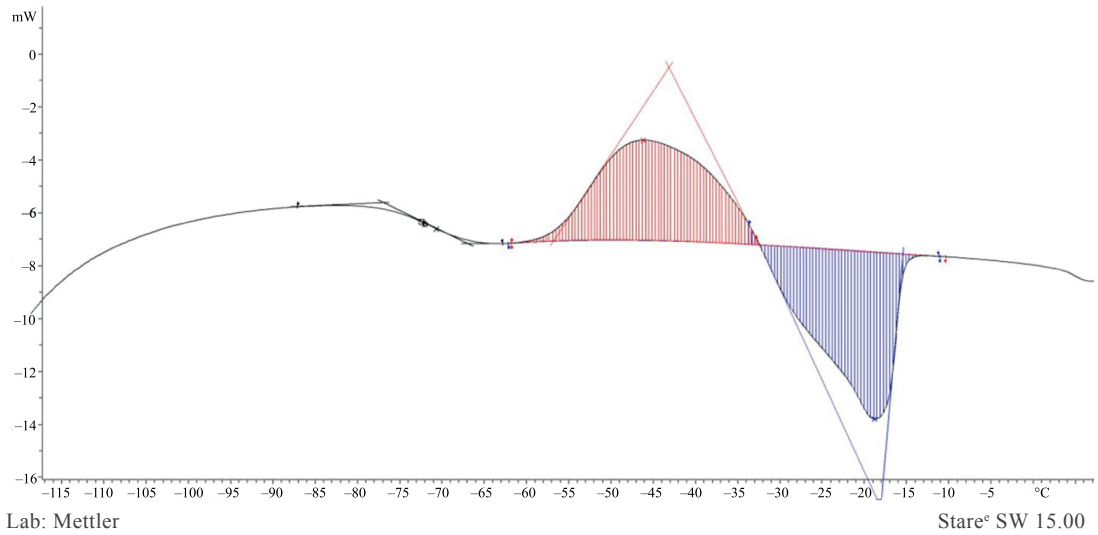



Figure 10. Differential scanning calorimetry of commercial sweetened condensed milk

Рисунок 10. Дифференциально сканирующая калориметрия промышленного образца сгущенного молока с сахаром

Figure 8 demonstrates the correlation between the effect of the concentration of solids on the dynamics of cryoscopic temperature in the solution. The dependences were non-linear, with three-power polynomials. Solutions with ≤ 20% solids showed no significant changes in the freezing point. Further increase in concentration led to significant changes related to the nature, concentration, and possible synergistic effects of the dissolved components.

Since the thermographic method failed to register the cryoscopic temperature of the analogue models, we decided to determine the temperature range when liquid turns solid. The loss of fluidity depended mostly on the ambient temperature and the storage time. At –30°C and ≥ 2 h of storage time, the effect was comparable to 54 min of storage at –35°C (Fig. 9). The appearance of crystal-like elements and the complete loss of fluidity under mechanical action were characteristic features of the structural change in the product. However, all samples thawed within a few minutes, regardless of temperature and storage time.

Figure 10 illustrates the differential scanning calorimetry of a commercial sweetened condensed milk (State Standard 3168). The solidification occurred at –82 ... –80°C. The pronounced crystallization and thawing peaks confirmed the heterogeneity of the system and the polycrystalline nature of the freezing process.

**Conclusion**

The research revealed some freezing/defrosting patterns of sugar, sugar-milk, and milk solutions, depending on the nature and concentration of the components dissolved. The cryoscopic temperature decreased following the increase in the concentration of solids. In sugar and sugar-milk systems, the freezing time and the phase transition period decreased as the concentration characteristics of the system increased. In whole milk solutions, the freezing time and phase

transition increased as the concentration rose from 12.5 to 25%. With a further increase in concentration, they decreased, which was probably due to the multicomponent composition of the system and the heat of crystallization. In sweetened condensed milk, the loss of fluidity occurred at –30°C if the storage time exceeded 2 h. This result was comparable to a 54-min storage at –35°C. The methods employed failed to establish the phase transitions in analogue models of sweetened condensed milk. The research created prerequisites for a more profound differential scanning calorimetry of phase transitions in sweetened condensed dairy products.

**Contribution**

A.G. Galstyan and A.E. Ryabova developed the research concept and conducted a formal analysis. A.G. Galstyan developed the methodology and edited the manuscript. A.E. Ryabova and V.A. Tolmachev conducted the experiment and visualized the data. A.E. Ryabova drafted the manuscript. All the authors were involved in the study and agreed on the final version of the manuscript.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this manuscript.

**Критерии авторства**

А. Г. Галстян и А. Е. Рябова разработали концепцию исследования и провели формальный анализ. А. Г. Галстян разработал методологию, рассмотрел и отредактировал рукопись. А. Е. Рябова и В. А. Толмачев провели эксперимент и визуализировали данные. А. Е. Рябова подготовила черновик рукописи. Все авторы были привлечены к исследованию, а также ознакомились и согласились с окончательным вариантом рукописи.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**References**

1. Galstyan AG, Petrov AN, Radaeva IA, Turovskaya SN, Chervetsov VV, Illarionova EE, *et al.* Theory and practice of dairy canning. Moscow: Izdatel′skiy dom Fedotov D.A.; 2016. 181 p. (In Russ.). [Теория и практика молочно-консервного производства / А. Г. Галстян [и др.]. М.: Издательский дом «Федотов Д. А.», 2016. 181 с.].

2. Muzykantova AV, Gnezdilova AI, Vinogradova YuV, Shevchuk VB. Concentrated dairy product with sugar with increased biological value. Dairy Industry. 2021;(7):46–47. (In Russ.). https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-07-46-47

3. Guseva TB, Karanian OM, Kulikov TS, Radaeva IA. Scientific and practical aspects of increasing the shelf life of canned milk. Food Products Commodity Expert. 2019;(11):52–56. (In Russ.). [Научные и практические аспекты увеличения срока годности молочных консервов / Т. Б. Гусева [и др.] // Товаровед продовольственных товаров. 2019. № 11. С. 52–56.].

4. Jafari S, Jouki M, Soltani M. Modification of physicochemical, structural, rheological, and organoleptic properties of sweetened condensed milk by maltodextrin, fructose, and lactose. Journal of Food Measurement and Characterization. 2021;15(4):3800–3810. https://doi.org/10.1007/s11694-021-00976-w

5. Hasan SM, Ullah S, Umer M, Shah MK, Zaman A, Hussain I, *et al.* An-overview on buffalo condensed milk and its products with emphasis of their biochemical properties. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research Series B: Biological Sciences. 2021;64(3):301–306. https://doi.org/10.52763/PJSIR.BIOL.SCI.64.3.2021.301.306

6. Andronov S, Lobanov A, Popov A, Luo Y, Shaduyko O, Fesyun A, *et al.* Changing diets and traditional lifestyle of Siberian Arctic Indigenous Peoples and effects on health and well-being. Ambio. 2021;50(11):2060–2071. https://doi.org/10.1007/s13280-020-01387-9

7. Illarionova EE, Turovskaya SN, Radaeva IA. To the question of increasing of canned milk storage life. Relevant Issues of the Dairy Industry, Intersectoral Technologies, and Quality Management Systems. 2020;1(1):225–230. (In Russ.). https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-225-230

8. Jouki M, Jafari S, Jouki A, Khazaei N. Characterization of functional sweetened condensed milk formulated with flavoring and sugar substitute. Food Science and Nutrition. 2021;9(9):5119–5130. https://doi.org/10.1002/fsn3.2477

9. Rawendra RDS, Puspita VO. Use of Six sigma methods to reduce packaging defect in sweetened condensed milk sachets: A case study in XYZ milk industry, Indonesia. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020;426(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/426/1/012174

10. Demina EN, Berezina NA, Kazakov AV. Optimization of the formulation of ice cream by the method of simplex-lattice planning. Storage and Processing of Farm Products. 2021;(1):104–116. (In Russ.). https://doi.org/10.36107/spfp.2021.192

11. Turovskaja S, Illarionova E, Radaeva I, Galstyan A. Improving the regulatory framework for the production and circulation of canned milk. Production Quality Control. 2018;(1):28–33. (In Russ.). [Совершенствование нормативной базы производства и обращения молочных консервов / С. Н. Туровская [и др.] // Контроль качества продукции. 2018. №. 1. С. 28–33.].

12. Golovan DS, Berseneva A, Belova MP, Chernega OP. Expansion of the range of confectionery products enriched with vegetable components. Bulletin of Youth Science. 2021;28(1). https://doi.org/10.46845/2541-8254-2021-1(28)-11-11

13. Voronina MS, Gulyaeva AN, Nisteryuk DI, Shlyapnikova EN. Formulation development and analysis of the properties of ice cream with the addition of beer. Polzunovskiy Vestnik. 2022;(1):67–72. (In Russ.). https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2022.01.009

14. Artyukhova SI, Kozlova OV, Tolstoguzova TT. Developing freeze-dried bioproducts for the Russian military in the Arctic. Foods and Raw Materials. 2019;7(1):202–209. http://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-1-202-209

15. Pavlova YuV. Long-term storage of sweet condensed milk at low temperatures. Cand. eng. sci. abstract diss. Moscow, 1991. 21 p. (In Russa.). [Павлова Ю. В. Длительное хранение сгущенного молока с сахаром при отрицательных температурах: автореф. дис. … канд. техн. наук: 05.18.15. М., 1991. 21 с.].

16. Turovskaya SN, Galstyan AG, Radaeva IA, Illarionova EE. Effect of freezing on the quality of defrosted condensed raw milk. Milk Processing. 2018;221(3):28–29. (In Russ.). [Влияние замораживания на качество дефростированного сгущенного молока-сырья / С. Н. Туровская [и др.] // Переработка молока. 2018. Т. 221. № 3. С. 28–29.].

17. Guryeva KB, Ivanova EV, Tyugay OA. Studying the effect of temperature parameters on the quality of canned milk – “whole condensed milk with sugar”. Food Products Commodity Expert. 2019;(7):55–61. (In Russ.). [Гурьева К. Б., Иванова Е. В., Тюгай О. А. Изучение влияния температурных параметров на качество молочных консервов «молоко цельное сгущенное с сахаром» // Товаровед продовольственных товаров. 2019. № 7. С. 55–61.].

18. Zavorokhina NV, Leontyeva NA. Research quality of the sweetened condensed milk at long storage. Storage and Processing of Farm Products. 2016;(2):22–24. (In Russ.). [Заворохина Н. В., Леонтьева Н. А. Исследование качества молока сгущенного с сахаром при длительном хранении // Хранение и переработка сельхозсырья. 2016. № 2. С. 22–24.].

19. Kruchinin AG, Illarionova EE, Bigaeva AV, Turovskaya SN. The role of dry milk technological properties in forming the quality of food systems. Bulletin of KSAU. 2020;161(8):166–173. (In Russ.). https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-8-166-173

20. Long-term storage in permafrost in the Russian Federation [Internet]. [cited 2022 May 13]. Available from: https://rosrezerv.gov.ru/Konsultativnij_sovet/Obmen_opitom/JEksperiment_po_dlitelnomu_hraneniju_v_v [Эксперимент по длительному хранению в вечной мерзлоте продолжается (Российская Федерация). URL: https://rosrezerv.gov.ru/Konsultativnij_sovet/Obmen_opitom/JEksperiment_po_dlitelnomu_hraneniju_v_v (дата обращения: 13.05.2022).].

21. James C, Hanser P, James SJ. Super-cooling phenomena in fruits, vegetables and seafoods. 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF 2011); 2011; Athens. Athens; 2011. p. 22–26.

22. Vizgalov SV, Mustafin TN, Ibraev AM. Fish freezing in chambers with intensive air circulation. Bulletin of the Technological University. 2010;(10):281–286. (In Russ.). [Визгалов С. В., Мустафин Т. Н., Ибраев А. М. Оценка времени замораживания рыбы в камерах с интенсивной циркуляцией воздуха // Вестник технологического университета. 2010. № 10. С. 281–286.].

23. James C, Seignemartin V, James SJ. The freezing and supercooling of garlic (*Allium sativum* L.). International Journal of Refrigeration. 2009;32(2):253–260. https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2008.05.012

24. Kharenko EN, Arkhipov LO, Yarichevskaya NN. Influence of cryoscopic temperature variability on water freezing. Trudy VNIRO. 2019;176:81–94. (In Russ.). [Харенко Е. Н., Архипов Л. О., Яричевская Н. Н. Установление функциональной зависимости количества вымороженной воды от индивидуальных криоскопических температур рыбы // Труды ВНИРО. 2019. Т. 176. С. 81–94.].

25. Bogdanov VD, Simdyankin AA. Thermal properties of commercial hydrobionts’ tissues in the freezing process. Foods and Raw Materials. 2019;7(2):247–254. http://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-247-254

26. Diffused phase transitions. Vol. 1. Riga, 1970. 115 p. (In Russ.). [Размытые фазовые переходы. Вып. 1. Рига, 1970. 115 с.].

27. James C, Lejay I, Tortosa N, Aizpurua X, James SJ. The effect of salt concentration on the freezing point of meat simulants. International Journal of Refrigeration. 2005;28(6):933–939. https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2005.01.011

28. International Institute of Refrigeration: Guidelines for frozen food production and storage. Refrigeration Technology. 2015;(9):58–59. (In Russ.). [Рекомендации Международного института холода по производству и хранению замороженных пищевых продуктов // Холодильная техника. 2015. № 9. С. 58–59.].

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2380
https://elibrary.ru/XIMZDR

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Разработка рецептур каш и крупяных продуктов для диетического профилактического питания

**С. А. Урубков*, А. А. Королёв, С. О. Смирнов**

*Научно-исследовательский институт пищеконцентратной промышленности и специальной пищевой технологии, Измайлово, Россия*

*Поступила в редакцию: 20.01.2022*
*Принята после рецензирования: 30.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

**С. А. Урубков: glen.vniiz@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-2292-8649*
*А. А. Королёв: https://orcid.org/0000-0002-7144-2522*
*С. О. Смирнов: https://orcid.org/0000-0002-8073-1238*

*© С. А. Урубков, А. А. Королёв, С. О. Смирнов, 2022*

**Аннотация.**
Обеспечение лиц пожилого возраста специализированной продукцией геронтологического профиля может улучшить самочувствие и повысить качество жизни. Цель работы – разработка специализированных пищевых продуктов с функциональными свойствами для пациентов пожилого и старческого возрастов с учетом особенностей обмена веществ. В качестве основных компонентов продуктов применяли сырье, имеющее низкий гликемический индекс, повышенное содержание белка и низкое содержание жиров и углеводов, – это чечевичная, гороховая и ячменная мука. В качестве источника йода использовали порошок ламинарии. Исследование содержания белков, жиров и углеводов проводили методом инфракрасной спектроскопии на анализаторе SpectraStar 2500. Определение витаминов, минеральных веществ и микроэлементов осуществляли с помощью классических и современных методов анализа.
Разработаны рецептуры каш и крупяных продуктов, предназначенных для лиц пожилого возраста, а также проведена органолептическая оценка готовых изделий. Получены данные по содержанию основных пищевых веществ в образцах каш и крупяных продуктах: белок от 20,96 до 24,33 г/100 г, жиры – от 3,36 до 3,49 г/100 г, углеводы – от 45,07 до 47,10 г/100 г, энергия – от 327 до 333 ккал/100 г продукции. Установлено, что порция готовой продукции (150 г) удовлетворяет рекомендуемую суточную потребность пожилого человека в белках на 18,0 %, жирах – 2,9 %, углеводах – 9,1 %, пищевых волокнах – 30,5 % и энергии – 9,13 %.
Разработанные продукты обладают высокой пищевой ценностью, повышенным содержанием белков и пищевых волокон, содержат витамины, микро- и макроэлементы, в том числе йод. Разработанные каши и крупяные продукты могут быть применены при разработке рационов питания для лиц пожилого возраста с учетом наличия коморбидной патологии.

**Ключевые слова.** Геродиетическое питание, растительный белок, диетические продукты, чечевица, горох, ламинария, йод

**Финансирование.** Научно-исследовательская работа проведена за счет субсидий на выполнение прикладных научных исследований в рамках темы № 0410-2020-0006 «Разработка технологии производства крупяных продуктов, обогащенных макро- и микронутриентами для лиц пожилого возраста».

**Для цитирования:** Урубков С. А., Королёв А. А., Смирнов С. О. Разработка рецептур каш и крупяных продуктов для диетического профилактического питания // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 536–544. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2380

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2380
https://elibrary.ru/XIMZDR

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Cereals and Cereal Products for Dietary Preventive Nutrition

**Sergey A. Urubkov*, Aleksei A. Korolev, Stanislav O. Smirnov**

*Scientific Research Institute of Food-concentrate Industry and Special Food Technology, Izmailovo, Russia*

*Received: 20.01.2022*
*Revised: 30.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

**Sergey A. Urubkov: glen.vniiz@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-2292-8649*
*Aleksei A. Korolev: https://orcid.org/0000-0002-7144-2522*
*Stanislav O. Smirnov: https://orcid.org/0000-0002-8073-1238*

*© S.A. Urubkov, A.A. Korolev, S.O. Smirnov, 2022*

**Abstract.**
Providing senior citizens with specialized gerontological products is one of the most important tasks of the contemporary food industry. The research objective was to develop targeted functional foods for elderly population based on the peculiarities of their metabolism.
The new products included raw materials with a low glycemic index and a high protein content but a low fat and carbohydrate content, e.g., lentil, pea, and barley flour. Kelp powder served as a source of iodine. The content of proteins, fats, and carbohydrates was studied by infrared spectroscopy using a Spectastar 2500 analyzer. Vitamins, minerals, and trace elements were measured by classical and modern analysis methods.
The research also included a sensory evaluation of the new cereals and cereal products. As for the basic nutrients, the protein content was 20.96–24.33 g/100 g, fat – 3.36–3.49 g/100 g, carbohydrates – 45.07–47.10 g/100 g, energy – 327–333 kcal/100 g. One portion (150 g) satisfied the recommended daily intake of proteins by 18.0%, fats – by 2.9%, carbohydrates – by 9.1%, dietary fiber – by 30.5%, and energy – by 9.13%.
The new products had a good nutritional value and were rich in protein, dietary fiber, vitamins, and micro- and macro-elements, e.g., iodine. The new cereals and cereal products can also be used in diets for senior patients with comorbid pathology.

**Keywords.** Herodietic nutrition, vegetable protein, dietary products, lentils, peas, laminaria, iodine

**Funding.** The research was part of Project No. 0410-2020-0006 “New technology for the production of cereal products fortified with macro- and micronutrients for senior citizens”.

**For citation:** Urubkov SA, Korolev AA, Smirnov SO. Cereals and Cereal Products for Dietary Preventive Nutrition. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):536–544. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2380

**Введение**

Разработка специализированной продукции геронтологического профиля для лиц пожилого возраста одна из важнейших задач в связи с изменением демографической ситуации, связанной со старением населения [1–3]. Рост доли пожилых людей старше 65 лет отмечается во многих развитых странах Европы и Северной Америки. По оценкам ООН, к 2050 г. число людей старше 65 лет составит 16 % населения по сравнению с 9 % в 2019 г. К 2050 г. количество людей старше 80 лет увеличится в три раза, по сравнению с 2019 г., и составит 426 млн. По данным Федеральной службы государственной статистики РФ, к 2036 г. доля пожилых людей от общего населения России составит 24,1 % .

С возрастом у человека часто появляется ряд хронических заболеваний: сердечно-сосудистые и онкологические, гипертония, атеросклероз, артрит, остеопороз, диабет 2 типа, катаракта и болезнь Альцгеймера. Для лиц пожилого и старческого возрастов характерно наличие коморбидной патологии, т. е. сочетание ряда заболеваний. Поэтому необходимо как можно дольше поддерживать качество жизни пожилых людей на высоком уровне [4, 5].

В пожилом возрасте, начиная с 70 лет, снижается мышечная масса и общая масса тела. В среднем потери составляют 1/3 мышечной массы по сравнению с ее пиком в 20 лет. Эти нарушения повышают риск развития саркопении, остеопороза и мышечной

слабости, следствием чего является повышенная склонность к падениям и переломам [6].

Обозначенные риски заболеваний и патологий обуславливают поиск современных способов адекватной коррекции нарушений метаболического статуса пациентов пожилого и старческого возрастов. Одним из таких направлений является восполнение суточной нормы потребления белка [7, 8]. Дефицит белка в ежедневном рационе питания пожилых людей вызывает замедление метаболизма, снижает энергообмен и сокращает мышечную массу.

В Российской Федерации, согласно МР 2.3.1.0253-21 (утвержденные Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 22 июля 2021 г.), норма белка в рационе должна составлять 75–114 г/день для мужчин и 60–90 г/день для женщин. При этом не учитываются возрастные особенности и индивидуальные ростовесовые характеристики человека.

Рекомендации по питанию для лечения и/или профилактики саркопении – возрастного атрофического дегенеративного изменения скелетной мускулатуры, – сформулированные Обществом саркопении, кахексии и истощения (SCWD), рекомендуют потребление белка не менее 1,0–1,5 г/кгМТ/день в сочетании с адекватными физическими упражнениями [9, 10].

Общество гериатрической медицины Европейского союза (EUGMS) рекомендует потребление белка 1,2 г/кгМТ/день или выше для улучшения физических функций и состояния здоровья пожилых людей и снижения риска ранней смертности. Это мнение также разделяет группа экспертов Европейского общества клинического питания и метаболизма (ESPEN), которая рекомендует потреблять 1,0–1,2 г/кгМТ/день белка для здоровых пожилых людей (65+ лет) и дополнительно увеличивать потребление до 1,2–1,5 г/кгМТ/день при наличии хронических заболеваний или дефиците питания.

Отдельным вопросом стоит способ потребления продуктов, являющихся источником белка. Для лиц пожилого и старческого возрастов характерно снижение потребления продуктов, которые являются традиционным источником белка (говядины, свинины, индейки, курятины, рыбы и т. д.), в том числе из-за проблем стоматологического характера [11]. При отсутствии в ежедневном рационе питания таких продуктов возникает дефицит белка в организме. Таким образом, для пациентов пожилого возраста необходимы специализированные рационы с набором определенных продуктов и с контролем не только калорийности, но и количественного и качественного состава белка. Это позволит повысить эффективность профилактических и лечебных мероприятий для данной категории пациентов [6, 8, 10]. Альтернативой должны выступать продукты с высокой долей содержания белка и благоприятными органолептическими и физико-химическими свойствами. Например, крупяные или макаронные изделия, обогащенные белком растительного происхождения.

Необходимость обогащения рациона питания йодом для жителей центрального региона РФ, являющего эндемически неблагополучной зоной по содержанию йода в почве, воде и продуктах питания, является актуальной задачей.

Таким образом, разработка специализированных пищевых продуктов с функциональными свойствами для пациентов пожилого и старческого возрастов позволит адаптировать химический состав рациона с учетом особенностей обмена веществ и повысить их лечебно-профилактическое воздействие.

**Объекты и методы исследования**

В исследовании применялось следующее сырье: мука гороховая по ТУ 9293-009-89751414-10, мука чечевичная по ТУ 9293-009-89751414-10, мука ячменная по ТУ 9293-002-43175543-03, ламинария, водоросли сушеные пищевые дробленые по ТУ 9284-039-00462769-02, яичный порошок по ГОСТ 30363-2013, куркума молотая по ГОСТ ISO 5562-2017, витаминно-минеральный комплекс по ТУ 10.86.10-089-05800314-2018, порошки полидисперсные овощные по ТУ 9164-001-38196649-2013.

Лабораторные исследования проводились на базе лабораторий и отделов НИИ ПП и СПТ и ФИЦ питания и биотехнологии.

Исследование содержания белков, жиров и углеводов проводили методом инфракрасной спектроскопии на анализаторе SpectraStar 2500 (ГОСТ 10846, ГОСТ 29033, ГОСТ 26176 и ГОСТ 31675). Достоверность результатов была подкреплена параллельно проведенными исследованиями общего содержания белка на полуавтоматическом анализаторе азота, состоящего из полуавтоматической установки для перегонки паром ГВЛ 139 (VELP Scientifically).

Витамины А (в форме полного транс-ретинола) и Е (в форме полного $\alpha$-токоферола) определяли согласно М 04-10-2007; холикальцистирол (витамин $D_3$) – по ГОСТ Р 54637; витамин С – согласно М 04-07-2010; витамины $B_1$ (тиамин) и $B_2$ (рибофлавин) – согласно М04-56-2009, $B_3$ (РР, никотинамид), $B_6$ (пиридоксин) и $B_9$ (фолиевая кислота) – согласно М04-72-2011; Fe – по ГОСТ 30178, Mg – по ГОСТ EN 15505.

Определение йода проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) по ГОСТ EN 15111.

Содержание селена определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре Hitachi 180-80 методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией с модификатором матрицы палладий азотнокислый (ГОСТ Р 56372).

**Результаты и их обсуждение**

На основании медико-биологического обоснования и исследований качества и технологических свойств сырья были разработаны рецептуры каш и крупяных продуктов, предназначенных для лиц пожилого возраста.

В качестве основных компонентов в рецептурах каш и крупяных изделий выбрана ячменная, чечевичная и гороховая мука. В качестве добавок применялись овощные порошки (луковый, свекольный, тыквенный), сушеная ламинария в виде порошка, молотые специи, а также витаминно-минеральный комплекс. Для сохранения структуры полуфабриката изделий применялся сухой яичный порошок.

Выбор компонентов, входящих в рецептурный состав, обусловлен специализированным действием, направленным на профилактику заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Триптофан, содержащийся в горохе и чечевице, оказывает положительное действие на нервную систему, повышает стрессоустойчивость и нормализует психоэмоциональный фон [12]. Кроме того, употребление в пищу бобовых способствует укреплению иммунитета, снижению содержания холестерина, поддержке необходимого уровня гемоглобина и обеспечению организма энергией. Семена чечевицы богаты фенолами, снижающими риски возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. Полифенолы чечевицы нормализируют артериальное давление и препятствуют развитию гипертонии и заболеваний коронарных артерий [13].

Каротиноиды куркумы способствуют активной регенерации и эпителизации слизистой оболочки органов пищеварения. Корни куркумы богаты антиоксидантами, защищают от свободных радикалов, сокращают риски тромбообразования и образования атеросклеротических бляшек. Куркумин (полифенол) оказывает протекторное действие на работу нервной системы и зрительного аппарата, а также нормализует подвижность суставов [14].

Употребление ламинарии в пищу способствует снижению развития атеросклероза, предотвращению стенокардии и инфаркта миокарда. Содержащийся в ламинарии холестерин бето-ситостерин (бета-ситостерин) выводит из организма человека холестерины, способствуя растворению холестериновых отложений на стенках кровеносных сосудов. Полисахариды ламинарии оказывают стимулирующие действие на перистальтику желудочно-кишечного тракта, вызывая раздражающее действие на рецепторы слизистой оболочки. Содержащиеся в морской капусте (ламинарии) альгиновые кислоты затормаживают всасывание воды в кишечнике, что приводит к нормализации стула. Благоприятное сочетание клетчатки и минеральных солей позволяет морской капусте обладать слабительными свойствами и регулировать нарушенную функцию органов пищеварения. Ламинария является источником органически связанного йода, который поддерживает функции щитовидной железы. Он используется для синтеза гормонов щитовидной железы – тироксина и трийодтиронина, регулирующих обмен веществ при гиперфункции щитовидной железы. Йод способствует усилению ассимиляции белка и лучшему усвоению фосфора, кальция и железа, а также активирует ряд ферментов [15–18].

Употребление тыквы в пищу нормализует проходимость желчевыводящих протоков, способствует регенерации клеток и выводит «плохой» холестерин. Снижение содержания холестерина, благодаря содержащимся в тыкве фитостеролам, сокращает риск появления заболеваний сердечно-сосудистой системы. Тыква богата высоким содержанием микроэлементов и витаминов – кальция, магния и витамина К. Они укрепляют сердечную мышцу, снижают давление и влияют на свертываемость крови, снижая риск анемии. Кроме того, потребление тыквы улучшает углеводный обмен и нормализует работу печени, органов мочевыделения и кишечника [19].

Лук является источником биотина (витамина $B_7$), витаминов $B_6$, C, $B_1$, фолата ($B_9$), марганца, меди, фосфора, калия и пищевых волокон. В луке обнаружена богатая концентрация флавоноидных полифенолов и кверцетина. В луке содержится серосодержащие элементы – аллилсульфиды, диаллилсульфиды (DMS, DDS, DTS, и DTTS) и сульфоксиды [20, 21].

Столовая свекла богата физиологически активными веществами, которые обладают спазмолитическими, диуретическими и противосклеротическими свойствами, оказывающими положительный эффект на ряд метаболических, сердечно-сосудистых и желудочно-кишечных заболеваний. Употребление свеклы в пищу стимулирует гемопоэз, желудочную секрецию и перистальтику кишечника, затормаживает развитие микроорганизмов в кишечнике, способствует выведению холестерина, укрепляет стенки капилляров, ослабляет спазмы сосудов, нормализует обмен веществ и благотворно сказывается на функции половых желез. Употребление свеклы целесообразно при спастических колитах, атеросклерозе, тиреотоксикозе, аритмии, гипертонии, заболеваниях печени, атонии кишечника и хронических запорах [22, 23].

Выбор количества добавок (сушеной ламинарии и витаминно-минерального комплекса) основывался на нормах физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах.

Ингредиентный состав рецептур каш и крупяных продуктов представлен в таблице 1.

Разработана технология производства специализированной пищевой продукции: каш и крупяных продуктов для диетического профилактического

Таблица 1. Ингредиентный состав рецептур каш и крупяных продуктов

Table 1. Formulations of the new cereals and cereal products

| Наименование | Ингредиентный состав |
|---|---|
| Композиция № 1 | Ячменная мука, чечевичная мука, яичный порошок, ламинария сушеная, луковый порошок, витаминно-минеральный комплекс |
| Композиция № 2 | Гороховая мука, чечевичная мука, яичный порошок, ламинария сушеная, луковый порошок, куркума, витаминно-минеральный комплекс |
| Композиция № 3 | Ячменная мука, гороховая мука, чечевичная мука, яичный порошок, ламинария сушеная, луковый порошок, свекольный порошок, витаминно-минеральный комплекс |
| Композиция № 4 | Ячменная мука, чечевичная мука, яичный порошок, ламинария сушеная, луковый порошок, витаминно-минеральный комплекс |

Композиция № 1 Композиция № 2 Композиция № 3 Композиция № 4

Рисунок 1. Образцы пищевых концентратов каш и крупяных продуктов для диетического профилактического питания

Figure 1. Samples of concentrated dietary cereals and cereal products

питания, вырабатываемых из муки злакового и зернобобового сырья с добавлением овощных порошков, ламинарии и других ингредиентов путем дозирования и смешивания компонентов, согласно рецептуре, с последующим приготовлением теста, выпрессовыванием, его резкой в виде изделий различной формы, сушкой, фасовкой и упаковкой готового продукта.

На рисунке 1 представлены образцы каш и крупяных продуктов опытной партии.

Установлено, что разработанные технологии производства специализированных каш и крупяных продуктов можно применять в условиях промышленного производства согласно технической документации (ТУ, ТИ и РЦ) на разработанные продукты.

Проведена органолептическая оценка 4-х композиций каш и крупяных продуктов сотрудниками клиники «ФИЦ питания и биотехнологии». Результаты дегустационной оценки представлены на рисунке 2. Дегустационная оценка готовых продуктов, полученных с использованием разработанных смесей, проводилась по 5-бальной шкале.

Проведенная дегустационная оценка образцов опытной партии каш и крупяных продуктов показала, что лучшей является композиция № 2. Дегустаторами были положительно отмечены цвет и внешний вид изделий. Второе место заняла композиция № 3. На это повлиял окрас изделий и более плотная структура, образовавшаяся в результате добавления ячменной муки. Рецептуры каш № 1 и 4 набрали наименьшее количество баллов, но были положительно отмечены дегустаторами.

Получены экспериментальные данные по содержанию основных пищевых веществ в образцах каш и крупяных продуктов (табл. 2).

Согласно полученным данным диапазон содержания белка в разработанных продуктах от 20,96 до 24,33 г/100 г, жиров – от 3,36 до 3,49 г/100 г, углеводов – от 45,07 до 47,10 г/100 г, энергии – от 327 до 333 ккал/100 г.

Во всех образцах разработанных продуктов отмечено высокое содержание белка, а также низкое содержание жиров. С увеличением содержания муки бобовых культур в рецептурах возрастает количество белка в готовом продукте и снижается содержание углеводов.

Произведен расчет удовлетворения рекомендуемой суточной потребности основных пищевых веществ в отварных изделиях партии каш и крупяных продуктов (рис. 3).

Исходя из графика на рисунке 3 и согласно МР 2.3.1.0253-21, с порцией каши или крупяного продукта пожилой человек удовлетворит суточную потребность в белке в среднем на 18,0 %, жирах – 2,9 %, углеводах – 9,1 %, пищевых волокнах – 30,5 % и энергии – 9,13 %.

В разработанных продуктах содержится высокое количество пищевых волокон, которые относятся к веществам с установленным физиологическим действием. Они важны для

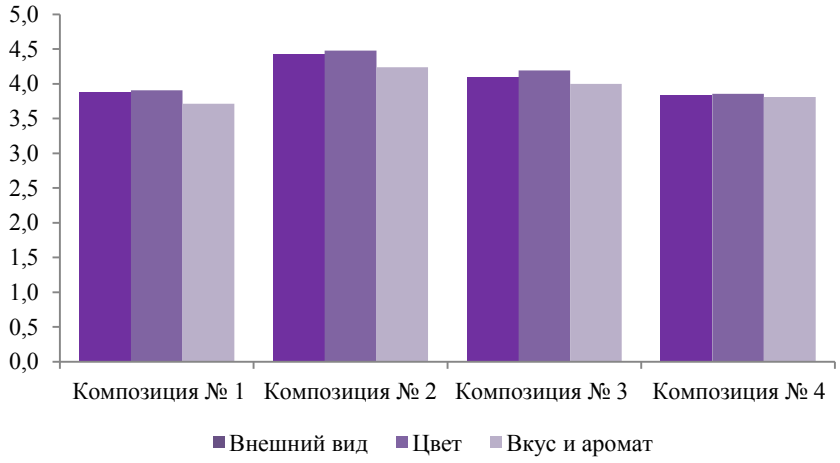



Рисунок 2. Результаты органолептической оценки образцов опытной партии каш и крупяных продуктов

Figure 2. Sensory evaluation of the new cereals and cereal products

Таблица 2. Содержание основных пищевых веществ и энергетическая ценность каш и крупяных продуктов

Table 2. Basic nutrients and energy value

| Наименование | Белок, % | Жиры, % | Углеводы, % | Пищевые волокна, % | Калорийность, ккал |
|---|---|---|---|---|---|
| Композиция № 1 | 20,96 | 3,45 | 45,86 | 12,64 | 323 |
| Композиция № 2 | 24,33 | 3,49 | 45,68 | 10,90 | 333 |
| Композиция № 3 | 24,13 | 3,36 | 45,07 | 10,06 | 327 |
| Композиция № 4 | 21,50 | 3,49 | 47,10 | 12,12 | 330 |

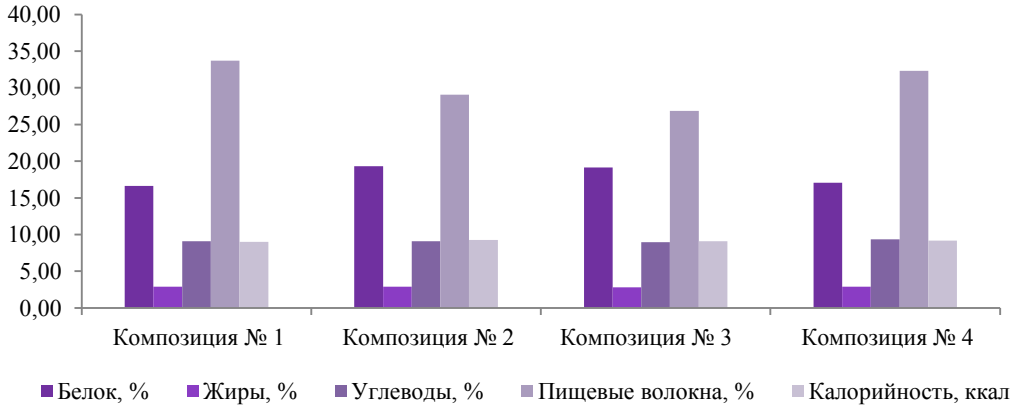



Рисунок 3. Удовлетворение рекомендуемой суточной потребности лиц пожилого возраста в пищевых веществах и энергии при включении в рацион специализированных каш и крупяных продуктов, % на 150 г готовой продукции

Figure 3. Daily intake of nutrients and energy, % per 150 g

организма пожилого человека. Пищевые волокна оказывают влияние на процессы пищеварения, способствую перистальтике кишечника, обеспечивают микробиоциноз и прохождение пищи через пищеварительный тракт. Растворимые пищевые волокна обладают пребиотическими свойствами, обеспечивающими развитие микробиоты кишечника, способствуют усвоению микро- и макроэлементов. В работе желудочно-кишечного тракта пищевые волокна сорбируют и выводят токсичные вещества, в том числе тяжелые металлы.

В результате исследования получены экспериментальные данные по содержанию витаминов и минеральных элементов в образцах каш и крупяных

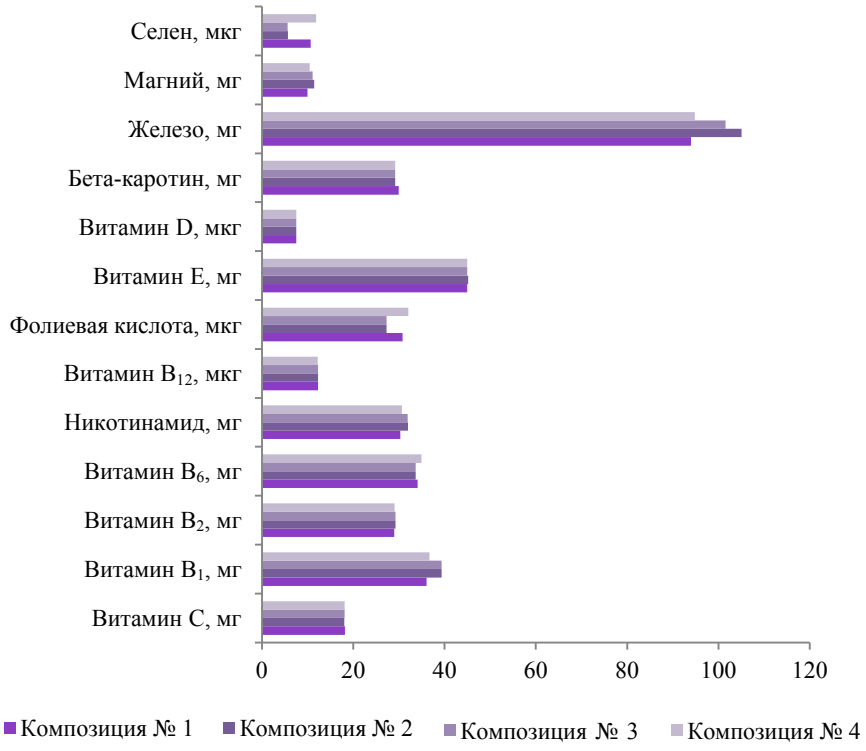



Рисунок 4. Удовлетворение рекомендуемой суточной потребности лиц пожилого возраста в витаминах и минеральных веществах при включении в рацион специализированных каш и крупяных продуктов, % на 150 г готовой продукции

Figure 4. Daily intake of vitamins and minerals, % per 150 g

Таблица 3. Технологические потери витаминов E, $B_2$ и C в образцах каш и крупяных продуктов до и после термической обработки

Table 3. Technological losses of vitamins E, $B_2$, and C before and after heat treatment

| Наименование | | Витамин E | Витамин $B_2$ | Витамин C |
|---|---|---|---|---|
| Композиция № 1 | Полуфабрикат | 9,0 | 1,10 | 17,2 |
| | Готовое изделие | 6,1 | 0,68 | 13,6 |
| Композиция № 2 | Полуфабрикат | 9,0 | 1,00 | 6,2 |
| | Готовое изделие | 5,8 | 0,58 | 4,7 |
| Композиция № 3 | Полуфабрикат | 11,6 | 0,90 | 5,5 |
| | Готовое изделие | 7,6 | 0,51 | 4,0 |
| Композиция № 4 | Полуфабрикат | 10,8 | 1,10 | 8,4 |
| | Готовое изделие | 6,9 | 0,78 | 6,4 |

продуктов. Также произведен расчет удовлетворения рекомендуемой суточной потребности витаминов и минеральных элементов в отварных изделиях каш и крупяных продуктов (рис. 4).

Исходя из графика на рисунке 4 и согласно МР 2.3.1.0253-21, с порцией каши или крупяного продукта пожилой человек удовлетворит суточную потребность в среднем в витамине $B_1$ – 38 %, $B_2$ – 29 %, $B_6$ – 34 %, $B_{12}$ – 12 %, E – 45 %, D – 8 %, в никотинамиде – 31 %, фолиевой кислоте – 29 %, бета-каротине – 29 %, железе – 99 %, магнии – 11 % и селене – 8 %.

С целью определения сохранности витаминов после термической обработки изделий проведено исследование наименее термостабильных витаминов (C, E, $B_2$) в полуфабрикате и отварных изделиях опытной партии каш и крупяных продуктов (табл. 3).

Технологические потери витаминов E, $B_2$ и C в образцах опытной партии каш и крупяных продуктов

после термической обработки составили в среднем 34, 38 и 24 % соответственно.

Потери содержания витаминов в готовом продукте, по сравнению с полуфабрикатом, объясняются термической кулинарной обработкой. Для рецептурных композиций № 1 и 4 (каши) длительность термической обработки составляет 20 мин. Нутриенты, перешедшие в варочную воду, остаются в готовом продукте. Рецептурные композиции крупяных продуктов № 2 и 3 подвергаются менее длительной термической обработке, но потери нутриентов не компенсируются, т. к. варочная вода сливается.

Учитывая, что основным функциональным компонентом ламинарии в разработанных композициях каш и крупяных продуктов является йод, было определено его фактическое содержание до и после варки. Процентное содержание ламинарии в разработанных образцах было одинаковым, поэтому анализ проводился на образце крупяных продуктов – композиция № 2. Содержание йода в полуфабрикате крупяных изделий составило 606 мкг/100 г, в отварных изделиях – 362 мкг/100 г. Технологические потери йода при тепловой обработке составили примерно 40 %. Физиологическая потребность в йоде для взрослых, согласно МР 2.3.1.0253-21, составляет 150 мкг/сутки. С учетом влажности порция 150 г приготовленных крупяных изделий обеспечит организм пожилого человека в йоде на 90 %.

**Выводы**

По результатам работы были разработаны рецептуры каш и крупяных продуктов, предназначенных для лиц пожилого возраста. Готовые изделия обладали гармоничным вкусом, цветом и запахом.

Разработанные продукты обладают высокой пищевой ценностью, повышенным содержанием белков и пищевых волокон, содержат витамины и микро- и макроэлементы, в том числе йод.

Результаты проведенных исследований по разработке специализированных крупяных продуктов, обогащенных макро- и микронутриентами, для лиц пожилого возраста позволяют сделать вывод о том, что разработанные каши и крупяные продукты могут быть применены при разработке рационов питания для лиц пожилого возраста с учетом наличия коморбидной патологии.

**Критерии авторства**

С. А. Урубков отвечал за сбор данных, их анализ и интерпретацию, а также участвовал в написании статьи. А. А. Королёв учувствовал в анализе данных, написании и корректировке статьи. С. О. Смирнов осуществлял руководство исследованиями, принимал участие в утверждении окончательной версии статьи.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Contribution**

S.A. Urubkov collected and analyzed the data and wrote the manuscript. A.A. Korolev interpreted the data and proofread the article. S.O. Smirnov supervised the research and proofread the final version of the article.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**References/Список литературы**

1. Dzerzhinsky RI, Zausailov AS, Vorontsov AA. Modelling world population dynamics. In: Silhavy R, Silhavy P, Prokopova Z, editors. Data science and intelligent systems. Proceedings of 5th Computational Methods in Systems and Software 2021, Vol. 2. Cham: Springer; 2021. pp. 423–432. https://doi.org/10.1007/978-3-030-90321-3_34

2. Kapeliushnikov RI. The phenomenon of population aging: Major economic effects. Economic Policy. 2019;14(2):8–63. (In Russ.). https://doi.org/10.18288/1994-5124-2019-2-8-63

3. Praskova JuA, Kiseleva TF, Reznichenko IYu, Frolova NA, Shkrabtak NV, Lawrence Yu. Biologically active substances of *Vitis amurensis* Rupr.: Preventing premature aging. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):159–169. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-159-169

4. Chaulin AM, Grigoryeva YuV, Duplyakov DV. Comorbidity: Chronic obstructive pulmonary disease and cardiovascular diseases. Practical Medicine. 2020;18(1):26–31. (In Russ.). https://doi.org/10.32000/2072-1757-2020-1-26-31

5. Dudinskaya EN, Brailova NV, Kuznetsova VA, Tkacheva ON. Osteoporosis in the elderly. Osteoporosis and Bone Diseases. 2019;22(3):34–40. (In Russ.). https://doi.org/10.14341/osteo12352

6. Katamanova EV, Efimova NV, Kazakova PV, Ushakova OV, Kodinets IN. Risk factors, quality of life and health of the elderly age persons. Hygiene and Sanitation. 2021;100(8):863–869. (In Russ.). https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-8-863-868

7. Doszhanova GN, Abduldayeva AA. Hygienic assessment of nutrition status of the population of the gerontological group. Hygiene and Sanitation. 2017;96(11):1084–1087. (In Russ.). https://doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-11-1084-1087

8. Adhikari S, Schop M, de Boer IJM, Huppertz T. Protein quality in perspective: A review of protein quality metrics and their applications. Nutrients. 2022;14(5). https://doi.org/10.3390/nu14050947

9. Naumov AV, Khovasova NO, Moroz VI, Tkacheva ON, Shavlovskaya OA. The clinical status and treatment options for osteoarthritis in patients with frailty. Therapeutic Archive. 2019;91(12):135–141. (In Russ.). https://doi.org/10.26442/00403660.2019.12.000487

10. Robinson S, Granic A, Sayer AA. Micronutrients and sarcopenia: Current perspectives. Proceedings of the Nutrition Society. 2021;80(3):311–318. https://doi.org/10.1017/S0029665121001956

11. Ostrovskiy IV, Shitikova OB. Rationale for the program of prevention of dental diseases among elderly patients. Social Aspects of Population Health. 2019;65(4). (In Russ.). https://doi.org/10.21045/2071-5021-2019-65-4-7

12. Gostner JM, Geisler S, Stonig M, Mair L, Sperner-Unterweger B, Fuchs D. Tryptophan metabolism and related pathways in psychoneuroimmunology: The impact of nutrition and lifestyle. Neuropsychobiology. 2020;79(1):89–99. https://doi.org/10.1159/000496293

13. Galiullin AA, Belova MV. The use of lentil flour for the production of enriched flour mixtures. Surskiy Bulletin. 2021;16(4):47–52. (In Russ.). https://doi.org/10.36461/2619-1202_2021_04_008

14. Sunidhi M, Bharti G. Pharmaceutical and nutritional properties of turmeric (Curcuma longa): A mini review. Advances in Zoology and Botany. 2020;8(3):83–86. https://doi.org/10.13189/azb.2020.080302

15. Polat S, Trif M, Rusu A, Šimat V, Čagalj M, Alak G, *et al.* Recent advances in industrial applications of seaweeds. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2021;8:1–30. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2010646

16. Leandro A, Pacheco D, Cotas J, Marques JC, Pereira L, Gonçalves AMM. Seaweed's bioactive candidate compounds to food industry and global food security. Life. 2020;10(8). https://doi.org/10.3390/life10080140

17. Peñalver R, Lorenzo JM, Ros G, Amarowicz R, Pateiro M, Nieto G. Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. Marine Drugs. 2020;18(6). https://doi.org/10.3390/md18060301

18. Slavyanskiy AA, Gribkova VA, Nikolaeva NV, Mitroshina DP. Granulated sugar-containing functional products in jelly fillings. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):859–868. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-859-868

19. El Khatib S, Muhieddine M. Nutritional profile and medicinal properties of pumpkin fruit pulp. In: Salanta LC, editor. The health benefits of foods – Current knowledge and further development. IntechOpen; 2020. https://doi.org/10.5772/intechopen.89274

20. Chadorshabi S, Hallaj-Nezhadi S, Ghasempour Z. Red onion skin active ingredients, extraction and biological properties for functional food applications. Food Chemistry. 2022;386. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132737

21. Sagar NA, Pareek S, Benkeblia N, Xiao J. Onion (*Allium cepa* L.) bioactives: Chemistry, pharmacotherapeutic functions, and industrial applications. Food Frontiers. 2022;3(1):1–33. https://doi.org/10.1002/fft2.135

22. Ceclu L, Oana-Viorela N. Red Beetroot: Composition and health effects – A review. Journal of Nutritional Medicine and Diet Care. 2020;6(1). https://doi.org/10.23937/2572-3278.1510043

23. Czyzowska A, Siemianowska K, Śniadowska M, Nowak A. Bioactive compounds and microbial quality of stored fermented red beetroots and red beetroot juice. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2020;70(1):35–44. https://doi.org/10.31883/pjfns/116611

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2387
https://elibrary.ru/VESCLF

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Identifying Bioactive Peptides from Poultry By-Products

**Roman A. Voroshilin*, Marina G. Kurbanova, Vladimir P. Yustratov, Timothy A. Larichev**

*Kemerovo State University, Kemerovo, Russia*

*Received: 19.05.2022*
*Revised: 09.06.2022*
*Accepted: 05.07.2022*

**Roman A. Voroshilin: rom.vr.22@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7259-3085*
*Marina G. Kurbanova: https://orcid.org/0000-0003-0563-1007*
*Vladimir P. Yustratov: https://orcid.org/0000-0002-1779-4332*
*Timothy A. Larichev: https://orcid.org/0000-0003-0166-2527*

*© R.A. Voroshilin, M.G. Kurbanova, V.P. Yustratov, T.A. Larichev, 2022*

**Abstract.**
Bioactive peptides derived from food proteins are becoming increasingly popular ingredients due to their beneficial effect on the immune system and other functional properties. We aimed to develop a technology for obtaining peptides from poultry by-products and identify their bioactivity.
Pepsin was the main reagent for the *in vitro* enzymatic hydrolysis. Specialized equipment and methods were used to determine the key indicators. The molecular weight and bioactivity of the resulting peptides were calculated by using the Peptide Mass Calculator and PeptideRanker online resources.
First, we developed a flow chart for obtaining bioactive peptides and produced hydrolysates from poultry by-products. The hydrolysates had identical physicochemical parameters, with no significant differences. The molecular weight distribution revealed that most protein fractions were represented by peptides with a molecular weight below 20 kDa. Then, we evaluated the bioactivity of the peptides. The hydrolysate obtained using pepsin with an activity of 30 units per 100 g of material showed higher bioactivity in the FD peptides (0.922094). The hydrolysate obtained using pepsin with an activity of 45 units per 100 g of material had greater bioactive properties in the CYG peptides (0.947378).
Based on the results, we designed a flow chart for obtaining hydrolysates from poultry by-products and evaluated the bioactive properties of the peptides obtained. For further work, these properties should be confirmed by *in vitro* experiments to determine the reliability of our data and identify specific bioactive properties of the peptides.

**Keywords.** Peptides, hydrolysis, hydrolysates, waste-free technologies, *in vitro*, bioactive properties

**Funding.** The study was funded by the Grant of the President of the Russian Federation for State Support of Young Russian Candidates of Sciences (MK-4035.2022.4).

**For citation:** Voroshilin RA, Kurbanova MG, Yustratov VP, Larichev TA. Identifying Bioactive Peptides from Poultry By-Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):545–554. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2387

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2387
https://elibrary.ru/VESCLF

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Получение и идентификация биоактивных пептидов из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы

**Р. А. Ворошилин*, М. Г. Курбанова, В. П. Юстратов, Т. А. Ларичев**

*Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

*Поступила в редакцию: 19.05.2022*
*Принята после рецензирования: 09.06.2022*
*Принята к публикации: 05.07.2022*

**Р. А. Ворошилин: rom.vr.22@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7259-3085*
*М. Г. Курбанова: https://orcid.org/0000-0003-0563-1007*
*В. П. Юстратов: https://orcid.org/0000-0002-1779-4332*
*Т. А. Ларичев: https://orcid.org/0000-0003-0166-2527*

*© Р. А. Ворошилин, М. Г. Курбанова, В. П. Юстратов, Т. А. Ларичев, 2022*

**Аннотация.**
Биоактивные пептиды, полученные из пищевых белков, становятся все более популярными на рынке пищевых ингредиентов. Они способствуют укреплению иммунного статуса организма, а также обладают другими функциональными свойствами. Цель исследования состояла в разработке технологии получения пептидов из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы и идентификации их биоактивности.
В качестве основного реагента для проведения исследования использовался фермент пепсин. Ферментативный гидролиз проводили *in vitro*. Для определения основных показателей применяли специальное оборудование и методики. Молекулярную массу и биоактивность полученных пептидов рассчитывали с помощью онлайн-ресурсов Peptide Mass Calculator и PeptideRanker.
На первом этапе исследования была разработана принципиальная схема производства биоактивных пептидов. Были получены гидролизаты из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы. По физико-химическим показателям сухие гидролизаты были идентичны друг другу, значимых различий не выявлено. Из результатов анализа молекулярно-массового распределения выявлено, что основные фракции представлены пептидами с молекулярной массой ниже 20 кДа. В гидролизате образца № 1, полученного с применением пепсина активностью 30 ед. на 100 г сырья, большей биоактивностью обладают пептиды FD. Их биоактивные свойства равны 0,922094 ед. Три пептидные последовательности гидролизата образца № 2, полученного с применением пепсина активностью 45 ед. на 100 г сырья, обладают биоактивными свойствами. Большей биоактивностью обладают пептиды CYG (0,947378 ед.).
Была разработана принципиальная схема получения гидролизатов из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы. Проведена оценка биоактивных свойств полученных пептидов. Для дальнейшей работы биоактивные свойства следует подтверждать экспериментальными исследованиями *in vitro*, которые помогут определить достоверность полученных данных и конкретные биоактивные свойства изучаемых пептидов.

**Ключевые слова.** Пептиды, гидролиз, гидролизаты, безотходные технологии, *in vitro*, биоактивные свойства

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации по государственной поддержке молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-4035.2022.4).

**Для цитирования:** Получение и идентификация биоактивных пептидов из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы / Р. А. Ворошилин [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 545–554. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2387

## Introduction

Meat is a source of complete protein in the human diet. Meat proteins have a high nutritional value and therefore contribute to the normal physiological status. They are converted into various forms during cooking, processing, and digestion. For example, bioactive peptides obtained from meat proteinsthrough an enzymatic reaction can help maintain the immune status of the human body. Not only muscle meat is a good source of protein and bioactive peptides, but offal is as well. Therefore, meat by-products have increasingly been studied and used to produce functional ingredients and bioactive peptides [1–6].

Consumers are becoming increasingly aware of the immune-boosting properties of bioactive peptides derived from dietary proteins. Bioactive peptides are small fragments of dietary proteins, mostly consisting of 2–20 amino acid residues. They can be ligands and therefore have many targets in the human body, such as the immune, cardiovascular, digestive, and endocrine systems [7–11].

Hydrolysis is the main process of isolating peptides. Many studies confirm that the proteins of meat by-products are hydrolyzed by proteolytic enzymes under controlled conditions, enabling bioactive peptides to form. The main proteolytic enzymes that can be used to hydrolyze proteins are pepsin, trypsin, chymotrypsin, corolase, papain, as well as enzymes of microbial origin, such as *Neutrase* from *Bacillus amyloliquefaciens* and *Alcalase* from *Bacillus licheniformis* [12–15].

The efficacy and safety of bioactive peptides must be proven by clinical studies on living organisms before they can be approved for use by regulatory and supervisory authorities [16–18].

Some food-derived peptides have antioxidant, immunomodulatory, antihypertensive, anticancerous, anti-inflammatory, antimicrobial, hypocholesterolemic, intestine-modulatory, antidiabetic, opioid, and metal-chelating properties [19–23]. Their biological activity mainly depends on their amino acid composition, sequence, length, and charge [24, 25].

Currently, hundreds of peptides with different biological action have been identified and isolated from various food sources, including milk, whey, eggs, fish, rice, soybeans, peanuts, chickpeas, corn, and algae [24]. However, only a few of them are marketed as functional nutraceutical products. For example, bioactive peptides derived from milk and fish are more commonly used as food ingredients than peptides from other food sources. Table 1 presents some bioactive peptides obtained from various protein sources and lists their properties [26].

Antioxidant peptides usually contain hydrophobic amino acids and residues of histidine, phenylalanine, tryptophan, or tyrosine.

Thus, the food industry needs to develop technologies for isolating bioactive peptides from by-products, including meat by-products.

We aimed to develop a technology for obtaining peptides from poultry by-products and study the bioactivity of some peptide sequences.

To achieve this aim, we set to:

– select enzymes and develop a scheme for hydrolyzing a homogeneous mass of chicken skin;
– develop two alternative schemes for producing bioactive peptides through the hydrolysis of poultry by-products;
– conduct an electron microscopy of the obtained hydrolysates;
– determine the main physicochemical parameters of the hydrolysates; and
– perform a comparative analysis of the peptides.

**Study objects and methods**

We studied broiler chicken skin in a homogeneous state. First, we selected proteolytic enzymes and hydrolysis conditions that could increase the bioactivity and yield of hydrolysates. In particular, we chose a

Table 1. Some bioactive peptides and their properties

Таблица 1. Некоторые биоактивные пептиды и их свойства

| Protein source | Peptide sequence | Bioactive properties |
|---|---|---|
| Cow's milk whey lactoferrin | *Glu-Asn-Leu-Pro-Glu-Lys-Ala-Asp-Arg-Asp-Gln-Tyr-Glu-Leu* | Osteoblast-proliferating |
| Beans (*Phaseolus vulgari*) | *Gly-Leu-Thr-Ser-Lys*, *Leu-Ser-Gly-Asn-Lys*, *Gly-Glu-Gly-Ser-Gly-Ala*, *Met-Pro-Ala-Cys-Gly-Ser-Ser*, and *Met-Thr-Glu-Glu-Tyr* | Anticancerous |
| Soy | *Met-Ile-Thr-Leu-Ala-Ile-Pro-Val-Asn-Lys-Pro-Gly-Arg* | Immunomodulatory |
| Chicken egg lysozyme | *Val-Ala-Trp-Arg-Asn-Arg-Cys-Lys-Gly-Thr-Asp*, *Trp-Arg-Asn-Arg-Cys-Lys-Gly-Thr-Asp*, *Ala-Trp-Ile-Arg-Gly-Cys-Arg-Leu*, *Trp-Ile-Arg-Gly-Cys-Arg-Leu*, and *Ile-Arg-Gly-Cys-Arg-Leu* | Antioxidant |
| Egg white | *Ala-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro*, *Asp-Glu-Asp-Thr-Gln-Ala-Met-Pro*, *Pro-Val-Asp-Glu-Asn-Asp-Glu-Gly*, *Gln-Pro-Ser-Ser-Val-Asp-Ser-Gln-Thr-Ala-Met*, and *Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro* | Antioxidant |
| Casein | *Tyr-Gln-Lys-Phe-Pro-Gln-Tyr-Leu-Gln-Tyr* | Antihypertensive |
| Egg yolk | *Ile-Arg-Trp* and *Ile-Gln-Trp* | Antidiabetic |
| Tuna | *Gly-Asp-Leu-Gly-Lys-Thr-Thr-Thr-Val-Ser-Asn-Trp-Ser-Pro-Pro-Lys-Try-Lys-Asp-Thr-Pro* | Antihypertensive |
| Freshwater clam (*Corbicula fluminea*) | *Val-Lys-Pro* and *Val-Lys-Lys* | Hypocholesterolemic |
| Soy | *Tyr-Val-Val-Asn-Pro-Asp-Asn-Asp-Glu-Asn* and *Tyr-Val-Val-Asn-Pro-Asp-Asn-Asn-Glu-Asn* | Hypocholesterolemic |

Table 2. Characteristics of the enzyme used in the study

Таблица 2. Характеристика фермента, используемого в исследовании

| Indicator | Description |
|---|---|
| Composition | Pepsin based on *Rhyzomucor miehei* (CAS: 9001-92-7) |
| Origin | Microbial |
| Assumed splitting | *Phe*[1] + *Val*, *Gln*[4] + *His*, *Glu*[13] + *Ala*, *Ala*[14] + *Leu*, *Leu*[15] + *Tyr*, *Tyr*[16] + *Leu*, *Gly*[23] + *Phe*, *Phe*[24] + *Phe*, and *Phe*[25] |
| Form, color | White powder |
| Activity, units per 1 g | At least 300 000 |
| Activation temperature, °C | 30 ± 2 |
| Producer | Meito Sangyo Co., Ltd., Japan |

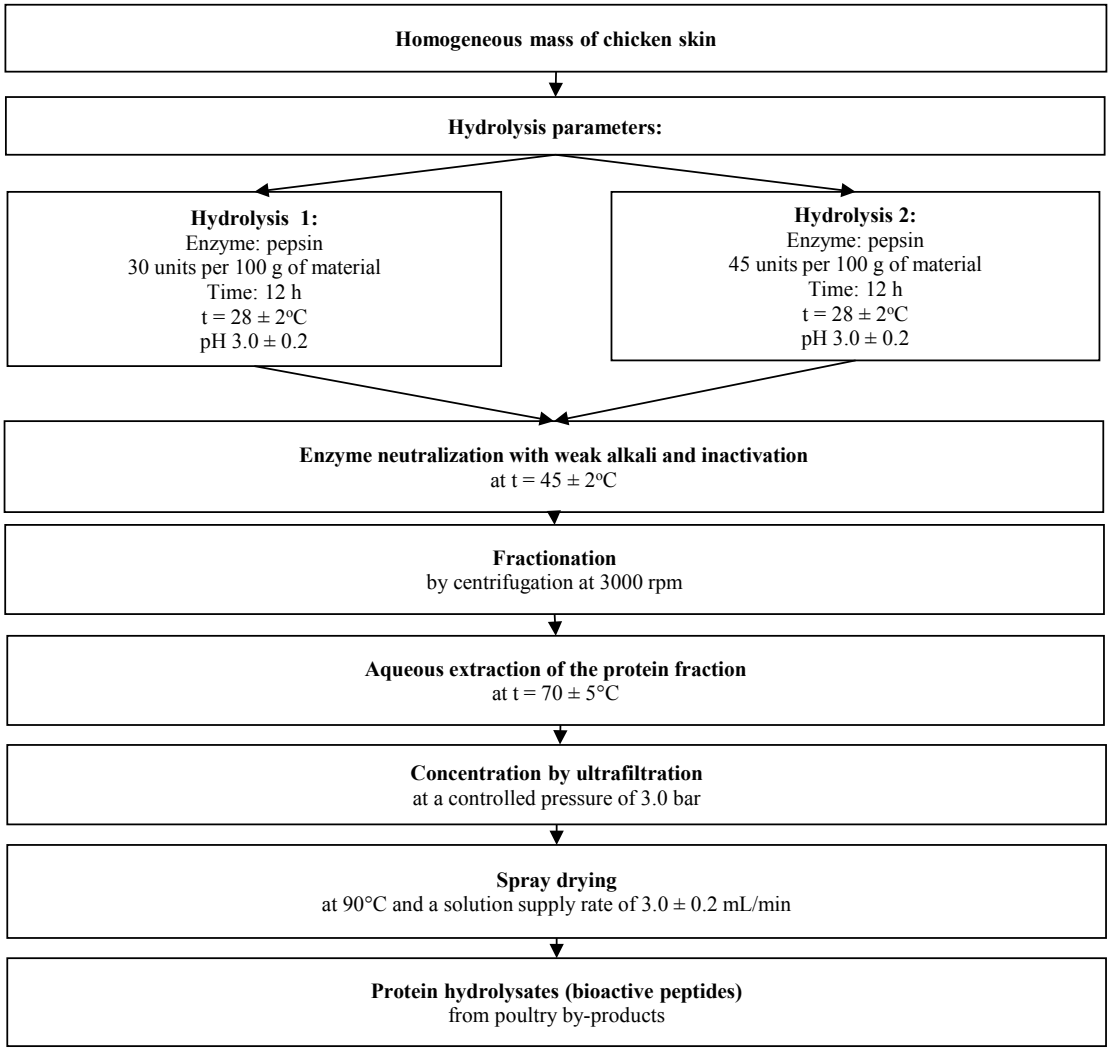
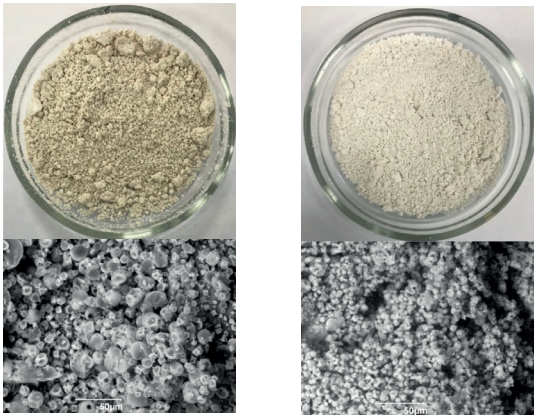



Figure 1. Flow chart for producing bioactive peptides from poultry by-products using hydrolysis (two variants)

Рисунок 1. Схема производства биоактивных пептидов с применением гидролиза (в двух вариациях) из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы

pepsin produced by Meito Sangyo Co. (Japan) for our experiments as a potentially more suitable enzyme for obtaining peptides from poultry by-products (Table 2).

As can be seen in Table 2, the enzyme has high proteolytic properties and is activated at temperatures that are favorable for protein structures.



a b

Figure 2. Protein hydrolysates from poultry by-products: a – Sample 1 based on pepsin with an activity of 30 units per 100 g of material; b – Sample 2 based on pepsin with an activity of 45 units per 100 g of material

Рисунок 2. Белковые гидролизаты из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы: a – образец № 1, полученный с применением пепсина активностью 30 ед. на 100 г сырья; b – образец № 2, полученный с применением пепсина активностью 45 ед. на 100 г сырья

Enzymatic hydrolysis was carried out *in vitro*. MM-5 laboratory magnetic stirrers were used to ensure a uniform treatment of the materials with an enzyme solution throughout the experiment (100 rpm, 28 ± 2°C). The acidity was maintained with 1M hydrochloric acid. The hydrolysates were dried in a B-290 Mini Spray Dryer (Buchi, Sweden) at 100 ± 2°C and at a solution supply rate of 3.5–4.0 mL/min. The dried hydrolysates were microphotographed with a JEOL JED-2300 electronic microscope (Japan). The mass fraction of protein was determined on a RapidN Elementar nitrogen (protein) analyzer. This analyzer uses the Dumas method that involves combusting the samples and registering total nitrogen on a thermal conductivity detector. Molecular weight distribution was performed by polyacrylamide gel electrophoresis in the presence of an anionic detergent (sodium dodecyl sulfate). The amino acid sequence of the peptides was determined by matrix-activated laser desorption/ionization on a MALDI Biotyper (Bruker). The molecular weight was calculated by using the Peptide Mass Calculator. The bioactivity of the peptides was assessed *in silico* using the PeptideRanker online server that ranks peptides by the predicted probability of their bioactivity. The structure of the peptides was modeled by using the PepDraw online tool.

The experiments were performed at the Department of Animal Origin Food Technology and the Scientific and Educational Center of the Research and Innovation Department, Kemerovo State University.

Table 3. Physicochemical parameters of the hydrolysates

Таблица 3. Основные физико-химические показатели гидролизатов

| Parameters, % | Sample 1 | Sample 2 |
|---|---|---|
| Protein | 90.7 ± 0.1 | 91.4 ± 0.2 |
| Fat | 0.60 ± 0.03 | 0.40 ± 0.06 |
| Moisture | 8.1 ± 0.1 | 7.8 ± 0.2 |
| Ash | 0.60 ± 0.04 | 0.40 ± 0.03 |

**Results and discussion**

The flow chart for producing bioactive peptides from poultry by-products is presented in Fig. 1. It includes two sets of parameters for enzymatic hydrolysis of a homogeneous mass of chicken skin.

Chicken skin was homogenized with a laboratory homogenizer. The homogeneous mass was hydrolyzed with pepsin in two variations during 12 h at 28 ± 2°C. The enzyme was then thermally inactivated at 45 ± 2°C and neutralized with a weak alkali to pH 7.0 ± 2.0. Next, the hydrolysate was fractionated into protein and fat parts using a CM 6 M Multi centrifuge at 3000 rpm. The protein part was then subjected to thermal water extraction in order to dissolve the protein fractions at 70 ± 5°C. The resulting solution was filtered using a MFU-R-45-300 laboratory ultrafiltration unit (Russia) at a controlled pressure of 3.0 bar and a difference of 0.2–0.5 kgf/cm$^2$ in the discharge and return headers. The protein part of the solution went into the retentate, while the water and minerals went into the permeate. Further, protein hydrolysate samples were obtained by spray drying at 90 ± 2°C and a solution supply rate of 3.0 ± 0.2 mL/min. The samples were then microphotographed with an electronic microscope (magnified 500 times), as can be seen in Fig. 2.

First, we evaluated the color and particle size of the hydrolysates. As we can see in Fig. 2, the samples differed in color, with sample 1 having a darker creamy color and sample 2 having a whitish color. Also, the hydrolysates differed in particle size, although they were dried under the same conditions. In particular, sample 2 had a more finely dispersed structure, which can be explained by a deeper hydrolysis of this sample.

Next, we determined the main physicochemical parameters of the hydrolysates for further studies (Table 3).

As can be seen in Table 3, the samples had no significant differences in physicochemical parameters. Since the hydrolysates had a high protein content (over 90%), they can be classified as a high-protein product.

Next, we analyzed the distribution of protein fractions by polyacrylamide gel electrophoresis in the

Table 4. Molecular weight distribution of the hydrolysates

Таблица 4. Молекулярно-массовое распределение образцов гидролизатов

| Molecular weight, kDa | Distribution of peptide fractions by molecular weight, % | |
|---|---|---|
| | Sample 1 | Sample 2 |
| 200 | 1.063760 | 2.194861 |
| 150 | 4.905115 | 2.328694 |
| 100 | 2.186618 | 4.007342 |
| 85 | 14.60372 | 0.948302 |
| 60 | 6.369427 | 3.001682 |
| 50 | 4.813185 | 0.776231 |
| 40 | 3.224112 | 1.697767 |
| 30 | 0.965264 | 2.011318 |
| 25 | 1.267319 | 5.766289 |
| 20 | 4.392935 | 11.56317 |
| Less than 20 | 56.20855 | 65.70435 |

Table 5. Amino acid sequence of the hydrolysates

Таблица 5. Аминокислотная последовательность исследуемых гидролизатов

| Parameter | Sample 1 | Sample 2 |
|---|---|---|
| Amino acid sequence in a one-letter code* | PILG/PILV/ILA/ILG/ILV/ ILT/PSV/GVS/HGL/HVI/SVP/SV/FD/NW | ILKH/PSPV/PSVP/GHG/SPV/SVP/AYG/ CYG |
| Peptide chain length | 41 | 27 |
| Isoelectric point (pI) | 6.05 | 8.84 |

* A – alanine; C – cysteine; D – aspartic acid; E – glutamic acid; F – phenylalanine; G – glycine; H – histidine; I – isoleucine; K – lysine; L – leucine; M – methionine; N – asparagine; P – proline; Q – glutamine; R – arginine; S – serine; T – threonine; V – valine; W – tryptophan; Y – tyrosine.

* A – аланин; C – цистеин; D – аспарагиновая кислота; E – глутаминовая кислота; F – фенилаланин; G – глицин; H – гистидин; I – изолейцин; K – лизин; L – лейцин; M – метионин; N – аспарагин; P – пролин; Q – глутамин; R – аргинин; S – серин; T – треонин; V – валин; W – триптофан; Y – тирозин.

presence of an anionic detergent, sodium dodecyl sulfate. Table 4 shows the molecular weight distribution of the hydrolysates.

As can be seen in Table 4, most peptide fractions had a molecular weight below 20 kDa, especially those in sample 2. Thus, we can assume that the hydrolysates contained peptides with bioactive properties, especially sample 2.

Then, we determined the amino acid sequence of the hydrolysates under study (Table 5).

According to Table 5, sample 1 had a chain of 41 peptides, while sample 2 was represented by 27 peptides. We can also see that the first and the second variants of hydrolysis, which used pepsin with lower and higher activity, respectively (Fig. 1), split the protein into 14 and 8 fragments of amino acids (peptide sequences), respectively.

Next, we used online resources to determine the molecular weight and bioactivity of individual peptide sequences, as well as modelled their structure (Tables 6 and 7).

The PeptideRanker service has a threshold value of 0.5 for peptides' bioactive properties, i.e. any peptide with an estimated value above 0.5 is ranked as bioactive. However, literature shows that using a higher threshold, particularly 0.8, reduces the number of false positive results. Therefore, we assessed the bioactive properties of peptides based on a threshold bioactivity value of 0.8 and the maximum value of 1.

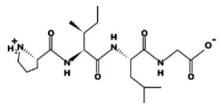
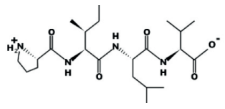
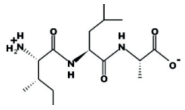
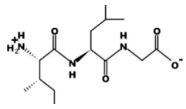
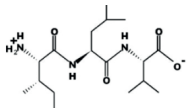
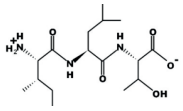
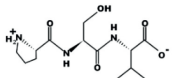
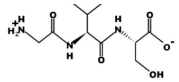
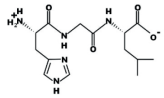
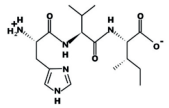
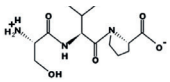
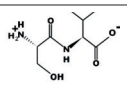
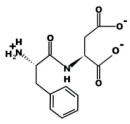
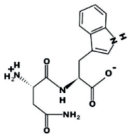
According to Table 6, the FD peptides (38–39 in the sequence) and the NW peptides (40–41 in the sequence) had greater bioactivity values of 0.922094 and 0.934148, respectively. Their structure shows aromatic rings which are mainly represented by phenylalanine and tryptophan.

As can be seen in Table 7, sample 2 had three peptide sequences with high bioactive properties. They were the CYG peptides (25–27 in the sequence), the GHG peptides (13–15), and the AYG peptides (22–24), with bioactivity values of 0.947378, 0.839383, and 0.815664, respectively. Structurally, these bioactive peptides had aromatic rings represented by the aromatic $\alpha$-amino acid of tyrosine.

We found no correlation between the bioactivity values of the peptides and their molecular weight.

Table 6. Individual peptide sequences for hydrolysate Sample 1

Таблица 6. Характеристика отдельных пептидных последовательностей гидролизата образца № 1

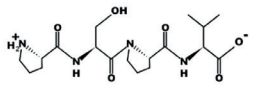
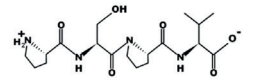
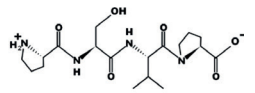
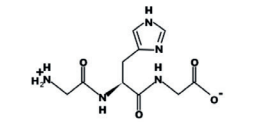
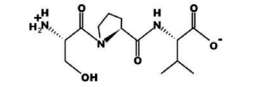
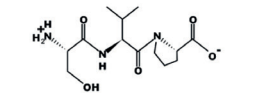
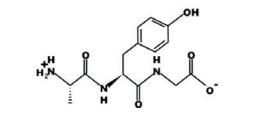
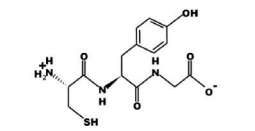
| The number of peptide in the chain | Peptide sequence in a one-letter code* | Molecular weight, g/mol | Bioactivity | Peptide structure |
|---|---|---|---|---|
| 1–4 | PILG | 398 | 0.492674 |  |
| 5–8 | PILV | 440 | 0.291507 |  |
| 9–11 | ILA | 315 | 0.237443 |  |
| 12–14 | ILG | 301 | 0.480965 |  |
| 15–17 | ILV | 343 | 0.123381 |  |
| 18–20 | ILT | 345 | 0.154222 |  |
| 21–23 | PSV | 301 | 0.166459 |  |
| 24–26 | GVS | 261 | 0.109533 |  |
| 27–29 | HGL | 325 | 0.446783 |  |
| 30–32 | HVI | 367 | 0.0887486 |  |
| 33–35 | SVP | 301 | 0.194373 |  |
| 36–37 | SV | 204 | 0.0523218 |  |
| 38–39 | FD | 280 | 0.922094 |  |
| 40–41 | NW | 318 | 0.934148 |  |

* A – alanine; C – cysteine; D – aspartic acid; E – glutamic acid; F – phenylalanine; G – glycine; H – histidine; I – isoleucine; K – lysine; L – leucine; M – methionine; N – asparagine; P – proline; Q – glutamine; R – arginine; S – serine; T – threonine; V – valine; W – tryptophan; Y – tyrosine.

* A – аланин; C – цистеин; D – аспарагиновая кислота; E – глутаминовая кислота; F – фенилаланин; G – глицин; H – гистидин; I – изолейцин; K – лизин; L – лейцин; M – метионин; N – аспарагин; P – пролин; Q – глутамин; R – аргинин; S – серин; T – треонин; V – валин; W – триптофан; Y – тирозин.

Table 7. Individual peptide sequences for hydrolysate sample 2

Таблица 7. Характеристика отдельных пептидных последовательностей гидролизата опытного образца № 2

| The number of peptide in the chain | Peptide sequence in a one-letter code* | Molecular weight, g/mol | Bioactivity | Peptide structure |
|---|---|---|---|---|
| 1–4 | ILKH | 509 | 0.162711 |  |
| 5–8 | PSPV | 398 | 0.390668 |  |
| 9–12 | PSVP | 398 | 0.327229 |  |
| 13–15 | GHG | 269 | 0.839383 |  |
| 16–18 | SPV | 301 | 0.222562 |  |
| 19–21 | SVP | 301 | 0.194373 |  |
| 22–24 | AYG | 309 | 0.815664 |  |
| 25–27 | CYG | 341 | 0.947378 |  |

* A – alanine; C – cysteine; D – aspartic acid; E – glutamic acid; F – phenylalanine; G – glycine; H – histidine; I – isoleucine; K – lysine; L – leucine; M – methionine; N – asparagine; P – proline; Q – glutamine; R – arginine; S – serine; T – threonine; V – valine; W – tryptophan; Y – tyrosine.

* A – аланин; C – цистеин; D – аспарагиновая кислота; E – глутаминовая кислота; F – фенилаланин; G – глицин; H – гистидин; I – изолейцин; K – лизин; L – лейцин; M – метионин; N – аспарагин; P – пролин; Q – глутамин; R – аргинин; S – серин; T – треонин; V – валин; W – триптофан; Y – тирозин.

We should note that the detection of more bioactive peptides by the *in silico* method should be confirmed by further *in vitro* experiments with various modifications of peptides. Based on literature, we can assume that some peptide sequences obtained in our study may have antimicrobial and antioxidant activity due to the presence of proline and leucine that have such properties [26]. Further *in vitro* experiments can determine the reliability of our results and identify specific bioactive properties of the studied peptides.

**Conclusion**

Based on the research results, we designed a flow chart for obtaining hydrolysates from poultry by-products. Then, we evaluated the bioactive properties of the peptides obtained. The hydrolysate sample obtained with a lower pepsin activity (30 units per 100 g of material) had greater bioactivity values in the FD and NW peptides (0.922094 and 0.934148, respectively). The sample obtained with a higher pepsin activity (45 units per 100 g of material) had higher bioactivity in the CYG, GHG, and AYG peptides (0.947378 units, 0.839383, and 0.815664, respectively). However, these data obtained *in silico* need to be confirmed by *in vitro* experiments for further work. Such experiments will determine their reliability and identify specific bioactive properties of the peptides.

**Contribution**

The authors were equally involved in writing the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Критерии авторства**

Авторы были в равной степени вовлечены в написание рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют, что конфликта интересов нет.

**References**

1. Patshina MV, Voroshilin RA, Osintsev AM. Global biomaterials market: Potential opportunities for raw materials of animal origin. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):270–289. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-270-289

2. Arihara K, Zhou L, Ohata M. Bioactive properties of Maillard reaction products generated from food protein-derived peptides. Advances in Food and Nutrition Research. 2017;81:161–185. https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.11.005

3. Chalamaiaha M, Keskin Ulug S, Hong H, Wu J. Regulatory requirements of bioactive peptides (protein hydrolysates) from food proteins. Journal of Functional Foods. 2019;58:123–129. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.050

4. Bhat ZF, Kumar S, Bhat HF. Bioactive peptides of animal origin: A review. Journal of Food Science and Technology. 2015;52(9):5377–5392. https://doi.org/10.1007/s13197-015-1731-5

5. Bazhenova BA, Zhamsaranova SD, Zabalueva YuYu, Gerasimov AV, Zambulaeva ND. Effects of lingonberry extract on the antioxidant capacity of meat paste. Foods and Raw Materials. 2020;8(2):250–258. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-250-258

6. Kaur K, Chhikara N, Sharma P, Garg MK, Panghal A. Coconut meal: Nutraceutical importance and food industry application. Foods and Raw Materials. 2019;7(2):419–427. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-419-427

7. Chernukha IM, Mashentseva NG, Afanasev DA, Vostrikova NL. Biologically active peptides of meat and meat product proteins: A review. Part 1. General information about biologically active peptides of meat and meat products. Theory and Practice of Meat Processing. 2019;4(4):12–16. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2019-4-4-12-16

8. Chernukha IM, Mashentseva NG, Afanasev DA, Vostrikova NL. Biologically active peptides of meat and meat product proteins: A review. Part 2. Functionality of meat bioactive peptides. Theory and Practice of Meat Processing. 2020;5(2):12–19. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2020-5-2-12-19

9. Chalamaiah M, Yu W, Wu J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. Food Chemistry. 2018;245:205–222. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.087

10. Milentyeva IS, Davydenko NI, Rasshchepkin AN. Casein proteolysis in bioactive peptide production: Optimal operating parameters. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(4):726–735. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-726-735

11. Ryazantseva KA, Agarkova EYu, Fedotova OB. Continuous hydrolysis of milk proteins in membrane reactors of various configurations. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):271–281. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-271-281

12. Fu Y, Zhang Y, Soladoye OP, Aluko RE. Maillard reaction products derived from food protein-derived peptides: Insights into flavor and bioactivity. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;60:3429–3442. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1691500

13. Rizzello CG, Tagliazucchi D, Babini E, Sefora Rutella G, Taneyo Saa DL, Gianotti A. Bioactive peptides from vegetable food matrices: Research trends and novel biotechnologies for synthesis and recovery. Journal of Functional Foods. 2016;27:549–569. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.023

14. Voroshilin RA. Technology of enzymatic-acid hydrolysis of bone raw material in production of gelatine. Theory and Practice of Meat Processing. 2021;6(3):279–284. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-3-279-284

15. Chalamaiah M, Dinesh Kumar B, Hemalatha R, Jyothirmayi T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. Food Chemistry. 2012;135(4):3020–3038. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100

16. Grishin DV, Podobed OV, Gladilina YuA, Pokrovskaya MV, Aleksandrova SS, Pokrovsky VS, *et al.* Bioactive proteins and peptides: Current state and new trends of practical application in the food industry and feed production. Problems of Nutrition. 2017;86(3):19–31. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00041

17. Skata R. Bioactive peptides and probiotics for functional meat products. Meat Technology. 2017;170(2):40–43. (In Russ.). [Ската Р. Биоактивные пептиды и пробиотики для функциональных мясных продуктов // Мясные технологии. 2017. Т. 170. № 2. С. 40–43.].

18. Capriotti AL, Cavaliere C, Piovesana S, Samperi R, Laganà A. Recent trends in the analysis of bioactive peptides in milk and dairy products. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2016;408(11):2677–2685. https://doi.org/10.1007/s00216-016-9303-8

19. Dinika I, Utama GL. Cheese whey as potential resources for antimicrobial edible film and active packaging production. Foods and Raw Materials. 2019;7(2):229–239. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-229-239

20. Daliri EB-M, Oh DH, Lee BH. Bioactive peptides. Foods. 2017;6(5). https://doi.org/10.3390/foods6050032

21. Lafarga T, Hayes M. Bioactive protein hydrolysates in the functional food ingredient industry: Overcoming current challenges. Food Reviews International. 2017;33(3):217–246. https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175013

22. Vilcacundo R, Martínez-Villaluenga,C, Hernández-Ledesma B. Release of dipeptidyl peptidase IV, *α*-amylase and *α*-glucosidase inhibitory peptides from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. Journal of Functional Foods. 2017;35:531–539. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.024

23. Babich O, Dyshlyuk L, Noskova S, Sukhikh S, Prosekov A, Ivanova S, *et al. In vivo* study of the potential of the carbohydrate-mineral complex from pine nut shells as an ingredient of functional food products. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2019;18. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2019.100185

24. Kehinde BA, Sharma P. Recently isolated antidiabetic hydrolysates and peptides from multiple food sources: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;60(2):322–340. https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1528206

25. Ashaolu TJ. Antioxidative peptides derived from plants for human nutrition: Their production, mechanisms and applications. European Food Research and Technology. 2020;246(5):853–865. https://doi.org/10.1007/s00217-020-03479-y

26. Lavelli V, Proserpio C, Gallotti F, Laureati M, Pagliarini E. Circular reuse of bio-resources: The role of *Pleurotus* spp. in the development of functional foods. Food and Function. 2018;9(3):1353–1372. https://doi.org/10.1039/C7FO01747B

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381
https://elibrary.ru/WIJQQE

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Характеристика сезонных изменений белкового состава молока хайнака

**Р. Ш. Элеманова**

*Кыргызский государственный технический университет им. И. Раззакова, Бишкек, Кыргызская Республика*

*Поступила в редакцию: 11.01.2022*
*Принята после рецензирования: 28.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

*Р. Ш. Элеманова: elemanova@kstu.kg, https://orcid.org/0000-0002-2974-958X*

*© Р. Ш. Элеманова, 2022*

**Аннотация.**
Вопрос изучения качественного состава молока, потребляемого населением, является актуальным. Цель исследования – изучение белкового состава молока хайнака (гибрид яка и коровы), разводимого в условиях высокогорья Северного Кыргызстана, в зависимости от сезона года.
Объектом исследования являлось молоко хайнака из фермерских хозяйств, расположенных в Иссык-Кульской области на высоте 2840 м над уровнем моря. Применялись стандартные методы исследования, в том числе ВЭЖХ-анализ и капиллярный электрофорез.
Массовая доля белка в молоке хайнака варьируется в пределах 3,91–4,39 %. Массовая доля белка в молоке хайнака весеннего, летнего и осеннего сезонов выше коровьего на 0,54, 1,02 и 0,84 % соответственно. Содержание общего азота в образцах молока трех сезонов коррелирует с массовой долей белка в них, т. е. к лету наблюдалось максимальное значение этого показателя – 0,689 ± 0,004 %. Содержание небелкового азота оставалось практически на одном уровне – 0,0489–0,0496 %. В весеннем молоке наблюдалось максимальное содержание сывороточных белков – на 0,2 % больше, чем в летнем (0,94 ± 0,05 %) и осеннем (0,97 ± 0,05 %). По содержанию казеиновых белков повышение отмечено в летнем молоке (на 1 % от холодного периода). Среднее содержание $\beta$-лактоглобулина в молоке хайнака составило 2,35 мг/см$^3$, $\alpha$-лактальбумина – 2,12 мг/см$^3$. По аминокислотному составу молоко хайнака сбалансировано, за исключением триптофана. В теплый сезон содержание большинства незаменимых аминокислот было выше, чем в холодный ($P < 0,05$), что соответствовало изменениям содержания общего белка.
Молоко хайнака отличается более высоким содержанием белка и отдельных составляющих в сравнении с коровьим. Это позволяет рекомендовать этот вид нетрадиционного молочного сырья для выработки белковых продуктов (сыра, творога и др.), в том числе функциональных.

**Ключевые слова.** Молоко, хайнак, сезон, массовая доля белка, небелковый азот, сывороточные белки, аминокислотный состав

**Финансирование.** Исследование проводилось в рамках гранта Японского агентства международного сотрудничества в Кыргызстане.

**Для цитирования:** Элеманова Р. Ш. Характеристика сезонных изменений белкового состава молока хайнака // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 555–569. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381
https://elibrary.ru/WIJQQE

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Seasonal Changes in the Protein Composition of Khainak Milk

**Rimma Sh. Elemanova**

*I. Razzakov Kyrgyz State Technical University, Bishkek, Kyrgyz Republic*

*Received: 11.01.2022*
*Revised: 28.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

*Rimma Sh. Elemanova: elemanova@kstu.kg, https://orcid.org/0000-0002-2974-958X*

*© R.Sh. Elemanova, 2022*

**Abstract.**
The qualitative composition of commercial milk is a relevant issue of the food industry. The khainak, or yattle, is a hybrid between the yak and domestic cattle. The research objective was to study the seasonal protein composition of khainak milk from the Northern Kyrgyzstan highlands.
The study featured samples of khainak milk obtained from farms located in the Issyk-Kul region at an altitude of 2840 m above sea level. Standard research methods included high pressure liquid chromatography and capillary electrophoresis.
Khainak milk has more protein than cow milk, and the mass fraction of protein in it is 3.91–4.39%. In this research, the mass fraction of protein in khainak milk obtained in spring, summer, and autumn exceeded that of cow milk by 0.54, 1.02, and 0.84%, respectively. The total nitrogen content correlated with the mass fraction of protein, i.e., it was at its highest in summer (0.689 ± 0.004%). The content of non-protein nitrogen remained almost the same (0.0489–0.0496%). Spring milk contained by 0.2% more whey protein than summer milk (0.94 ± 0.05%) and autumn milk (0.97 ± 0.05%). Summer milk demonstrated a 1% increase in casein proteins, compared to spring and autumn samples. The average $\beta$-lactoglobulin content was 2.35 mg·mL$^{-1}$, while $\alpha$-lactoalbumin was 2.12 mg·mL$^{-1}$ of the total albumin fraction. In terms of amino acid composition, khainak milk was balanced except for tryptophan. In the warm season, the content of essential amino acids was higher than in the cold season ($P < 0.05$), which corresponded to the changes in total protein content.
Khainak milk is richer in protein and some other components than cow milk, which makes it a valuable non-traditional dairy raw material for such protein products as cheese or cottage cheese, including their functional variants.

**Keywords.** Milk, khainak, season, protein content, non-protein nitrogen, whey protein, amino acids

**Funding.** The research was conducted as part of a grant from the Japan International Cooperation Agency (JICA) in Kyrgyzstan.

**For citation:** Elemanova RSh. Seasonal Changes in the Protein Composition of Khainak Milk. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):555–569. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381

## Введение

Постановлением Правительства Кыргызской Республики № 320 от 27 июня 2019 г. утверждена «Программа продовольственной безопасности и питания в Кыргызской Республике на 2019–2023 годы». В числе приоритетных задач обозначены стимулирование отечественного производства основных продуктов питания за счет роста эффективности сельского хозяйства и искоренение всех форм недоедания и недостаточного питания.

Однако на начало 2022 г. все еще актуальной остается проблема достижения полноценного питания населения в стране, в том числе обеспечение продуктами, богатыми белковой составляющей. В 2019 г. около 48 % населения Кыргызской Республики не могло себе позволить здоровое питание. Это было связано с его высокой стоимостью – $5,23 в сутки. Потребление белка далеко от необходимого суточного уровня, особенно в беднейших регионах. По данным Национального статистического комитета Кыргызской Республики на 2019 г. потребление молока и молочных продуктов на душу населения составляет 84 кг/год, тогда как нормой считается в среднем 200 кг/год.

Сельское хозяйство является ключевым сектором экономики Кыргызской Республики: в нем занято около 40 % рабочей силы страны. Однако проблема обеспечения населения базовыми продуктами питания остается нерешенной. Для ее решения рассмотрены вопросы диверсификации рациона питания,

а именно поиск новых источников пищевого сырья с повышенным содержанием полноценных белков.

Наряду с коровьим молоком набирает обороты спрос на нетрадиционное молоко и получаемую из него продукцию [1–3]. По данным Национального статистического комитета Кыргызской Республики, на 2020 г. поголовье коров составляло 855,5 тыс., объемы производства сырого молока – 1668 тыс. т. Кроме того, практикуется разведение яков. Это связано с географическими особенностями Кыргызстана, где имеется более 1 млн га высокогорных труднодоступных пастбищных угодий, использование которых эффективно исключительно для разведения яков [4]. Поголовье яков Кыргызской Республики сосредоточено в следующих видах (категориях) хозяйств: в крестьянских (фермерских) – 21,6 тыс., личных подсобных хозяйствах граждан – 10,9 тыс., коллективных – 2,3 тыс. и в государственных – 1,4 тыс. Самое большое количество яков разводится в Нарынской и Иссык-Кульской областях, меньше – в Ошской [5]. Население низменных районов о яках мало знает, но для жителей горных местностей они всегда были и будут ценным источником мяса и молока. Молочная продуктивность ячих невелика и составляет в среднем 709 л за год [6]. При таких надоях ячье молоко остается только употреблять для домашних нужд, поскольку объектом продажи его сделать трудно. В районах разведения яков излишки молока продаются на рынках, но в ограниченных объемах. Статистический учет объемов производства молока яка и его гибрида в республике не ведется.

По географическому ареалу распространения яков встречается также его гибрид с коровой (*Bos grunniens*×*Bos taurus*) – хайнак или хайнык, дзо (монг. хайнаг) [7–12]. Гибридизация яка и крупного рогатого скота происходит естественным и искусственным путями. В естественных условиях як и крупный рогатый скот имеют ограниченный размах гибридизации [13].

Гибриды крупного рогатого скота и яка отличаются такой же устойчивостью к высокогорью, как и чистокровные яки, но имеют высокий надой молока даже на более низких высотах [14]. Гибриды характеризуются гетерозисом по удоям и содержанию жира по сравнению с чистокровными яками [15]. Также гибриды имеют более высокую эффективность использования грубых кормов, чем крупный рогатый скот, что может быть отнесено к яку-родителю [7, 16]. Кроме того, некоторые характеристики качества молока у потомства могут быть отнесены либо к яку, либо к корове. Например, более высокое содержание минералов и незаменимых аминокислот, которые обладают противовоспалительными свойствами [17– 22].

Лактация коров яков и хайнаков продолжается с апреля – мая по октябрь – ноябрь. Доение самок яков и их гибридов, как и коров крупного рогатого скота, происходит с подпуском телят. Молочная продуктивность яков и хайнаков невелика, но их молоко очень ценится. По своей питательной ценности оно может заменить 3–4 л коровьего молока. В среднем ячиха дает 300 л за лактацию, корова хайнака – 600–700 л [23]. Гибрид яка и индийской горной коровы, называемый на аборигенном языке «чури», производит больше молока, чем корова. Также молоко «чури» отличается более высокой жирностью, чем коровье [24].

Удой бурятских яков за 180–210 дней лактации в среднем составил 356 кг при средней жирности 6,6 %. Молоко яков, выпасаемых на пастбищах Кабардино-Балкарской Республики, содержит 7,9 % жира, 5,8 % белка и 5,6 % молочного сахара. Химический состав молока ячих, разводимых в суровых условиях Кош-Агачского района Республики Алтай, следующий: 7,7 % жира, 5,3 % белка и 5,1 % лактозы [25].

Молоко яка и хайнака, в отличие от коровьего, имеет более высокую плотность и содержит больше жира, белков, углеводов и жирорастворимых витаминов, в частности каротина, который придает молоку желтый цвет и высокие вкусовые качества.

Особенность молока яка и хайнака – это мощная коагуляция из-за высокого содержания белков и минеральных веществ (соли кальция и фосфора). Внутренняя часть мицелл казеина представлена гидрофобными $\alpha$- и $\beta$-казеинами. Поверхность мицелл покрыта $\kappa$-казеинами, в состав которых входят длинные гидрофильные макропептидные цепочки, образующие «волосковый» защитный слой, не позволяющий мицеллам слипаться в водном растворе. Условия коагуляции при сычужном свертывании молока связаны с тем, что макропептидные «волоски» $\kappa$-казеина отщепляются химозином. Во время кислотной коагуляции смещается ионное равновесие с уменьшением электрического заряда макропептидных «волосков». Кроме того, дополнительный заряд мицелл возникает при диссоциации мицеллярного казеината кальция, зависящей от концентрации ионов кальция. Это объясняет роль кальция в коагуляции молока [26, 27]. Особые условия коагуляции казеина молока хайнака не подтверждены литературными источниками. Влияние генетических вариантов молочного белка на физико-химические свойства и функциональность молока, включая сычужную и кислотную коагуляцию, термостабильность, пенообразование и возможное влияние на протеолиз, остаются актуальными темами исследований, особенно с точки зрения выбора направления молока для конкретных целей. Установлено, что генотип $\beta$-CN влияет на надои, выход жира и белка, а на содержание белка – генотипы $\alpha_{S1}$-CN и $\kappa$-CN. На свертывание молока влияют генотипы $\alpha_{S1}$-CN, $\beta$-CN, $\kappa$-CN, $\beta$-LG и их соединения. Влияние генетических вариантов на термостабильность связано только с $\kappa$-CN и $\beta$-LG [28].

Таблица 1. Химический состав молока яка, хайнака и крупного рогатого скота [29]

Table 1. Chemical composition of yak, khainak, and cow milk samples [29]

| Показатели | Монгольский крупно рогатый скот | Як | Хайнак |
|---|---|---|---|
| Массовая доля жира, % | 4,28 | 6,79 | 5,58 |
| Массовая доля общего белка, % | 3,42 | 5,03 | 4,29 |
| Массовая доля лактозы, % | 4,75 | 5,10 | 4,84 |
| Плотность, °А | 29,61 | 33,08 | 32,00 |
| Сухие вещества, % | 13,25 | 17,78 | 15,64 |
| Минеральные вещества, % | 0,88 | 0,89 | 0,93 |
| Соли кальция, мг/100 мл | 124,91 | 130,60 | 134,00 |
| Соли фосфора, мг/100 мл | 97,82 | 106,22 | 134,82 |

Химический состав молока яка, хайнака и крупного рогатого скота показан в таблице 1.

Молока хайнака, обитающего в Кыргызстане, содержит 17,26–17,85 % сухих веществ, в числе которых жир 6,6–6,8 %, белок 5,5–5,7 %, казеин 4,1–4,2 % и лактоза 4,2–4,4 % [4].

На надои и состав молока влияют сезонные изменения, а также период лактации, изменяющиеся в течение года рационы кормления, условия содержания животных и др.

В исследовании [30] оценивалось влияние различных групп гибридов крупного рогатого скота и яка (*Dimjo Chauries* – чаури), обитающих в непальских гималайских горах на высоте 4200 м над уровнем моря, на удои и состав молока в разные сезоны. Максимальный суточный надой с получением молока высокой калорийности отмечен в пик летнего сезона (июль). К осени содержание белка снижается. Эти различия автор объясняет качественной и количественной доступностью корма.

Отел у ячих и хайнаков начинается в конце марта и длится до мая. Такая выраженная сезонность обеспечивает рождение молодняка только в благоприятные месяцы, а круглогодичное пастбищное содержание стимулирует его рост и развитие. Молозиво яков и их гибридов отличается высоким содержанием сухого вещества. Молозивный период продолжается 6–8 дней и через 2–4 дня происходит снижение содержания жира и белка в молозиве. По химическому составу молозиво гибридов (хайнаков) занимает промежуточное положение между исходными видами, т. е. ячихами и коровами [31]. Молозиво гибридов содержит в 5 раз больше белков, чем обычное молоко. Это увеличение обеспечивается сывороточными белками, которые являются для новорожденных телят основным источником защитных иммуноглобулинов, лизоцима, функционально активных лейкоцитов и лимфоцитов. В белках молозива преобладают перевариваемые альбумины и глобулины [32].

В зависимости от сезона года претерпевает изменения также аминокислотный состав белков молока [33].

За последние полвека нет данных по химическому составу молока кыргызских хайнаков, разводимых в условиях экстремального высокогорья, хотя местное население использует его в достаточном количестве.

В Кыргызстане на высокогорных пастбищах во время зимних стоянок животноводческие постройки представляют собой огороженные загоны. Яков и их гибридов в помещение не закрывают. Они сами могут заходить в укрытие при сильном снижении температуры воздуха или усилении ветра. С приходом весны и сходом снега животные выпасаются в долинах недалеко от жилища человека. Перекочевка высоко в горы на летние пастбища происходит в конце мая – начале июня. К этому времени травянистый покров на высокогорных пастбищах достигает достаточной высоты. На высокопродуктивных альпийских и субальпийских лугах животные хорошо нагуливаются, подрастает молодняк. Яков и хайнаков пригоняют с летних пастбищ в долины во второй половине сентября. Здесь они выпасаются до установления высокого снежного покрова, а затем кормятся по горным склонам, свободным от сплошного снега. К началу зимы молочная продуктивность хайнаков резко снижается и вскоре лактация прекращается.

Цель работы – изучить сезонные изменения белкового состава молока хайнака, разводимого в Кыргызстане, для последующей оценки технологической направленности его переработки.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи:

– исследовать молоко хайнака весеннего, летнего и осеннего сезонов на содержание белка, небелкового азота, белков сывороточной и казеиновой фракций, а также аминокислотный состав;
– определить биологическую ценность белков молока хайнака.

**Объекты и методы исследования**

Объектом экспериментальных исследований, проведенных в период с 2019 по 2021 гг., стало молоко хайнака из фермерских хозяйств, расположенных в Иссык-Кульской области Кыргызской Республики на высоте 2840 м над уровнем моря. Образцы были взяты у пяти лактирующих хайнаков с одинаковыми периодами отела (30–40-ой день лактации). Сборное молоко отбирали в чистую, заранее подготовленную посуду. Отфильтрованное через тканый фильтр молоко наливали в специальные стерильные пакеты для хранения и замораживания молока.

Часть лабораторных исследований молока по определению белкового состава за 2021 г. проведена в ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности».

Для определения белкового состава применяли следующие методы анализа:

– массовая доля белка и общего азота – методом Кьельдаля по ГОСТ 23327-98;
– содержание сывороточных белков – по ГОСТ 34536-2019;
– содержание небелкового азота – по ГОСТ Р 55246-2012;
– содержание казеиновых белков – по СТБ ISO 17997-1-2012;
– содержание лактоферрина – по ГОСТ 33600-2015;
– массовая доля истинного белка – по ГОСТ Р 52054-2003.

***Подготовка проб сыворотки молока хайнака для проведения ВЭЖХ-анализа.*** Молоко хайнака содержит большое количество казеина, который затрудняет использование хроматографических методов. Процедура подготовки проб заключалась в осаждении казеиновой фракции исследуемого образца. Обезжиренное молоко хайнака нагревали на водяной бане до температуры 40–45 °С и постепенно вносили 10 %-ный раствор уксусной кислоты до достижения pH 4,6. По истечении 30 мин свернувшееся молоко охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 мин. Полученный фильтрат хранили при 4 °С.

***Методика ВЭЖХ-анализа сыворотки молока хайнака.*** Для исследования пептидного состава образцов использовалась хроматографическая колонка ReproSil-Pur 300 ODS-3.5 мкм 250×4,6 мм с химически привитой октадецилсилановой фазой, которая способна удерживать белки за счет гидрофобных связей, и размером пор 300 Å, позволяющим пептидам полноценно связываться с неподвижной фазой. Разделение проводили при помощи хроматографической системы фирмы Маэстро (Россия), оборудованной двумя насосами и динамическим смесителем, которые позволяют проводить градиентное элюирование аналитов в программируемом составе подвижной фазы. В качестве компонентов подвижной фазы были использованы бидистиллированная вода с добавлением в качестве ион-парного реагента трифторуксусной кислоты в количестве 0,1 % по объему и ацетонитрил как органический растворитель также с добавкой трифторуксусной кислоты 0,1 % по объему. Анализ образцов проводили при комнатной температуре со скоростью потока подвижной фазы 1 мл/мин. Объем вводимой пробы составил 20 мкл. Долю ацетонитрила в процессе проведения анализа увеличивали с 5 до 60 % в течение 30 мин. Обнаружение проводили при 214 нм с использованием спектрофотометрического детектора. Измерения произведены в 3-х повторностях.

***Методика приготовления образцов для отгонки аммиака и проведения анализа.*** Молоко хайнака обезжиривали центрифугированием при 10000 об/мин в течение 10 мин. Пробы молока доводили до температуры 20 ± 2 °С. Минерализацию образца проводили в присутствии концентрированной серной кислоты, окислителя и катализатора при температуре 420 °С. После полной минерализации приступали к отгонке аммиака в растворе борной кислоты и последующему количественному определению аммиака титриметрическим методом. Исследования проводили с применением следующего оборудования: для минерализации проб – дигестор HYP-320 (Hanon, Китай), для отгонки аммиака – автоматизированный дистиллятор K9840 (Hanon, Китай).

***Методика определения аминокислотного состава.*** Определение аминокислотного состава проводили с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель-205» (ООО Люмэкс, Россия). Измерения проводили в 2-х повторностях. За основу была взята методика М 04-38-2009. При подготовке проб с учетом получения производных использовали кислотный гидролиз. Для определения триптофана использовали щелочной гидролиз и прямое определение без получения производных. Для исследования каждого образца отбирали по три навески массой 2,5 г. К навеске № 1 последовательно добавляли 2,5 см$^3$ деминерализованной воды и 5 см$^3$ концентрированной соляной кислоты, герметично закрывали крышкой и перемешивали. Навеску № 2 помещали в кварцевую чашку и добавляли 5,0 см$^3$ свежеприготовленной окислительной смеси (смесь перекиси водорода и муравьиной кислоты в пропорции 1:9) для окисления пробы и защиты *Asp+Asn*, *Glu+Gln* и *Cys-Cys*. Смесь перемешивали и упаривали в потоке горячего воздуха досуха. Сухой остаток растворяли в 10 см$^3$ соляной кислоты в соотношении 1:1 с дистиллированной водой. К навеске № 3 добавляли горячий 50 %

Таблица 2. Схема проведения анализа

Table 2. Analysis scheme

| Параметры | Значение | | |
|---|---|---|---|
| | Схема анализа № 1 | Схема анализа № 2 | Схема анализа № 3 |
| Определяемые компоненты в порядке выхода | *Arg*, *Lys*, *Tyr*, *Phe*, *His*, *Leu+Ile*, *Met*, *Val*, *Hyp*, *Pro*, *Thr*, *Ser*, *Ala*, *Gly* | *Glu+Gln*, *Asp+Asn*, *Cys-Cys* | *Trp* |
| Температура, °C | 30 | | |
| Длина волны, нм | 254 | | 219 |
| Ввод пробы | 30 мбар, 5 с | | |
| Напряжение, кВ | 25 | | |
| Давление, мбар | 0 | 50 | 0 |
| Время анализа, мин | 15–16 | 12 | 6–7 |
| Фоновый электролит | 30 ммоль/дм$^3$ фосфат-ионов, 4 ммоль/дм$^3$ $\beta$-циклодекстрина | | 20 ммоль/дм$^3$ тетрабората натрия |

Таблица 3. Белковый состав молока хайнака в зависимости от сезона года

Table 3. Protein content of khainak milk depending on the season

| Показатели, % | Молоко хайнака сырое (собственные данные) | | | | Молоко коровье сырое [1] |
|---|---|---|---|---|---|
| | Весна (май) | Лето (август) | Осень (октябрь) | Среднее | |
| Массовая доля белка | 3,91 ± 0,06 | 4,39 ± 0,06 | 4,34 ± 0,06 | 4,21 ± 0,06 | 3,37 ± 0,09 |
| Содержание общего азота | 0,613 ± 0,004 | 0,689 ± 0,004 | 0,678 ± 0,004 | 0,66 ± 0,03 | 0,528 ± 0,006 |
| Содержание небелкового азота | 0,0489 ± 0,0030 | 0,0486 ± 0,0030 | 0,0301 ± 0,0030 | 0,0425 ± 0,0008 | 0,0320 ± 0,0030 |
| Массовая доля истинного белка | 3,59 ± 0,06 | 4,08 ± 0,06 | 4,13 ± 0,06 | 3,93 ± 0,24 | 3,16 ± 0,06 |
| Содержание сывороточных белков | 1,13 ± 0,05 | 0,94 ± 0,05 | 0,97 ± 0,05 | 1,01 ± 0,08 | 0,82 ± 0,05 |
| Содержание казеиновых белков | 2,47 ± 0,03 | 3,43 ± 0,03 | 3,16 ± 0,03 | 3,02 ± 0,40 | 2,57 ± 0,04 |
| Соотношение казеиновых и сывороточных белков | 71,1/28,9 | 78,6 /21,4 | 76,5/23,5 | 75,4/24,6 | 72,3/23,7 |

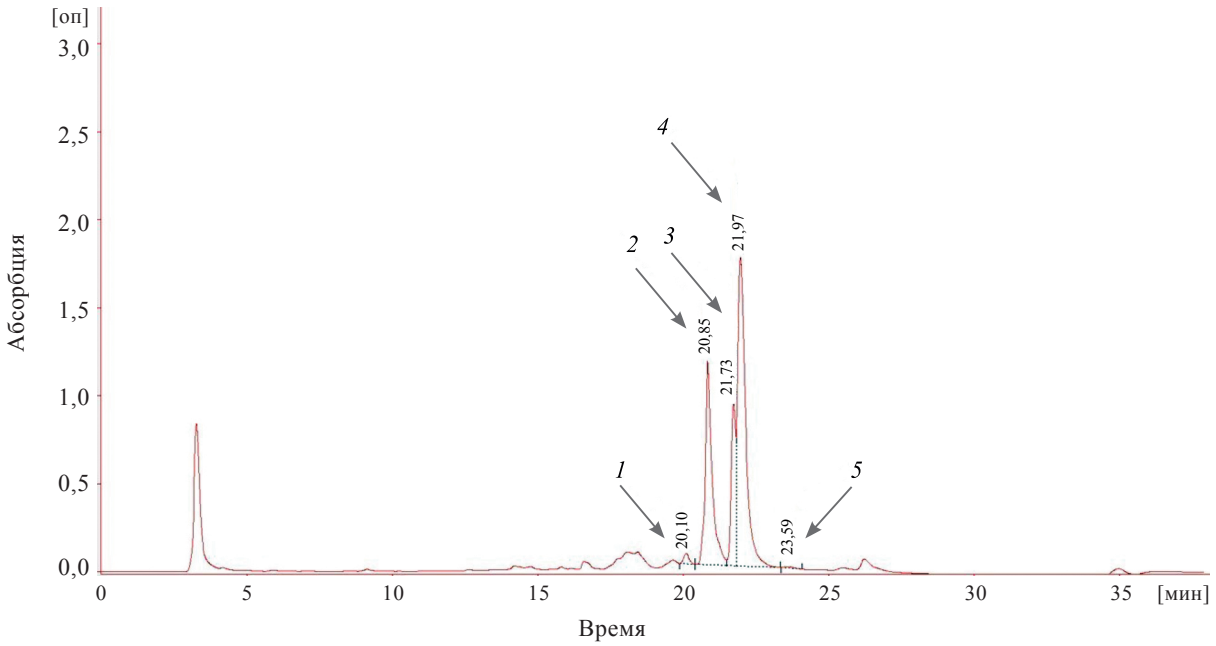
раствор гидроксида бария и перемешивали. Все пробы оставляли для проведения гидролиза в сушильном шкафу при температуре 110 °C на 14–16 ч. Горячий раствор с навеской № 3 переносили в мерную колбу на 50 см$^3$ с предварительно внесенной горячей деминерализованной водой 15–20 см$^3$. Далее в колбу добавляли несколько капель раствора метилового красного, а для нейтрализации раствора вносили раствор серной кислоты с концентрацией 2,0 моль/дм$^3$ до появления розовой окраски. Далее раствор охлаждали до комнатной температуры и доводили до метки деминерализованной водой. Для триптофана использовали прямое детектирование. Поэтому отбирали 1,5 см$^3$ полученного раствора и помещали в пробирку типа «Эппендорф», которую центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин. Схема проведения анализа приведена в таблице 2.

***Статистическая обработка результатов.*** Статистическую обработку и обобщение экспериментальных данных проводили при помощи прикладных сервисных программ Microsoft Office Excel 2010. Табличные результаты представлены как среднее арифметическое значение ± доверительный интервал. Достоверность различий между выборками данных определяли методом доверительных интервалов. Различия между средними значениями сравнивали при уровне значимости $P < 0,05$.

**Результаты и их обсуждение**

В ходе исследования был изучен белковый состав молока хайнака в зависимости от сезона года (весна, лето, осень) (табл. 3).

Согласно данным таблицы 3 массовая доля белка в молоке хайнака весеннего, летнего и осеннего сезонов превышала содержание белка в коровьем молоке на




*1* – альбумин сыворотки крови, *2* – *α*-лактальбумин, *3* – *β*-лактоглобулин А, *4* – *β*-лактоглобулин В, *5* – лактоферрин

Рисунок 1. Хроматографический профиль ВЭЖХ-анализа белков сыворотки молока хайнака при 214 нм

Figure 1. Chromatographic profile of HPLC analysis of khainak whey proteins at 214 nm

0,54, 1,02 и 0,84 % соответственно. Молоко летнего периода отличалось повышенным содержанием белка, что объясняется изменением качественного состава травяного покрова пастбищ. Растительный покров Иссык-Кульских альпийских лугов (2000–3500 м над уровнем моря) характеризуется наземными лишайниками, мхом, злаковыми (овсяница красная и Крылова, мятлик альпийский, осока) и разнотравьем. Более высокое содержание молочного белка в летний период подтверждается тем фактом, что к этому времени корма имели оптимальный рост с низким содержанием клетчатки, т. е. с повышенным образованием пропионовой кислоты при переваривании в рубце, которая используется для синтеза лактозы и белка [34]. Литературные данные подтверждают зависимость суточного надоя и получения молока с высокой калорийностью у лактирующих гибридов в июле от качества травы, когда травы на гималайских альпийских пастбищах начинают созревать [35].

Содержание общего азота в образцах молока трех сезонов коррелирует с массовой долей белка в них, т. е. к лету наблюдалось увеличение этого показателя. Содержание небелкового азота оставалось практически на одном уровне в весеннем и летнем молоке (0,0489 и 0,0496 %). Согласно данным [18] содержание небелкового азота в молоке менее изменчиво. Изменения зависят от температуры окружающей среды и аналогичны изменениям содержания белка.

Содержание сывороточных белков в молоке хайнака в лактационный период было выше весной, летом и осенью, чем в коровьем, на 0,31, 0,12 и 0,15 % соответственно. В весеннем молоке хайнака (в первые месяцы лактации) наблюдалось большее содержание сывороточных белков (примерно на 0,2 %), чем в летнем и осеннем. Однако известны данные о том, что содержание сывороточных белков в молоке китайского яка (*Maiva*) практически не изменилось между холодным и теплым сезонами [18].

По содержанию казеиновых белков повышение отмечено в летнем молоке хайнака (примерно на 1 % от холодного периода). Это согласуется с литературными данными, где отмечено, что суммарное содержание казеина в белке коровьего молока черно-пестрой породы возрастало до максимума в летние месяцы [36].

Хроматографический профиль ВЭЖХ-анализа белков сыворотки молока хайнака приведен на рисунке 1. Сравнительный количественный анализ основных сывороточных белков молока хайнака, в зависимости от сезона года, представлен в таблице 4.

Состав и содержание сывороточных белков молока хайнака зависят от генотипов крупного рогатого скота и яка. В геном белков молока хайнака войдут аллели соответствующих сывороточных белков от коровы и яка. Каждая из коров хайнака будет содержать

Таблица 4. Содержание отдельных фракций сывороточных белков в молоке хайнака в зависимости от сезона года

Table 4. Fractions of whey proteins in khaynak milk depending on the season

| Содержание фракций сывороточных белков, мг/см$^3$ | Молоко хайнака сырое (собственные данные) | | | | Коровье молоко [17] | Ячье молоко [17] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Весна (май) | Лето (август) | Осень (октябрь) | Среднее | | |
| Альбумин сыворотки крови (BSA) | 1,250 ± 0,005 | 1,280 ± 0,005 | 1,440 ± 0,005 | 1,320 ± 0,080 | 0,41 | 1,49 |
| $\alpha$-лактальбумин ($\alpha$-LA) | 2,10 ± 0,010 | 2,260 ± 0,010 | 2,010 ± 0,010 | 2,120 ± 0,103 | 1,24 | 0,72 |
| $\beta$-лактоглобулин А ($\beta$-LG A) | 0,690 ± 0,003 | 0,770 ± 0,003 | 0,930 ± 0,003 | 0,790 ± 0,090 | 3,30 | 0,74 |
| $\beta$-лактоглобулин Б ($\beta$-LG B) | 1,730 ± 0,008 | 1,480 ± 0,008 | 1,480 ± 0,008 | 1,560 ± 0,110 | | 5,49 |
| Лактоферрин | < 0 ,05 | 0,072 | 0,62 | 0,34 ± 0,20 | – | – |

в аллелях различные белки в зависимости от особенности гибридизации крупного рогатого скота и яка. Коровье молоко может быть гомозиготным, когда коровы содержат один и тот же тип варианта, или гетерозиготным, когда присутствуют два разных варианта с аллельным совместным доминированием [30, 37]. Имеющиеся в литературе немногочисленные данные о сывороточных белках молока яка и его гибрида с крупным рогатым скотом ограничивают обсуждение.

Согласно данным таблицы 4 среднее содержание альбумина сыворотки крови в молоке хайнака практически приближено к его содержанию в ячьем молоке – 1,32 и 1,49 мг/см$^3$ соответственно. Возможно, здесь сказывается генотип яка. Авторы [17] отмечали, что в среднем доля альбумина сыворотки крови в молоке яка была выше, по сравнению с коровьим, а индивидуальные вариации были высокими.

$\alpha$-Лактальбумин имеет два преобладающих генетических варианта (А и Б) [38]. Вариант Б обнаруживается в молоке большинства пород европейского крупного рогатого скота (*Bos taurus*), а в молоке индийского крупного рогатого скота (*Bos indicus*) встречаются оба варианта (Jenness, 1974). Разница между вариантами заключается в том, что вариант А в 10-ом положении белковой структуры содержит *Glu*, а вариант Б – *Arg* (Гордон, 1971). L. Wang и др. сообщили, что $\alpha$-LA (L8IIC8) в молоке яка имел 123 аминокислоты, их последовательность отличалась от $\alpha$-LA коровьего молока. В молоке домашнего яка аминокислотой в 71-ом положении был *Asn* (N), в коровьем – *Asp* (D) [39]. Эти различия проявляются в процессе хроматографии на времени удержания $\alpha$-LA. Время удержания $\alpha$-LA молока хайнака в минутах наступает раньше коровьего (на 19,5) и ячьего (на 18,25).

В исследуемом молоке хайнака из общего количества сывороточных белков $\alpha$-LA являлся вторым по содержанию (2,12 мг/см$^3$) после $\beta$-LG и превышал среднее содержание как в коровьем (1,24 мг/см$^3$), так и в ячьем молоке (0,72 мг/см$^3$). Его повышенное содержание в молоке хайнака представляет особый интерес и требует дальнейшего обсуждения и изучения. Литературные данные подтверждают, что $\alpha$-LA, являясь вторым основным сывороточным белком в коровьем молоке (2–5 % от общего белка), участвует в синтезе лактозы и способствует секреции молока. $\alpha$-LA связывает двухвалентные катионы ($Ca^{2+}$, $Zn^{2+}$) и может способствовать усвоению основных минералов. Кроме того, он обеспечивает хорошо сбалансированный запас незаменимых аминокислот для растущего организма. При его переваривании образуются пептиды с антибактериальными и иммуностимулирующими свойствами, что способствует защите от инфекции. $\alpha$-Лактальбумин может быть добавлен в смеси для детского питания для повышения его биологической ценности [40].

Среднее содержание $\beta$-лактоглобулина в молоке хайнака составило 2,35 мг/см$^3$. Время удержания $\beta$-LG молока хайнака в минутах наступает раньше коровьего (на 32,44) и ячьего (на 12,53). $\beta$-LG – основной сывороточный белок коровьего молока. Он является небольшим, димерным и растворимым в разбавленных солевых растворах [41]. Основное отличие между вариантами $\beta$-LG A и $\beta$-LG B заключается в наличии мутации D64G в остатках аминокислот 61–67, которая определяет их конформацию и делает вариант $\beta$-LG A менее растворимым. Это обеспечивает лучшие свойства олигомеризации и гелеобразования [42]. Содержание этих вариантов $\beta$-LG в молоке коров полностью зависит от генотипа. Гомозиготные животные будут содержать $\beta$-LG AA или $\beta$-LG BB, гетерозиготные – $\beta$-LG AB. Вариант AA связан с благоприятным производством молока и белка, тогда как вариант BB связан с высоким содержанием жира. Вариант AB связан с более высоким содержанием белка, в том числе казеина, за ним следуют варианты AA и BB [43]. Более высокое содержание казеина наблюдается в порядке BB > AB > AA, а для содержания сывороточного белка было AA, AB > BB [28]. Согласно данным L. Wang и др. $\beta$-LG ячьего молока имел 2 варианта: $\beta$-LG A (P02754) и $\beta$-LG E (L8J1Z0). Молоко домаш-

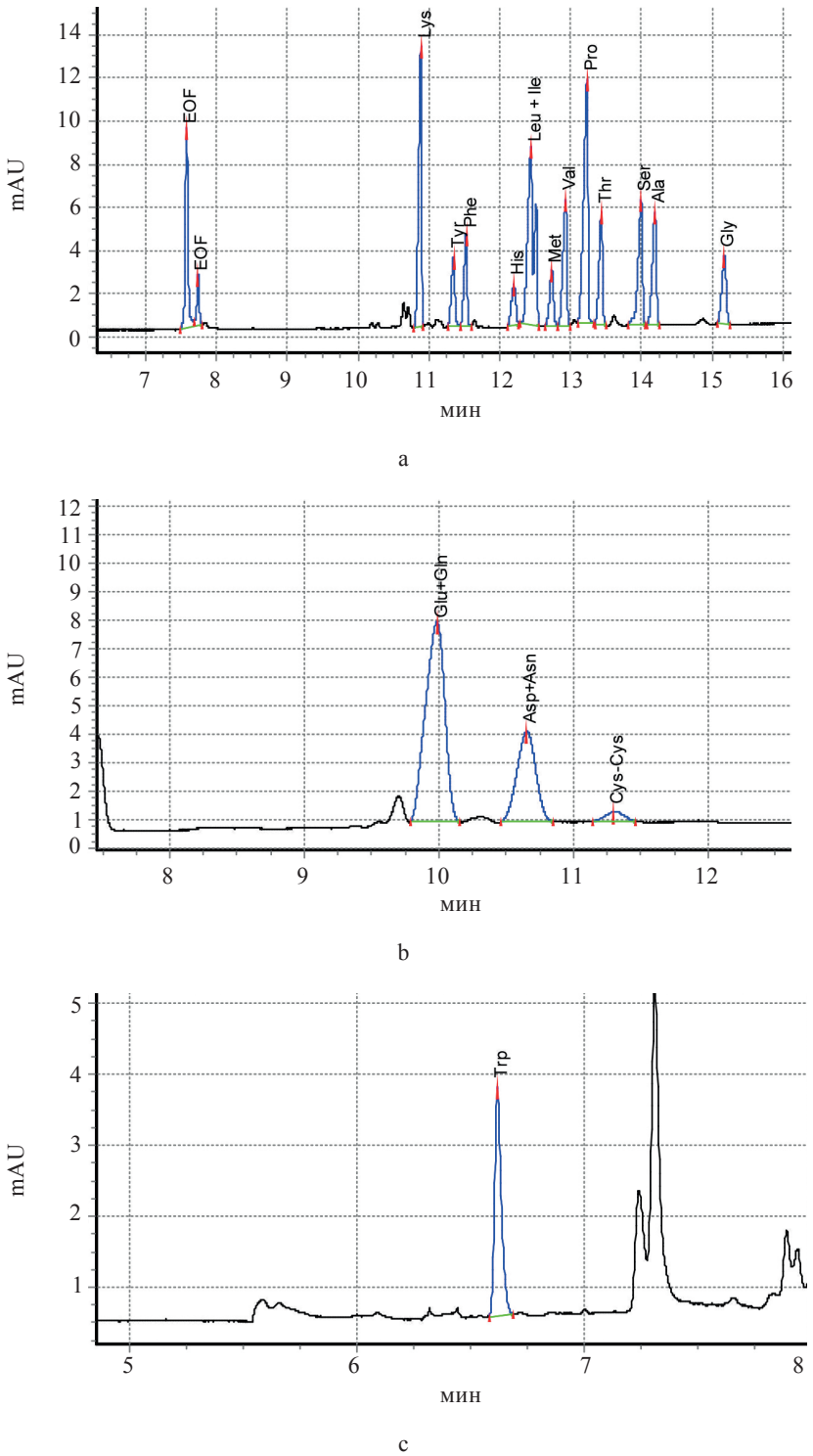



Рисунок 2. Электрофореграммы аминокислотного анализа белков молока хайнака (a – *Arg*, *Lys*, *Tyr*, *Phe*, *His*, *Leu+Ile*, *Met*, *Val*, *Hyp*, *Pro*, *Thr*, *Ser*, *Ala*, *Gly*; b – *Glu+Gln*, *Asp+Asn*, *Cys-Cys*; c – *Trp*)

Figure 2. Electropherograms of amino acid analysis of khainak milk proteins: a – *Arg*, *Lys*, *Tyr*, *Phe*, *His*, *Leu+Ile*, *Met*, *Val*, *Hyp*, *Pro*, *Thr*, *Ser*, *Ala*, *Gly*; b – *Glu+Gln*, *Asp+Asn*, *Cys-Cys*; c – *Trp*

них и диких яков содержало $\beta$-LG E, который отсутствовал в коровьем. У ячьего молока аминокислотой в 158-ом положении $\beta$-LG E был *Gly* (G), у крупного рогатого скота – *Glu* (E). Вторичные структуры $\alpha$-LA и $\beta$-LG яка отличались от таковых в коровьем молоке. Температуры денатурации

Таблица 5. Аминокислотный состав молока хайнака

Table 5. Amino acid composition of khainak milk

| Аминокислоты, мг/100 г | Молоко хайнака сырое (собственные данные) | | | | Коровье молоко [18] | Ячье молоко [18] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Весна (май) | Лето (август) | Осень (октябрь) | Среднее значение | | |
| Незаменимые аминокислоты | 1777 | 1956 | 1740 | 1824 | 1330 | 1950 |
| Треонин | 160 | 200 | 180 | 180 | 150 | 190 |
| Валин | 230 | 240 | 200 | 223 | 160 | 260 |
| Метионин | 100 | 115 | 110 | 108 | 60 | 110 |
| Лейцин+изолейцин | 550 | 590 | 480 | 540 | 430 | 670 |
| Фенилаланин | 220 | 270 | 250 | 247 | 160 | 220 |
| Лизин | 350 | 370 | 360 | 360 | 270 | 380 |
| Гистидин | 140 | 150 | 140 | 143 | 100 | 120 |
| Триптофан | 27 | 21 | 20 | 23 | 50 | – |
| Заменимые аминокислоты | 1834 | 2394 | 2275 | 2168 | 1950 | 2720 |
| Цистеин | 24 | 39 | 30 | 31 | 20 | 40 |
| Аргинин | 150 | 160 | 155 | 155 | 110 | 160 |
| Пролин | 440 | 490 | 480 | 470 | 320 | 460 |
| Аспарагиновая кислота | 200 | 290 | 270 | 253 | 260 | 330 |
| Серин | 230 | 270 | 260 | 253 | 160 | 230 |
| Глутаминовая кислота | 330 | 610 | 580 | 507 | 770 | 1050 |
| Глицин | 85 | 107 | 100 | 97 | 60 | 120 |
| Аланин | 160 | 208 | 190 | 186 | 100 | 140 |
| Тирозин | 215 | 220 | 210 | 215 | 150 | 220 |
| Общее содержание аминокислот | 3611 | 4350 | 4015 | 3992 | 3280 | 4670 |

$\alpha$-LA и $\beta$-LG ячьего молока составили 52,1 и 80,9 °C соответственно [39].

Соотношение $\beta$-LG A/$\beta$-LG B молока хайнака весной, летом и осенью составило 1:2,5, 1:1,9 и 1:1,5 соответственно. На изменчивость соотношения влияют генотипы молочного белка, стадия лактации, сезон, кормление и др. [44–47]. Некоторые данные свидетельствуют о сезонном влиянии на все фракции сывороточных белков даже при стойловом содержании коров [48].

Электрофореграммы аминокислотного анализа белков молока хайнака приведены на рисунке 2. Содержание аминокислот, в зависимости от сезона года, представлено в таблице 5.

Результаты показали (табл. 5), что содержание некоторых аминокислот в молоке хайнака не зависело от времени года. В теплый сезон содержание большинства незаменимых аминокислот было выше, чем в холодный ($P < 0,05$). Это соответствовало изменениям содержания общего белка (табл. 3).

Известны исследования аминокислотного состава молока китайского яка, который пасется в естественных условиях на высоте 3600 м над уровнем моря на Цинхай-Тибетском плато [18]. Согласно авторам все лактирующие коровы яков, независимо от возраста, породы или региона, имели тенденцию к пику надоев в летний сезон (с июня по август), когда трава была наилучшего качества и количества. После августа, когда температура воздуха падает, питательная ценность травяного покрова также снижается с соответствующим снижением количества общего азота, казеиновых белков и незаменимых аминокислот в ячьем молоке.

Для определения биологической ценности белка молока кыргызского хайнака проведена сравнительная оценка аминокислотного состава образцов молока по сезонам по отношению к «идеальному» белку. Результаты приведены на рисунке 3.

Результаты свидетельствуют о том, что лимитирующей незаменимой аминокислотой молока хайнака весеннего, летнего и осеннего сезонов является триптофан с аминокислотным скором 98,9, 68,3 и 65,8 % соответственно. По всем остальным незаменимым аминокислотам молоко хайнака трех сезонов биологически полноценное. Максимальный скор имеет гистидин (весна – 199,4 %, лето – 189,8 %, осень – 179,2 %). Гистидин выполняет уникальную роль в буферизации протонов, хелатировании ионов металлов, улавливании активных форм кислорода и азота, эритропоэзе и гистаминергической системе. Опыт нескольких десятилетий подтвердил эффективность гистидина как компонента, используемого для профилактики атопического дерматита, язв, воспалительных заболеваний кишечника, глазных заболеваний и неврологических расстройств [49]. Кроме того, аминокислоты служат не только предшественниками синтеза белка, но и сигнальными молекулами,

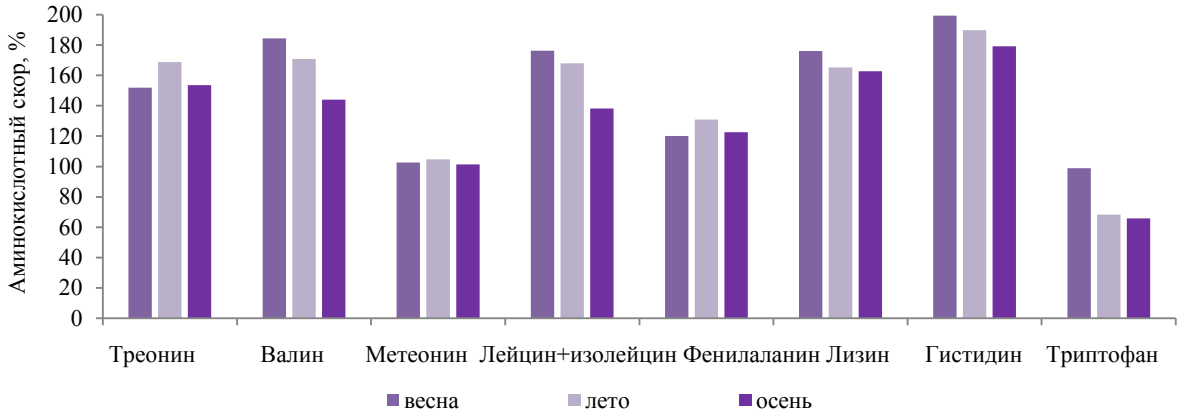



Рисунок 3. Сравнительная оценка аминокислотного состава белков молока хайнака по сезонам по отношению к «идеальному» белку

Figure 3. Comparative assessment of the amino acid composition of khainak milk samples by seasons in relation to the ideal protein

которые регулируют синтез молочного белка у млекопитающих [50, 51]. Лейцин и гистидин в дополнение к лизину и метионину являются основными незаменимыми аминокислотами в кормовых рационах [52, 53]. Отсутствие поступления гистидина являлось одной из главных причин, ограничивающих секрецию молочного белка. Некоторые эксперименты показали, что перфузия гистидина способствует синтезу молочного белка [54, 55]. Согласно H. N. Gao и др. введение гистидина от 0,15 до 9,60 ммоль/л увеличивало экспрессию $\alpha_{S2}$-казеина, $\beta$-казеина и $\kappa$-казеина [56]. Гистидин регулирует синтез белка через сигнальный путь мишени иммуносупрессанта рапамицина у млекопитающих (mTOR – mammalian target of rapamicin). Результаты исследования генетических факторов у ячих провинции Сычуань (Китай) подтвердили, что большинство экспрессированных генов увеличивались с 15 d и достигали пика в 30 или 60 d, а затем оставались относительно высоко экспрессированными. Отмечено, что для активации синтеза белков увеличение mTOR в период лактации наблюдалось уже в 1-й день [57]. Это подтверждает высокое содержание белка (4,0–5,9 %) в молоке яка. Повышенный уровень гистидина в молоке хайнака вероятно связан с казеином (максимум в летний сезон), что объясняется лучшими кормовыми условиями, а также явлением гетерозиса.

**Выводы**

Качество сырого молока потребители связывают с обитанием животных в экологически благополучной зоне. Например, горные территории, где животные содержатся в полудиком режиме. Гибрид яка и коровы – хайнак – как источник высокобелкового молока имеет особое значение в питании горцев в высокогорных условиях Тянь-Шаньской горной системы Северного Кыргызстана.

В результате экспериментальных исследований определены сезонные изменения белкового состава молока хайнака Иссык-Кульской области Кыргызской Республики. Молоко этого животного отличается высоким содержанием белка в сравнении с коровьим. Массовая доля белка в молоке хайнака весеннего, летнего и осеннего сезонов выше на 0,54, 1,02 и 0,84 % соответственно, чем в коровьем. Содержание общего азота в образцах молока трех сезонов коррелирует с массовой долей белка в них, т. е. к лету наблюдалось увеличение этого показателя (0,689 ± 0,004 %). Содержание небелкового азота оставалось практически на одном уровне в весеннем (0,0489 %) и летнем молоке (0,0496 %). Весеннее молоко более богато сывороточными белками (1,13 ± 0,05 %), чем летнее (0,94 ± 0,05 %) и осеннее (0,97 ± 0,05 %). По содержанию казеиновых белков повышение отмечено в летнем молоке хайнака (примерно на 1 % от холодного периода). Анализ фракционного состава сывороточных белков молока хайнака показал различия в процессе хроматографии на время удержания. Наблюдалось опережение в сравнении с данными для коровьего и ячьего молока. Среднее содержание $\beta$-лактоглобулина в молоке хайнака составило 2,35 мг/см$^3$, $\alpha$-лактальбумина – 2,12 мг/см$^3$. Соотношение $\beta$-LG A/$\beta$-LG B в молоке хайнака весной, летом и осенью составило 1:2,5, 1:1,9 и 1:1,5 соответственно. По аминокислотному составу молоко хайнака сбалансировано, за исключением триптофана. В теплый сезон содержание большинства незаменимых аминокислот было выше, чем в холодный ($P < 0,05$). Это соответствовало изменениям содержания общего белка. Максимальный скор имеет гистидин (весна – 199,4 %, лето – 189,8 %, осень –

179,2%) – уникальная аминокислота по химическим и биологическим свойствам.

Проведенный анализ белкового состава молока хайнака, обитающего в горных регионах Северного Кыргызстана, позволяет рекомендовать этот вид нетрадиционного молочного сырья для выработки белковых продуктов (сыра, творога и др.), в том числе функциональных.

**Конфликт интересов**

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности**

Автор выражает благодарность д.т.н., профессору Кыргызского государственного технического университета им. И. Раззакова М. М. Мусульмановой, директору ФГАНУ ВНИМИ А. Г. Галстяну, заведующей лабораторией техно-химического контроля и арбитражных методов анализа, руководителю испытательной лаборатории «МОЛОКО» ФГАНУ ВНИМИ Е. А. Юровой за оказанное содействие в проведении исследований.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Acknowledgements**

The author expresses her gratitude to M.M. Musulmanova, Doctor of Technical Sciences, Professor of the I. Razzakov Kyrgyz State Technical University; A.G. Galstyan, Director of the All-Russian Dairy Research Institute; E.A. Yurova, Head of the Laboratory of Techno-Chemical Control and Arbitration Methods of Analysis, Head of the Testing Laboratory "MOLOKO" of the All-Russian Dairy Research Institute.

**References/Список литературы**

1. Meldenberg DN, Polyakova OS, Semenova ES, Yurova EA. Development of a comprehensive milk protein composition assessment from raw materials of various farm animals for the functional products production. Storage and Processing of Farm Products. 2020;(3):118–133. (In Russ.). https://doi.org/10.36107/spfp.2020.352

2. Ospanov AB, Kulzhanova BO, Shchetinina EM, Velyamov ShM, Makeeva RK, Bektursunova MD. The research of the physical-chemical composition and technological properties of sheep and goat milk during the summer lactation period. Storage and Processing of Farm Products. 2021;(2):64–74. (In Russ.). https://doi.org/10.36107/spfp.2021.237

3. Guo X, Long R, Kreuzer M, Ding L, Shang Z, Zhang Y, *et al.* Importance of functional ingredients in yak milk-derived food on health of Tibetan nomads living under high-altitude stress: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2014;54(3):292–302. https://doi.org/10.1080/10408398.2011.584134

4. Musulmanova MM, Elemanova RSh, Dusheeva NS. Hainak milk as a raw material for creating functional products. Journal of Kyrgyz State Technical University named after I. Razzakov. 2019;50(2–2):164–171. (In Russ.). [Мусульманова М. М., Элеманова Р. Ш., Дюшеева Н. С. Молоко хайнака как сырье для создания функциональных продуктов // Известия Кыргызского государственного технического университета им. И. Раззакова. 2019. Т. 50. № 2–2. С. 164–171.].

5. Abdykerimov AA, Samykbaev AK, Bekzhanova EA, Iskembaeva AM, Buylashev UT. Yak of the Kyrgyz Republic. Vestnik of the Kyrgyz National Agrarian University K.I. Scriabin. 2016;37(1):66–70. (In Russ.). [Яководство Кыргызстана / А. А. Абдыкеримов [и др.] // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К. И. Скрябина. 2016. Т. 37. № 1. С. 66–70.].

6. Bekkuliev KM, Soburov KA, Turdubaev TZh, Kasmaliev MK, Kazybekova AA, Abdraeva GD, *et al.* Laser action on dairy efficiency yak. Vestnik of the Kyrgyz National Agrarian University K.I. Scriabin. 2015;34(2):74–80. (In Russ.). [Действие лазера на молочную продуктивность ячих / К. М. Беккулиев [и др.] // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К. И. Скрябина. 2015. Т. 34. № 2. С. 74–80.].

7. Shi F, Wang H, Degen AA, Zhou J, Guo N, Mudassar S, *et al.* Rumen parameters of yaks (*Bos grunniens*) and indigenous cattle (*Bos taurus*) grazing on the Qinghai-Tibetan Plateau. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2019;103(4):969–976. https://doi.org/10.1111/jpn.13095

8. Guo X, Bao P, Wu X, Yang Z, Shi S, Xiong L, *et al.* The complete mitochondrial genome of the hybrid of Jersey cattle (*Bos taurus*;♂)× Gannan yak (*Bos grunniens*;♀). Mitochondrial DNA Part B. 2019;4(2):4130–4131. https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1692721

9. Long L, Zhu Y, Li Z, Zhang H, Liu L, Bai J. Differential expression of skeletal muscle mitochondrial proteins in yak, dzo, and cattle: a proteomics-based study. Journal of Veterinary Medical Science. 2020;82(8):1178–1186. https://doi.org/10.1292/jvms.19-0218

10. Hirata M. Milk culture of the Tibetan Plateau. In: Hirata M, editor. Milk culture in Eurasia. Singapore: Springer; 2020. pp. 197–242. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1765-5_6

11. Kour G, Singh A, Kumar P, Kumar D. An overview of diversified animal genetic resources in the Indian state of Jammu and Kashmir. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2018;7(10):3113–3121. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.361

12. Zhong J, Ma Z, Chai Z, Wang H, Zhang C, Ji Q, *et al.* Whole genome sequencing of the Dzo: Genetic implications for high altitude adaptation, sterility, and milk and meat production. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi. 2018;24(6):835–844. https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20022

13. Gu X, Sun W, Yi K, Yang L, Chi F, Luo Z, *et al.* Comparison of muscle lipidomes between cattle-yak, yak, and cattle using UPLC–MS/MS. Journal of Food Composition and Analysis. 2021;103. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104113

14. Barsila SR, Kreuzer M, Devkota NR, Ding L, Marquardt S. Adaptation to Himalayan high altitude pasture sites by yaks and different types of hybrids of yaks with cattle. Livestock Science. 2014;169:125–136. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.09.004

15. Barsila SR, Devkota NR, Kreuzer M, Marquardt S. Effects of different stocking densities on performance and activity of cattle × yak hybrids along a transhumance route in the Eastern Himalaya. SpringerPlus. 2015;4(1). https://doi.org/10.1186/s40064-015-1175-4

16. Sha Y, Hu J, Shi B, Dingkao R, Wang J, Li S, *et al.* Characteristics and functions of the rumen microbial community of Cattle-Yak at different ages. BioMed Research International. 2020;2020. https://doi.org/10.1155/2020/3482692

17. Li H, Ma Y, Dong A, Wang J, Li Q, He S, *et al.* Protein composition of yak milk. Dairy Science and Technology. 2010;90(1):111–117. https://doi.org/10.1051/dst/2009048

18. Li H, Ma Y, Li Q, Wang J, Cheng J, Xue J, *et al.* The chemical composition and nitrogen distribution of Chinese yak (Maiwa) milk. International Journal of Molecular Sciences. 2011;12(8):4885–4895. https://doi.org/10.3390/ijms12084885

19. Chen Y, Qu S, Huang Z, Ren Y, Wang L, Rankin SA. Analysis and comparison of key proteins in Maiwa yak and bovine milk using high-performance liquid chromatography mass spectrometry. Journal of Dairy Science. 2021;104(8):8661–8672. https://doi.org/10.3168/jds.2021-20269

20. Yang L, Yang C, Chi F, Gu X, Zhu Y. A survey of the vitamin and mineral content in milk from yaks raised at different altitudes. International Journal of Food Science. 2021;2021. https://doi.org/10.1155/2021/1855149

21. Sowmya K, Bhat MI, Bajaj RK, Kapila S, Kapila R. Buffalo milk casein derived decapeptide (YQEPVLGPVR) having bifunctional anti-inflammatory and antioxidative features under cellular milieu. International Journal of Peptide Research and Therapeutics. 2019;25(2):623–633. https://doi.org/10.1007/s10989-018-9708-7

22. Numpaque M, Şanlı T, Anli EA. Diversity of milks other than cow, sheep, goat and buffalo: In terms of nutrition and technological use. Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology. 2019;7(12):2047–2053. https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i12.2047-2053.2623

23. Elemanova RSh, Musulmanova MM, Bodoshov AU, Dusheeva NS. Freeze-drying of Kyrgyz hainak milk. Current state and development prospects of agro-industrial complex and functional food production: Materials of the International Scientific and Practical Conference; 2020; Omsk. Omsk: Omsk State Agrarian University; 2020. p. 225–229. (In Russ.). [Сублимационная сушка молока хайнака кыргызского / Р. Ш. Элеманова [и др.] // Современное состояние, перспективы развития АПК и производства специализированных продуктов питания: Материалы Международной научно-практической конференции. Омск, 2020. С. 225–229.].

24. Khadka MS, Thapa G. Economic and financial returns of livestock agribusiness in high mountains of Nepal. Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics. 2020;121(2):251–263. https://doi.org/10.17170/kobra-202010191973

25. Bakhtushkina AI, Koval AD. Milk production and milk chemical composition of yak females of the Altai population. Bulletin of Altai State Agricultural University. 2020;190(8):81–86. (In Russ.). [Бахтушкина А. И., Коваль А. Д. Молочность и химический состав молока ячих алтайской популяции // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2020. Т. 190. № 8. С. 81–86.].

26. Osintsev AM, Braginsky VI, Rynk VV, Chebotarev AL. Specifics of milk and plant-based milk-like products coagulation. Food Processing: Techniques and Technology. 2018;48(3):81–89. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-3-81-89

27. Zhang J, Yang M, Cai D, Hao Y, Zhao X, Zhu Y, *et al.* Composition, coagulation characteristics, and cheese making capacity of yak milk. Journal of Dairy Science. 2020;103(2):1276–1288. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17231

28. Gai N, Uniacke-lowe T, O'regan J, Faulkner H, Kelly AL. Effect of protein genotypes on physicochemical properties and protein functionality of bovine milk: A review. Foods. 2021;10(10). https://doi.org/10.3390/foods10102409

29. Indra R, Magash A. Composition, quality and consumption of yak milk in Mongolia. Yak production in Central Asian highlands: Proceedings of the third international congress on yak held in Lhasa; P.R. China; 2000; Lhasa. Nairobi: International Livestock Research Institute; 2002. p. 493–498.

30. Barsila SR. Effect of parity in different grazing seasons on milk yield and composition of cattle × yak hybrids in the Himalayan alpines. Journal of Applied Animal Research. 2019;47(1):591–596. https://doi.org/10.1080/09712119.2019.1697274

31. Yuan M, Xia W, Zhang X, Liu Y, Jiang M. Identification and verification of differentially expressed genes in yak mammary tissue during the lactation cycle. Journal of Dairy Research. 2020;87(2):158–165. https://doi.org/10.1017/S0022029919001006

32. Van Hese I, Goossens K, Vandaele L, Opsomer G. *Invited review*: MicroRNAs in bovine colostrum – Focus on their origin and potential health benefits for the calf. Journal of Dairy Science. 2020;103(1):1–15. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16959

33. Nayak CM, Ramachandra CT, Nidoni U, Hiregoudar S, Ram J, Naik N. Physico-chemical composition, minerals, vitamins, amino acids, fatty acid profile and sensory evaluation of donkey milk from Indian small grey breed. Journal of Food Science and Technology. 2020;57(8):2967–2974. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04329-1

34. So S, Wanapat M, Cherdthong A. Effect of sugarcane bagasse as industrial by-products treated with *Lactobacillus casei* TH14, cellulase and molasses on feed utilization, ruminal ecology and milk production of mid-lactating Holstein Friesian cows. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021;101(11):4481–4489. https://doi.org/10.1002/jsfa.11087

35. Khachlouf K, Hamed H, Gdoura R, Gargouri A. Effects of zeolite supplementation on dairy cow production and ruminal parameters – a review. Annals of Animal Science. 2018;18(4):857–877.

36. Ostroumov LA, Shakhmatov RA, Kurbanova MG. Investigation of seasonal changes in fractional composition of milk proteins. Food Processing: Techniques and Technology. 2011;20(1):36a–41. (In Russ.). [Остроумов Л. А., Шахматов Р. А., Курбанова М. Г. Исследование сезонных изменений фракционного состава белков молока // Техника и технология пищевых производств. 2011. Т. 1. № 20. С. 36а–41.].

37. Kurchenko VP, Simonenko ES, Sushynskaya NV, Halavach TN, Petrov AN, Simonenko SV. HPLC identification of mare's milk and its mix with cow's milk. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):402–412. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-402-412

38. Fan XY, Qiu LH, Zhang YY, Teng XH, Miao YW. Polymorphism, molecular characteristics of alpha-lactalbumin (*LALBA*) gene in river and swamp buffalo. Russian Journal of Genetics. 2021;57(7):836–846. https://doi.org/10.1134/S1022795421070085

39. Wang L, Ma Y, Li H, Yang F, Cheng J. Identification and characterization of yak α-lactalbumin and *β*-lactoglobulin. Journal of Dairy Science. 2021;104(3):2520–2528. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18546

40. Moloney C, O'Connor D, O'Regan J. Polar lipid, ganglioside and cholesterol contents of infant formulae and growing up milks produced with an alpha lactalbumin-enriched whey protein concentrate. International Dairy Journal. 2020;107. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104716

41. Joehnke MS, Lametsch R, Sørensen JC. Improved in vitro digestibility of rapeseed napin proteins in mixtures with bovine beta-lactoglobulin. Food Research International. 2019;123:346–354. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.05.004

42. Fei S, Zou L, Xie X, Yang F, Chen H, Li X. Purification and characterization of bovine β-lactoglobulin variants A and B (characterization of bovine *β*-lactoglobulin variants). Food Science and Technology Research. 2020;26(3):399–409. https://doi.org/10.3136/FSTR.26.399

43. Ozdemir M, Kopuzlu S, Topal M, Bilgin OC. Relationships between milk protein polymorphisms and production traits in cattle: A systematic review and meta-analysis. Archives Animal Breeding. 2018;61(2):197–206. https://doi.org/10.5194/aab-61-197-2018

44. Roin NR, Larsen LB, Comi I, Devold TG, Eliassen TI, Inglingstad RA, *et al.* Identification of rare genetic variants of the $\alpha_S$-caseins in milk from native Norwegian dairy breeds and comparison of protein composition with milk from high-yielding Norwegian Red cows. Journal of Dairy Science. 2022;105(2):1014–1027. https://doi.org/10.3168/jds.2021-20455

45. Bär C, Sutter M, Kopp C, Neuhaus P, Portmann R, Egger L, *et al.* Impact of herbage proportion, animal breed, lactation stage and season on the fatty acid and protein composition of milk. International Dairy Journal. 2020;109. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104785

46. Li S, Ye A, Singh H. Seasonal variations in composition, properties, and heat-induced changes in bovine milk in a seasonal calving system. Journal of Dairy Science. 2019;102(9):7747–7759. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16685

47. Vanbergue E, Delaby L, Peyraud JL, Colette S, Gallard Y, Hurtaud C. Effects of breed, feeding system, and lactation stage on milk fat characteristics and spontaneous lipolysis in dairy cows. Journal of Dairy Science. 2017;100(6):4623–4636. https://doi.org/10.3168/jds.2016-12094

48. Bernabucci U, Basiricò L, Morera P, Dipasquale D, Vitali A, Piccioli Cappelli F, *et al.* Effect of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. Journal of Dairy Science. 2015;98(3):1815–1827. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8788

49. Holeček M. Histidine in health and disease: Metabolism, physiological importance, and use as a supplement. Nutrients. 2020;12(3). https://doi.org/10.3390/nu12030848

50. Dong X, Zhou Z, Wang L, Saremi B, Helmbrecht A, Wang Z. Increasing the availability of threonine, isoleucine, valine, and leucine relative to lysine while maintaining an ideal ratio of lysine: methionine alters mammary cellular metabolites, mammalian target of rapamycin signaling, and gene transcription. Journal of Dairy Science. 2018;101(6):5502–5514. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13707

51. Xu LB, Hanigan MD, Lin XY, Li MM, Yan ZG, Hu ZY, *et al.* Effects of jugular infusions of isoleucine, leucine, methionine, threonine, and other amino acids on insulin and glucagon concentrations, mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling, and lactational performance in goats. Journal of Dairy Science. 2019;102(10):9017–9027. https://doi.org/10.3168/jds.2018-16102

52. Räisänen SE, Lage CFA, Fetter ME, Melgar A, Pelaez AM, Stefenoni HA, *et al.* Histidine dose-response effects on lactational performance and plasma amino acid concentrations in lactating dairy cows: 2. Metabolizable protein-deficient diet. Journal of Dairy Science. 2021;104(9):9917–9930. https://doi.org/10.3168/jds.2021-20189

53. Yoder PS, Huang X, Teixeira IA, Cant JP, Hanigan MD. Effects of jugular infused methionine, lysine, and histidine as a group or leucine and isoleucine as a group on production and metabolism in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 2020;103(3):2387–2404. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17082

54. Lapierre H, Lobley GE, Ouellet DR. Histidine optimal supply in dairy cows through determination of a threshold efficiency. Journal of Dairy Science. 2021;104(2):1759–1776. https://doi.org/10.3168/jds.2020-19205

55. Räisänen SE, Lage CFA, Oh J, Melgar A, Nedelkov K, Chen X, *et al.* Histidine dose-response effects on lactational performance and plasma amino acid concentrations in lactating dairy cows: 1. Metabolizable protein-adequate diet. Journal of Dairy Science. 2021;104(9):9902–9916. https://doi.org/10.3168/jds.2021-20188

56. Gao H, Hu H, Zheng N, Wang J. Leucine and histidine independently regulate milk protein synthesis in bovine mammary epithelial cells via mTOR signaling pathway. Journal of Zhejiang University. Science B. 2015;16(6):560–572. https://doi.org/10.1631/jzus.B1400337

57. Xia W, Osorio Johan S, Yang Y, Liu DL, Jiang MF. *Short communication*: Characterization of gene expression profiles related to yak milk protein synthesis during the lactation cycle. Journal of Dairy Science. 2018;101(12):11150–11158. https://doi.org/10.3168/jds.2018-14715

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2386
https://elibrary.ru/UANYXI

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Микроклональное размножение и особенности адаптации к условиям *ex vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium*

**А. И. Чудецкий[1,*], С. А. Родин[1], Л. В. Зарубина[2], И. Б. Кузнецова[3], Г. В. Тяк[1]**

[1] *Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства, Пушкино, Россия*

[2] *Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им Н. В. Верещагина, Вологда, Россия*

[3] *Костромская государственная сельскохозяйственная академия, Караваево, Россия*

*Поступила в редакцию: 14.01.2022*
*Принята после рецензирования: 09.02.2022*
*Принята к публикации: 09.03.2022*

**А. И. Чудецкий: a.chudetsky@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4804-7759*
*С. А. Родин: https://orcid.org/0000-0002-8947-9809*
*Л. В. Зарубина: https://orcid.org/0000-0003-3834-0521*
*И. Б. Кузнецова: https://orcid.org/0000-0001-5011-3271*
*Г. В. Тяк: https://orcid.org/0000-0002-1081-4054*

*© А. И. Чудецкий, С. А. Родин, Л. В. Зарубина, И. Б. Кузнецова, Г. В. Тяк, 2022*

**Аннотация.**
Для получения большого количества высококачественного оздоровленного посадочного материала хозяйственно ценных лесных ягодных растений необходимо использовать современные экономически эффективные методы размножения. Недостаточно изучены адаптация *ex vitro* видов *Vaccinium* и выращивание *in vitro*. Цель работы – изучение влияния росторегулирующих веществ на органогенез и адаптацию к нестерильным условиям брусники и красники при клональном микроразмножении.
Объектами исследования являлись растения-регенеранты брусники (*Vaccinium vitis-idaea* L.) сортов Koralle, Костромичка и Костромская розовая и красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) Сахалинской и Курильской форм. Проведен химический анализ состава плодов. Изучалось влияние стерилизующих агентов и времени стерилизации на жизнеспособность эксплантов, состава питательной среды и концентрации росторегулирующих веществ на образование микропобегов и корней, состава субстрата на приживаемость растений к нестерильным условиям.
Наибольшая приживаемость эксплантов брусники (72 %) и красники (96 %) отмечена при использовании $AgNO_3$ 0,2 % при времени стерилизации 10 мин. Максимальные значения суммарной длины побегов *in vitro* отмечены при концентрации 2-iP 2,0 мг/л: для брусники – на среде AN (7,2 см), для красники – на среде WPM 1/2 (10,5 см). Наибольшие значения суммарной длины корней *in vitro* выявлены для брусники при использовании индолилуксусной кислоты в концентрации 2,0 мг/л (5,8 см), для красники – при использовании индолилмасляной кислоты в концентрации 1,0 мг/л (1,9 см). Максимальная приживаемость брусники *ex vitro* отмечена на субстрате из верхового торфа (89–92 %), красники – на смеси торфа с песком 1:1 (91–95 %).
Использование клонального микроразмножения с применением регуляторов роста (2-iP, индолилмасляная и индолилмасляная кислоты) и торфяных субстратов целесообразно при выращивании *in vitro* и адаптации *ex vitro* брусники и красники. Оно позволяет получить большое количество высококачественного посадочного материала с высокой приживаемостью растений.

**Ключевые слова.** Микроклональное размножение, *in vitro*, брусника, красника, биохимический состав, стерилизация, органогенез, ризогенез, адаптация, субстрат

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Государственного задания «Проведение прикладных научных исследований» Федерального агентства лесного хозяйства Российской Федерации (Приказ Рослесхоза от 25.12.2018 №1061).

**Для цитирования:** Микроклональное размножение и особенности адаптации к условиям *ex vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium* / А. И. Чудецкий [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 570–581. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2386

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2386
https://elibrary.ru/UANYXI

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Clonal Micropropagation and Peculiarities of Adaptation to *ex vitro* Conditions of Forest Berry Plants of the Genus *Vaccinium*

**Anton I. Chudetsky[1,*], Sergey A. Rodin[1], Lilia V. Zarubina[2], Irina B. Kuznetsova[3], Galina V. Tyak[1]**

[1] *All-Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Pushkino, Russia*

[2] *N.V. Vereshchagin Vologda State Dairy Farming Academy, Vologda, Russia*

[3] *Kostroma State Agricultural Academy, Karavaevo, Russia*

*Received: 14.01.2022*
*Revised: 09.02.2022*
*Accepted: 09.03.2022*

**Anton I. Chudetsky: a.chudetsky@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4804-7759*
*Sergey A. Rodin: https://orcid.org/0000-0002-8947-9809*
*Lilia V. Zarubina: https://orcid.org/0000-0003-3834-0521*
*Irina B. Kuznetsova: https://orcid.org/0000-0001-5011-3271*
*Galina V. Tyak: https://orcid.org/0000-0002-1081-4054*

*© A.I. Chudetsky, S.A. Rodin, L.V. Zarubina, I.B. Kuznetsova, G.V. Tyak, 2022*

**Abstract.**
Modern cost-effective propagation methods yield a large amount of high-quality healthy planting material of economically valuable forest berry plants. However, ex vitro adaptation of *Vaccinium* species and *in vitro* cultivation of the Kamchatka bilberry remain understudied. The research objective was to study the effect of growth-regulating substances on the organogenesis and adaptation to non-sterile conditions of the lingonberry and the Kamchatka bilberry during clonal micropropagation.
The study featured regenerant lingonberries (*Vaccinium vitis-idaea* L.) of Koralle, Kostromichka, and Kostromskaya Rozovaya cultivars, as well as the Sakhalin and Kuril varieties of the Kamchatka bilberry (*Vaccinium praestans* Lamb.). A chemical analysis was performed to reveal the following dependencies: the effect of sterilizing agents and sterilization time on the viability of explants, the effect of the nutrient medium and the growth-regulating substances on microshoots and roots, and the effect of the substrate on the survival of plants in non-sterile conditions.
The highest survival rate of lingonberry (72%) and bilberry (96%) explants belonged to 0.2% of $AgNO_3$ with 10 min of sterilization time. The maximal values of the total shoot length *in vitro* were observed at 0.2 mg/L of 2-iP: AN nutrient medium (7.2 cm) for lingonberries and WPM 1/2 nutrient medium (10.5 cm) for bilberries. The longest total root length *in vitro* for lingonberries was registered when using 2.0 mg/L (5.8 cm) of indoleacetic acid, while for bilberries it was 1.0 mg/L (1.9 cm) of indolylbutyric acid. The maximal survival rate *ex vitro* belonged to the high-moor peat substrate (89–92%) for lingonberries and a 1:1 mix of peat with sand (91–95%) for bilberries.
Clonal micropropagation with growth regulators (2-iP, indolylbutyric and indoleacetic acids) and peat substrates proved expedient for *in vitro* cultivation and *ex vitro* adaptation of the lingonberry and the Kamchatka bilberry. This scheme delivered a large amount of high-quality planting material with high plant survival.

**Keywords.** Clonal micropropagation, *in vitro*, lingonberry, Kamchatka bilberry, biochemical composition, sterilization, organogenesis, rhizogenesis, adaptation, substrate

**Funding.** The research was part of the State Task of Applied Scientific Research for the Federal Forestry Agency of the Russian Federation (Order of the Federal Forestry Agency dated December 25, 2018, No. 1061).

**For citation:** Chudetsky AI, Rodin SA, Zarubina LV, Kuznetsova IB, Tyak GV. Clonal Micropropagation and Peculiarities of Adaptation to *ex vitro* Conditions of Forest Berry Plants of the Genus *Vaccinium*. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):570–581. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2386

## Введение

В таежной зоне европейской части России в естественных условиях наиболее распространены запасы таких представителей рода *Vaccinium*, как брусника обыкновенная, черника обыкновенная и голубика топяная. Их плоды и листья обладают

высокой лекарственной и пищевой ценностью. Однако из-за усиления антропогенного влияния на природную среду и экосистемы ресурсы этих и других более редких видов с каждым годом сокращаются. Среди исследователей, предпринимателей и садоводов возрастает спрос на выращивание сортового посадочного материала ягодных растений, включая виды-интродуценты [1, 2]. Посадки некоторых видов могут использоваться для биологической рекультивации нарушенных земель, в частности выработанных торфяников, гарей, вырубок, неиспользуемых сельскохозяйственных угодий и др., а создание сортов и гибридов обеспечит большую урожайность, крупноплодность и устойчивость к неблагоприятным факторам среды по сравнению с естественными зарослями [3].

Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) – вечнозеленый карликовый, корневищный, циркумбореальный древесный кустарник рода *Vaccinium*, произрастающий в хвойных и хвойно-мелколиственных лесах северных стран, Центральной Европы, России и Канады и встречающийся на вересковых пустошах, каменистых местах и сухих торфяных почвах. Плод – многосемянная сочная ягода чаще красного цвета и округлой формы с остатками чашечки на верхушке. Могут иметь окраску с другими оттенками, а также округло-сплюснутую, овальную, яйцевидную конусовидную и другие формы. Ягоды имеют горьковато-кислый, кислый, сладковато-кислый и иной вкус.

Красника (*Vaccinium praestans* Lamb.) или клоповка сахалинская – теневыносливый вегетативно-подвижный листопадный корневищный кустарник, произрастающий на Камчатке, Сахалине, Курильских островах, в Приморье и Хабаровском крае, а также на некоторых островах Японии. Встречается в тенистых местах тайги во влажных хвойных и смешанных лесах, в долинах и на горных склонах, таежных прогалинах и вырубках, моховых болотах, расположенных вдоль морского побережья, старых лесных дорогах, просеках, тропинках и облесенных окраинах болот. Плод – многосемянная шаровидная глянцевая ягода ярко-красного цвета с резким запахом [4–6].

Плоды брусники и красники имеют высокую лекарственную ценность и являются основным пищевым источником антоцианов и сложносоставных фенолов. Брусника богата такими антиоксидантами, как полифенолы и витамины А, С и Е. В ягодах брусники содержатся арбутин, урсоловая кислота и большое количество других биологически активных веществ. Ягоды красники содержат 16 аминокислот, клетчатку, сахара, флавоноиды, витамин С, соединения Р-витаминного комплекса и органические кислоты. Вещества в плодах этих растений обладают антибактериальным, антиоксидантным, противовоспалительным и противоопухолевым действиями и другими лечебными свойствами. В медицине бруника и красника могут применяться при лечении множества заболеваний: атеросклероза, нейродегенеративных расстройств, авитаминоза, гипертонии, почечнокаменной болезни, ревматизма, бронхиальной астмы, простудных заболеваний, стоматита, кожных болезней, диабета, заболеваний желудка, печени, мочеполовой системы и др. Ягоды брусники и красники обладают уникальными вкусовыми свойствами и ценностью в пищевом отношении: употребляются в сыром виде и служат сырьем при изготовлении соков, сиропов, компотов, варенья, джемов и кондитерских изделий [4, 6–23].

Брусника и красника морозо- и засухоустойчивы. Оба вида могут размножаться как вегетативным, так и семенным способами. Исследования показывают, что для брусники наиболее эффективно размножение одревесневшими черенками и парциальными кустами, а также семенным способом. Для красники при ее интродукции в условиях европейской части России наиболее приемлемыми являются способы размножения одревесневшими и корневищными черенками, а также отрезками корневища [5, 6, 24]. Однако для выращивания лесных ягодных растений в промышленных масштабах (в том числе для создания плантаций при рекультивации нарушенных земель) целесообразно использовать метод микроклонального размножения. Он может быстро и в краткие сроки обеспечить потребности хозяйства большим количеством высокачественного оздоровленного посадочного материала. Клональным микроразмножением брусники обыкновенной занимались ученые из разных стран мира, но на данный момент мало исследований по адаптации данного вида к нестерильным условиям [25–29]. Что касается выращивания красники *in vitro*, то известны лишь попытки ее введения в культуру некоторыми учеными в Польше и России, но информации о каких-либо результатах на сегодняшний день не имеется. В связи с этим необходимо продолжить проведение исследований по усовершенствованию технологий выращивания данных видов в культуре *in vitro*, в частности по адаптации к нестерильным условиям.

Укоренение микропобегов и адаптация размножаемых *in vitro* микрорастений к нестерильным условиям являются критическими этапами микроклонального размножения, определяющими выход растений. Приживаемость микрорастений *in vivo* зависит от биологических особенностей размножаемой культуры, сорта или формы, биотических и абиотических факторов. Высокий процент погибших растений на данных этапах обусловлен переходом от гетеротрофного на автотрофное питание, слабым развитием корневой системы и отсутствием воскового налета на листьях. Для улучшения приживаемости микрорастений необходимо создание оптимальных условий путем подбора физических

и химических факторов. Применение современных росторегулирующих веществ и биопрепаратов на этапах укоренения и адаптации к нестерильным условиям может оказывать положительное воздействие на адаптационную способность микрорастений [30, 31].

Цель исследования – изучение влияния регуляторов роста и биопрепаратов на процесс ризогенеза и адаптации к нестерильным условиям брусники обыкновенной и красники при клональном микроразмножении.

**Объекты и методы исследования**

Исследования по выращиванию лесных ягодных растений рода *Vaccinium* L. *in vitro* проводили в период 2018–2021 гг. на базе лабораторий биотехнологии филиала ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-европейская лесная опытная станция» и ФГБОУ ВО Костромская ГСХА по общепринятым методикам [32]. В качестве объектов исследования использовали растения брусники обыкновенной (сорт Koralle немецкой селекции, сорта Костромичка и Костромская розовая селекции Центрально-европейской лесной опытной станции) и красники (формы Курильская и Сахалинская, отобранные на Курильских островках (о. Итуруп) и юге острова Сахалин близ города Корсакова). Предварительно проводили определение биохимического состава ягод используемых растений брусники и красники в соответствии с общепринятыми методиками [33].

В качестве основных стерилизующих агентов на этапе введения в культуру *in vitro* использовали растворы моющего средства Доместос (в разведении водой 1:3), нитрата серебра (0,2 %), сулемы (0,2 %), препаратов Лизоформин 3000 (5 %) и Экостерилизатор бесхлорный (5 %) при времени стерилизации 5, 10, 15 и 20 мин. Культивирование растений проводили в световой комнате при поддержании температуры +23–25 °С, влажности воздуха 75–80 % и фотопериоде 16 ч света и 8 ч темноты. При размножении брусники использовали питательную среду AN (Андерсона), при размножении красники – WPM (Woody Plant Medium), в том числе в модификациях разбавления минеральных солей в 2 и 4 раза. На этапе собственно микроразмножение в качестве регулятора роста цитокининовой группы использовали 2-изопенталаденин (2-iP) в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л. Проводили учет количества, средней и суммарной длины микропобегов в расчете на одно растение. На этапе укоренение микропобегов *in vitro* использовали питательные среды AN и WPM. В качестве ростостимулирующих веществ ауксиновой группы применяли индолилуксусную и индолилмасляную кислоты в концентрациях 1,0 и 2,0 мл/л. Опыты проводили в 10-кратной биологической повторности по 15 пробирочных растений в каждой. Применяли дисперсионный двухфакторный анализ, где на этапе собственно микроразмножение: фактор А – состав питательной среды, фактор В – концентрация цитокинина; на этапе укоренение микропобегов *in vitro*: фактор А – концентрация ауксина, фактор В – сорт или форма. Достоверность различий между средними данными вариантов опыта оценивали с помощью наименьшей существенной разности для 5 %-го уровня значимости ($НСР_{05}$).

На этапе адаптации микрорастений к нестерильным условиям в качестве субстратов применяли торф верхового типа, в том числе в смеси с песком (в соотношении 1:1), перлитом (1:4) и вермикулитом (1:4). Через 30 дней после пересадки для каждого сорта и формы учитывали приживаемость растений как процент количества выживших от количества высаженных. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2016 и AGROS v.2.11.

**Результаты и их обсуждение**

По результатам проведенного биохимического анализа ягоды брусники обыкновенной российской и зарубежной селекции и красники характеризуются высоким содержанием витамина С и сахаров. Также плоды брусники обыкновенной российской и зарубежной селекции характеризуются высоким содержанием сухого вещества. Причем значительных различий по химическому составу плодов, в зависимости от сорта или формы, не отмечено (табл. 1).

Анализируя данные по биохимическому составу плодов брусники обыкновенной по микро- и макроэлементам, можно отметить, что во всех исследуемых сортах содержится большое количество кальция и калия. Из макроэлементов в плодах брусники отмечено преобладание железа, но не отмечено наличие йода и бора. Содержание других микро- и макроэлементов в ягодах брусники российской селекции выше по сравнению с зарубежной. Из макроэлементов в плодах красники преобладает калий, кальций, затем магний и фосфор. Существенных отличий по содержанию макроэлементов в плодах красники из разных местообитаний не отмечено. Анализ содержания микроэлементов в плодах красники показывает, что в них преобладает железо, марганец и бор (табл. 2).

В результате проведенных исследований по микроклональному размножению на этапе введения в культуру *in vitro* отмечено, что наиболее эффективными для эксплантов брусники обыкновенной оказались основные стерилизаторы $AgNO_3$ 0,2 % и Лизоформин 3000 5 % при времени стерилизации 10 мин: жизнеспособность эксплантов составила 70–72 % (табл. 3). При времени стерилизации 20 мин жизнеспособность эксплантов после обработки стерилизующими агентами не превышала

Таблица 1. Общий химический состав плодов исследуемых растений брусники обыкновенной и красники

Table 1. Chemical composition of lingonberries and bilberries

| Сорт/форма | Показатели | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Сахара,% | Общая кислотность, % | Сухое вещество, % | Витамин С, мг/% |
| Брусника обыкновенная | | | | |
| Koralle | 10,2 | 1,5 | 9,8 | 18,0 |
| Костромичка | 9,2 | 1,8 | 10,6 | 14,0 |
| Костромская розовая | 11,0 | 1,6 | 10,4 | 17,0 |
| Красника | | | | |
| Сахалинская | 17,0 | 5,3 | 10,2 | 46,5 |
| Курильская | 14,3 | 5,4 | 9,6 | 57,2 |

Таблица 2. Биохимический состав плодов исследуемых растений брусники обыкновенной и красники

Table 2. Biochemical composition of lingonberries and bilberries

| Элементы в ягодах | Содержание элементов, мг/100 г | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Брусника обыкновенная | | | Красника | |
| | Koralle | Костромичка | Костромская розовая | Сахалинская | Курильская |
| Макроэлемент | | | | | |
| Ca | 179,80 | 201,30 | 189,30 | 0,31 | 0,36 |
| K | 701,30 | 584,60 | 650,30 | 0,89 | 0,98 |
| P | 78,40 | 97,20 | 89,60 | 0,15 | 0,19 |
| Mg | 34,20 | 37,10 | 36,50 | 0,19 | 0,18 |
| Микроэлемент | | | | | |
| I | – | – | – | 0,10 | 0,11 |
| B | – | – | – | 9,26 | 9,19 |
| Fe | 83,20 | 90,60 | 110,30 | 236,40 | 234,20 |
| Mn | 80,20 | 85,10 | 83,00 | 85,40 | 88,30 |
| Cu | 5,30 | 6,20 | 8,00 | 3,82 | 4,00 |

20–34 %. При времени стерилизации 5 мин количество жизнеспособных эксплантов варьировалось в пределах 24–46 %, остальные экспланты погибли.

На этапе введения красники в культуру *in vitro* наиболее эффективными стерилизующими агетами оказались нитрат серебра 0,2 % при времени стерилизации 10 мин и Экостерилизатор бесхлорный 5 % при времени стерилизации 20 мин, где жизнеспособность эксплантов составила 96 и 92 % соответственно (табл. 3). При использовании сулемы в течение 15 мин наблюдалась высокая жизнеспособность эксплантов красники (84 %), но увеличение времени стерилизации до 20 мин способствовало ее резкому снижению (до 14 %). Это связано с фитотоксичностью хлорида ртути. Процент жизнеспособных эксплантов при обработке стерилизующими агентами при времени стерилизации 5 мин был низким и не превышал 26 %, остальные экспланты погибли от инфекции.

На этапе собственно микроразмножение на питательной среде AN выявлено большее количество побегов растений-регенерантов брусники обыкновенной: у сорта Koralle – 2,8 шт., у сорта Костромичка – 3,2 шт., у сорта Костромская розовая – 3,0 шт. При повышении концентрации цитокинина 2-iP от 1,0 до 2,0 мг/л количество побегов у растений-регенерантов брусники обыкновенной увеличивалось в среднем в 1,5 раза (табл. 4).

Средняя длина побегов брусники обыкновенной не имела статистически значимых различий, в зависимости от состава питательной среды, и варьировалась у сорта Koralle от 1,1 до 1,8 см, у сорта Костромичка от 1,4 до 2,1 см, у сорта Костромская розовая от 1,3 до 2,1 см (табл. 5). Концентрация цитокинина 2-iP не оказала влияния на среднюю длину побегов брусники обыкновенной и составила при концентрации цитокинина 2-iP 2,0 мг/л в среднем 1,3–1,6 см, при 1,0 мг/л – 1,6–1,9 см.

Суммарная длина побегов брусники обыкновенной была больше (в 1,4–2,6 раза) в вариантах с питательной средой AN, чем в других вариантах, и варьировалась в среднем от 4,9 до 6,4 см (табл. 6). Суммарная длина побегов брусники при повышении в питательной среде концентрации цитокинина 2-iP от 1,0 до 2,0 мг/л увеличивалась незначительно (в среднем в 1,2 раза). Максимальные значения суммарной длины побегов брусники обыкновенной наблюдались на питательной среде AN при концентрации цитокинина

Таблица 3. Жизнеспособность эксплантов брусники обыкновенной и красники (%) в зависимости от стерилизующих агентов и времени стерилизации

Table 3. Viability of lingonberry and bilberry explants (%) depending on sterilizing agent and sterilization time

| Стерилизующий агент | Время стерилизации, мин | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 5 | 10 | 15 | 20 |
| Брусника обыкновенная | | | | |
| Сулема 0,2 % | 34 | 60 | 48 | 32 |
| Доместос 1:3 | 24 | 48 | 38 | 22 |
| $AgNO_3$ 0,2 % | 30 | 72 | 42 | 34 |
| Экостерилизатор бесхлорный 5 % | 46 | 56 | 34 | 22 |
| Лизоформин 3000, 5 % | 46 | 70 | 38 | 28 |
| Красника | | | | |
| Сулема 0,2 % | 26 | 32 | 84 | 14 |
| Доместос 1:3 | 2 | 12 | 8 | 2 |
| $AgNO_3$ 0,2 % | 6 | 96 | 36 | 5 |
| Экостерилизатор бесхлорный 5 % | 2 | 62 | 50 | 92 |
| Лизоформин 3000, 5 % | 18 | 50 | 64 | 80 |

Таблица 4. Количество побегов брусники обыкновенной на одно растение (шт.) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-iP

Table 4. Number of lingonberry shoots *in vitro* per plant depending on nutrient medium and cytokinin 2-iP concentration

| Питательная среда | Концентрация 2-iP, мг/л | | |
|---|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 | Среднее |
| Koralle | | | |
| AN 1/4 | 1,5 | 1,9 | 1,7 |
| AN 1/2 | 1,8 | 2,8 | 2,3 |
| AN | 2,2 | 3,4 | 2,8 |
| Среднее | 1,8 | 2,7 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,89, фактор В = 0,78, общ. = 1,16 | | | |
| Костромичка | | | |
| AN 1/4 | 1,8 | 2,3 | 2,1 |
| AN 1/2 | 2,1 | 3,1 | 2,6 |
| AN | 2,5 | 3,9 | 3,2 |
| Среднее | 2,1 | 3,1 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,93, фактор В = 0,89, общ. = 1,18 | | | |
| Костромская розовая | | | |
| AN 1/4 | 1,7 | 2,1 | 1,9 |
| AN 1/2 | 2,0 | 2,9 | 2,5 |
| AN | 2,3 | 3,6 | 3,0 |
| Среднее | 2,0 | 2,9 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,97, фактор В = 0,94, общ. = 1,19 | | | |

Таблица 5. Средняя длина побегов брусники обыкновенной на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-iP

Table 5. Average length of lingonberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-iP concentration

| Питательная среда | Концентрация 2-iP, мг/л | | |
|---|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 | Среднее |
| Koralle | | | |
| AN 1/4 | 1,2 | 1,0 | 1,1 |
| AN 1/2 | 1,5 | 1,3 | 1,4 |
| AN | 2,0 | 1,6 | 1,8 |
| Среднее | 1,6 | 1,3 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,92, фактор В = 0,79, общ. = 1,03 | | | |
| Костромичка | | | |
| AN 1/4 | 1,5 | 1,3 | 1,4 |
| AN 1/2 | 2,0 | 1,5 | 1,8 |
| AN | 2,3 | 1,8 | 2,1 |
| Среднее | 1,9 | 1,5 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,95, фактор В = 0,81, общ. = 1,05 | | | |
| Костромская розовая | | | |
| AN 1/4 | 1,4 | 1,2 | 1,3 |
| AN 1/2 | 1,9 | 1,6 | 1,8 |
| AN | 2,2 | 2,0 | 2,1 |
| Среднее | 1,8 | 1,6 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,97, фактор В = 0,76, общ. = 1,09 | | | |

2-iP 2,0 мг/л: у сорта Костромская розовая – 7,2 см, у сорта Костромичка – 7,0 см, у сорта Koralle – 5,4 см.

У растений-регенерантов красники на этапе собственно микроразмножение выявлено большее количество побегов при использовании питательной среды WPM ½: в среднем 3,5 шт. На среде WPM 1/4 оно составило 2,6 шт., на сред WPM – 2,0 шт. Повышение концентрации цитокинина 2-iP от 1,0 до 2,0 мг/л способствовало увеличению количества побегов у растений-регенерантов в среднем в 1,4 раза (табл. 7).

Средняя длина побегов красники, в зависимости от состава питательной среды, не имела статистически значимых различий и варьировалась от 1,6 до 2,6 см.

Таблица 6. Суммарная длина побегов брусники обыкновенной на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-iP

Table 6. Total length of lingonberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-iP concentration

| Питательная среда | Концентрация 2-iP, мг/л | | |
|---|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 | Среднее |
| Koralle | | | |
| AN 1/4 | 1,8 | 1,9 | 1,9 |
| AN 1/2 | 2,7 | 3,6 | 3,2 |
| AN | 4,4 | 5,4 | 4,9 |
| Среднее | 3,0 | 3,6 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 1,58, фактор В = 1,47, общ. = 1,86 | | | |
| Костромичка | | | |
| AN 1/4 | 2,7 | 3,0 | 2,9 |
| AN 1/2 | 4,2 | 4,7 | 4,5 |
| AN | 5,8 | 7,0 | 6,4 |
| Среднее | 4,2 | 4,9 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 1,65, фактор В = 1,49, общ. = 1,88 | | | |
| Костромская розовая | | | |
| AN 1/4 | 3,1 | 2,5 | 2,8 |
| AN 1/2 | 4,2 | 4,7 | 4,4 |
| AN | 5,1 | 7,2 | 6,2 |
| Среднее | 4,1 | 4,8 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 1,69, фактор В = 1,52, общ. = 1,95 | | | |

Таблица 7. Количество побегов красники на одно растение (шт.) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-iP

Table 7. Number of bilberry shoots *in vitro* per plant (pieces) depending on nutrient medium and cytokinin 2-iP concentration

| Питательная среда | Концентрация 2-iP, мг/л | | |
|---|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 | Среднее |
| WPM 1/4 | 2,1 | 3,0 | 2,6 |
| WPM 1/2 | 3,0 | 3,9 | 3,5 |
| WPM | 1,5 | 2,4 | 2,0 |
| Среднее | 2,2 | 3,1 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,82, фактор В = 0,78, общ. = 0,95 | | | |

Таблица 8. Средняя длина побегов красники на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-iP

Table 8. Average length of bilberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-iP concentration

| Питательная среда | Концентрация 2-iP, мг/л | | |
|---|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 | Среднее |
| WPM 1/4 | 1,5 | 1,6 | 1,6 |
| WPM 1/2 | 2,4 | 2,7 | 2,6 |
| WPM | 1,8 | 2,0 | 1,9 |
| Среднее | 1,9 | 2,1 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 1,05, фактор В = 0,93, общ. = 1,59 | | | |

Таблица 9. Суммарная длина побегов красники на одно растение (см) *in vitro* в зависимости от питательной среды и концентрации цитокинина 2-iP

Table 9. Total length of bilberry shoots *in vitro* per plant (cm) depending on nutrient medium and cytokinin 2-iP concentration

| Питательная среда | Концентрация 2-iP, мг/л | | |
|---|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 | Среднее |
| WPM 1/4 | 3,2 | 4,8 | 4,0 |
| WPM 1/2 | 7,2 | 10,5 | 8,9 |
| WPM | 2,7 | 4,8 | 3,8 |
| Среднее | 4,4 | 6,7 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 1,94, фактор В = 1,89, общ. = 2,17 | | | |

Концентрация цитокинина 2-iP не оказала влияния на среднюю длину побегов красники, которая составляла при концентрации 2-iP 2,0 мг/л в среднем 2,1 см, при 1,0 мг/л – 1,9 см (табл. 8).

Суммарная длина побегов красники в вариантах с использованием питательной среды WPM 1/2 составила в среднем 8,9 см и была больше (в 2,2–2,3 раза), чем в других вариантах. Увеличение суммарной длины побегов красники в среднем в 1,5 раза наблюдалось при повышении в питательной среде концентрации цитокинина 2-iP от 1,0 до 2,0 мг/л. Максимальное значение (10,5 см) суммарная длина побегов красники имела на питательной среде WPM 1/2 с добавлением цитокинина 2-iP в концентрации 2,0 мг/л (табл. 9).

На этапе укоренения микропобегов *in vitro* установлено, что количество корней брусники обыкновенной в расчете на одно растение в вариантах с индолилмасляной кислотой в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л и индолилуксусной кислотой в концентрации 1,0 мг/л составляло в среднем 1,2–1,3 шт. В варианте с индолилуксусной кислотой в концентрации 2,0 мг/л оно было в 1,7–1,8 раза больше (2,2 шт.). Существенных различий по количеству корней, в зависимости от сорта брусники обыкновенной, не выявлено: в среднем количество корней у сорта Koralle составляло 1,6 шт., у сорта Костромичка – 1,5 шт., у сорта Костромская розовая – 1,3 шт. (табл. 10).

Средняя длина корней брусники обыкновенной увеличивалась с повышением концентрации ауксина. Максимальный показатель (в среднем 2,6 см) отмечен в варианте с индолилуксусной кислотой при концентрации 2,0 мг/л, 1,0 мг/л – в 2 раза меньше (1,3 см). При концентрации индолилмасляной кислоты 2,0 мг/л средняя длина корней составляла 1,6 см, при 1,0 мг/л – 1,0 см. Статистически значимых различий по средней длине, в зависимости от сорта, не наблюдалось (табл. 11).

Таблица 10. Количество корней брусники обыкновенной на одно растение (шт.) в зависимости от концентрации ауксинов и сорта

Table 10. Number of lingonberry roots per plant depending on auxin concentration and variety

| Препарат | Концентрация, мг/л | Сорт | | | Среднее |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Koralle | Костромичка | Костромская розовая | |
| Индолилуксусная кислота | 1,0 | 1,4 | 1,2 | 1,0 | 1,2 |
| | 2,0 | 2,4 | 2,3 | 2,0 | 2,2 |
| Индолилмасляная кислота | 1,0 | 1,3 | 1,2 | 1,3 | 1,3 |
| | 2,0 | 1,5 | 1,3 | 1,1 | 1,3 |
| Среднее | | 1,6 | 1,5 | 1,3 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,54, фактор В = 0,41, общ. = 0,73 | | | | | |

Таблица 11. Средняя длина корней брусники обыкновенной на одно растение (см) в зависимости от концентрации ауксинов и сорта

Table 11. Average lingonberry root length per plant (cm) depending on auxin concentration and variety

| Препарат | Концентрация, мг/л | Сорт | | | Среднее |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Koralle | Костромичка | Костромская розовая | |
| Индолилуксусная кислота | 1,0 | 1,2 | 1,3 | 1,4 | 1,3 |
| | 2,0 | 2,4 | 2,5 | 2,8 | 2,6 |
| Индолилмасляная кислота | 1,0 | 1,0 | 1,1 | 1,0 | 1,0 |
| | 2,0 | 1,5 | 1,7 | 1,5 | 1,6 |
| Среднее | | 1,5 | 1,6 | 1,7 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,61, фактор В = 0,44, общ. = 0,91 | | | | | |

Таблица 12. Суммарная длина корней (см) брусники обыкновенной на одно растение в зависимости от концентрации ауксинов и сорта

Table 12. Total length of lingonberry roots (cm) per plant depending on auxin concentration and variety

| Препарат | Концентрация, мг/л | Сорт | | | Среднее |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Koralle | Костромичка | Костромская розовая | |
| Индолилуксусная кислота | 1,0 | 1,7 | 1,6 | 1,4 | 1,6 |
| | 2,0 | 5,8 | 5,8 | 5,7 | 5,8 |
| Индолилмасляная кислота | 1,0 | 1,3 | 1,4 | 1,3 | 1,3 |
| | 2,0 | 2,4 | 2,3 | 1,7 | 2,1 |
| Среднее | | 2,8 | 2,8 | 2,5 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 1,01, фактор В = 0,95, общ. = 1,03 | | | | | |

Суммарная длина корней брусники обыкновенной в варианте с индолилуксусной кислотой в концентрации 2,0 мг/л достигала в среднем 5,8 см, что в 2,8–4,5 раза больше, чем в других вариантах. Значимых сортовых различий по суммарной длине корней брусники не установлено: у сорта Костромская розовая – 2,5 см, у сортов Костромичка и Koralle – 2,8 см (табл. 12).

При клональном микроразмножении красники установлено, что с повышением концентрации в питательной среде ауксинов от 1,0 до 2,0 мг/л увеличивалось количество корней в расчете на одно растение: в вариантах с индолилмасляной кислотой – в среднем в 1,2 раза, с индолилуксусной кислотой – в 1,3 раза. Значимых различий по количеству корней, в зависимости от формы красники, не выявлено (табл. 13).

Средняя длина корней красники уменьшалась при увеличении концентрации в питательной среде ауксинов от 1,0 до 2,0 мг/л при использовании как индолилмасляной кислоты, так и индолилуксусной в среднем в 1,3 раза. В зависимости от формы средняя длина корней красники практически не различалась (табл. 14).

Суммарная длина корней красники была наибольшей в варианте с индолилмасляной кислотой

Таблица 13. Количество корней красники на одно растение (шт.) в зависимости от концентрации ауксинов и формы

Table 13. Number of bilberry roots per plant depending on auxin concentration and variety

| Препарат | Концентрация, мг/л | Форма | | Среднее |
|---|---|---|---|---|
| | | Сахалинская | Курильская | |
| Индолилуксусная кислота | 1,0 | 1,3 | 1,2 | 1,2 |
| | 2,0 | 1,7 | 1,6 | 1,6 |
| Индолилмасляная кислота | 1,0 | 1,6 | 1,5 | 1,5 |
| | 2,0 | 1,8 | 1,9 | 1,8 |
| Среднее | | 1,6 | 1,5 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,32, фактор В = 0,30, общ. = 0,76 | | | | |

Таблица 14. Средняя длина корней красники на одно растение (см) в зависимости от концентрации ауксинов и формы

Table 14. Average length of bilberry roots per plant (cm) depending on auxin concentration and variety

| Препарат | Концентрация, мг/л | Форма | | Среднее |
|---|---|---|---|---|
| | | Сахалинская | Курильская | |
| Индолилуксусная кислота | 1,0 | 1,0 | 1,3 | 1,0 |
| | 2,0 | 0,9 | 0,7 | 0,8 |
| Индолилмасляная кислота | 1,0 | 1,3 | 1,1 | 1,2 |
| | 2,0 | 1,0 | 0,8 | 0,9 |
| Среднее | | 1,1 | 1,0 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,24, фактор В = 0,21, общ. = 0,60 | | | | |

Таблица 15. Суммарная длина корней красники на одно растение (см) в зависимости от концентрации ауксинов и формы

Table 15. Total length of bilberry roots per plant (cm) depending on auxin concentration and variety

| Препарат | Концентрация, мг/л | Форма | | Среднее |
|---|---|---|---|---|
| | | Сахалинская | Курильская | |
| Индолилуксусная кислота | 1,0 | 1,3 | 1,6 | 1,5 |
| | 2,0 | 1,5 | 1,1 | 1,3 |
| Индолилмасляная кислота | 1,0 | 2,1 | 1,7 | 1,9 |
| | 2,0 | 1,8 | 1,5 | 1,6 |
| Среднее | | 1,7 | 1,5 | – |
| $НСР_{05}$ фактор А = 0,36, фактор В = 0,33, общ. = 0,02 | | | | |

с концентрацией 1,0 мг/л и составляла в среднем 1,9 см. В варианте с индолилуксусной кислотой в той же концентрации данный показатель составлял 1,5 см. При концентрации ауксинов 2,0 мг/л соответствующие значения суммарной длины были в среднем в 1,2 раза меньше, чем при 1,0 мг/л (табл. 15). В зависимости от формы красники суммарная длина корней в расчете на одно растение не имела существенных различий.

На этапе адаптации к нестерильным условиям исследуемых лесных ягодных растений, выращенных в культуре *in vitro*, наилучшая приживаемость брусники обыкновенной всех сортов наблюдалась на субстрате из верхового торфа (89–92 %). Красника лучше всего приживалась при использовании смести торфа с песком в соотношении 1:1 (91–95 %) (табл. 16).

**Выводы**

В результате проведенных экспериментальных исследований по клональному размножению лесных ягодных растений рода *Vaccinium* установлено, что на этапе введения в культуру *in vitro* наиболее эффективными для эксплантов брусники обыкновенной оказались стерилизаторы $AgNO_3$ 0,2 % и Лизоформин 3000 5 % при экспозиции 10 мин, для красники – $AgNO_3$ 0,2 % при времени стерилизации 10 мин и Экостерилизатор бесхлорный 5 % при времени стерилизации 20 мин.

На этапе собственно микроразмножение суммарная длина побегов брусники обыкновенной была больше в вариантах с питательной средой AN. Максимального значения суммарная длина побегов брусники обыкновенной достигала на питательной среде AN при концентрации цитокинина 2-iP

Таблица 16. Приживаемость брусники обыкновенной и красники на этапе адаптации к нестерильным условиям

Table16. Survival rate of lingonberry and bilberry during adaptation to non-sterile conditions

| Сорт/форма | Субстрат | Приживаемость, % |
|---|---|---|
| Брусника обыкновенная | | |
| Koralle | Торф верховой | 89 |
| | Торф + песок 1:1 | 65 |
| | Торф + перлит 1:4 | 70 |
| | Торф + вермикулит 1:4 | 78 |
| Костромичка | Торф верховой | 92 |
| | Торф + песок 1:1 | 80 |
| | Торф + перлит 1:4 | 83 |
| | Торф + вермикулит 1:4 | 79 |
| Костромская розовая | Торф верховой | 90 |
| | Торф + песок 1:1 | 67 |
| | Торф + перлит 1:4 | 88 |
| | Торф + вермикулит 1:4 | 82 |
| Красника | | |
| Сахалинская | Торф верховой | 88 |
| | Торф + песок 1:1 | 91 |
| | Торф + перлит 1:4 | 74 |
| | Торф + вермикулит 1:4 | 69 |
| Курильская | Торф верховой | 90 |
| | Торф + песок 1:1 | 95 |
| | Торф + перлит 1:4 | 78 |
| | Торф + вермикулит 1:4 | 68 |

0,2 мг/л. Количество и суммарная длина побегов красники были больше в вариантах с питательной средой WPM 1/2. Максимальное значение суммарной длины побегов красники было достигнуто при испоользовании питательной среды WPM 1/2 и концентрации цитокинина 2-iP 0,2 мг/л. Увеличению количества и суммарной длины побегов брусники обыкновенной и красники способствовало повышение в питательных средах концентрации цитокинина 2-iP от 1,0 до 2,0 мг/л.

При равных концентрациях в питательной среде WPM ауксин индолилуксусная кислота стимулировал корнеобразование брусники обыкновенной *in vitro* более эффективно, чем индолилмасляная. Наибольшие количество, средняя и суммарная длина корней наблюдались при использовании в питательной среде WPM индолилуксусной кислоты в концентрации 2,0 мг/л. С повышением концентрации индолилуксусной и индолилмасляной кислот от 1,0 до 2,0 мг/л увеличивалось количество корней красники в расчете на одно растение и уменьшалась их длина. Наибольшая суммарная длина корней красники отмечена в варианте с индолилмасляной кислотой в концентрации 1,0 мг/л. При клональном микроразмножении брусники обыкновенной и красники существенных различий по биометрическим показателям на этапе укоренения микропобегов, в зависимости от сорта или формы, не выявлено.

На этапе адаптации к нестерильным условиям максимальная приживаемость растений брусники обыкновенной отмечена при использовании субстрата из верхового торфа, для красники – при использовании торфа с песком в соотношении 1:1.

**Критерии авторства**

А. И. Чудецкий проводил закладку лабораторного опыта на всех этапах микроклонального размножения, анализ литературных источников по вопросу использования биотехнологических способов размножения лесных ягодных растений и статистическую обработку данных. С. А. Родин руководил проектом, проводил анализ литературных источников по вопросу востребованности в сортовом посадочном материале лесных ягодных растений. Л. В. Зарубина и Г. В. Тяк проводили анализ литературных источников по вопросу актуальности использования и хозяйственной ценности лесных ягодных растений рода *Vaccinium*. И. Б. Кузнецова проводила закладку лабораторного опыта на всех этапах микроклонального размножения и статистическую обработку данных.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности**

Выражаем благодарность канд. с.-х. наук С. С. Макарову, канд. биол. наук Г. Ю. Макеевой, канд. с.-х. наук И. А. Кореневу и А. В. Тяку.

**Contribution**

A.I. Chudetsky was responsible for the laboratory experiment at all stages of micropropagation, the analysis of publications on the use of biotechnological methods of forest berry reproduction, and the statistical processing of the obtained data. S.A. Rodin supervised the project, reviewed scientific publications on the demand for forest berry planting material. L.V. Zarubina and G.V. Tyak reviewed literary data on the relevance and economic value of Vaccinium berries. I.B. Kuznetsova participated in the laboratory experiment at all stages of micropropagation and processed the obtained statistical data.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Acknowledgments**

We express our gratitude to Cand.Sci.(Agri.) Sergey S. Makarov, Cand.Sci.(Biol.) Galina Yu. Makeeva, Cand. Sci.(Agri.) Igor A. Korenev and Anatoly V. Tyak.

**References/Список литературы**

1. Makarov SS, Bagayev ES, Tsaregradskaya SYu, Kuznetsova IB. Problems of use and reproduction of phytogenic food and medicinal forest resources on the forest fund lands of the Kostroma region. Russian Forestry Journal. 2019;372(6):118–131. (In Russ.). https://doi.org/10.17238/issn0536-1036.2019.6.118

2. Ilin VS. Rosehip, cranberries and other rare garden culture. Chelyabinsk: YUUNIISK; 2017. 318 p. (In Russ.). [Ильин В. С. Шиповник, клюква и другие редкие культуры сада. Челябинск: ЮУНИИСК, 2017. 318 с.].

3. Tyak GV, Kurlovich LE, Tyak AV. Biological recultivation of degraded peatlands by creating forest berry plants. Vestnik of the Kazan State Agrarian University. 2016;11(2):43–46. (In Russ.). https://doi.org/10.12737/20633

4. Bujor O-C, Ginies C, Popa VI, Dufour C. Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. Food Chemistry. 2018;252:356–365. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.052

5. Nestby R, Hykkerud AL, Martinussen I. Review of botanical characterization, growth preferences, climatic adaptation and human health effects of *Ericaceae* and *Empetraceae* wild dwarf shrub berries in boreal, alpine and arctic areas. Journal of Berry Research. 2019;9(3):515–547. https://doi.org/10.3233/JBR-190390

6. Chudetsky AI, Kuznetsova IB, Makarov SS, Surov VV. Obtaining planting material for Kamchatka bilberry (*Vaccinium praestans* Lamb.) by clonal micropropagation. Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov. 2021;63(2):122–128. https://doi.org/10.34655/bgsha.2021.63.2.017

7. Dincheva I, Badjakov I. Assesment of the anthocyanin variation in Bulgarian bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.). International Journal of Medicine and Pharmaceutical Science. 2016;6(3):39–50.

8. Hossain MZ, Shea E, Daneshtalab M, Weber JT. Chemical analysis of extracts from newfoundland berries and potential neuroprotective effects. Antioxidants. 2016;5(4). https://doi.org/10.3390/antiox5040036

9. Cioch M, Satora P, Skotniczny M, Semik-Szczurak D, Tarko T. Characterisation of antimicrobial properties of extracts of selected medicinal plants. Polish Journal of Microbiology. 2017;66(4):463–472.

10. Dróżdż P, Šėžienė V, Pyrzynska K. Phytochemical properties and antioxidant activities of extracts from wild blueberries and lingonberries. Plant Foods for Human Nutrition. 2017;72(4):360–364. https://doi.org/10.1007/s11130-017-0640-3

11. Isaak CK, Wang P, Prashar S, Karmin O, Brown DCW, Debnath SC, *et al.* Supplementing diet with Manitoba lingonberry juice reduces kidney ischemia-reperfusion injury. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2017;97(9):3065–3076. https://doi.org/10.1002/jsfa.8200

12. Tian Y, Liimatainen J, Alanne A-L, Lindstedt A, Liu P, Sinkkonen J, *et al.* Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. Food Chemistry. 2017;220:266–281. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.145

13. Chizhik OV, Reshetnikov VN, Antipova TV. Genetic transformation of *Vaccinium vitis-idaea*. Plant Physiology and Genetics. 2018;50(1):23–28. (In Russ.). [Чижик О. В., Решетников В. Н., Антипова Т. В. Генетическая трансформация Vaccinium vitis-idaea L. // Физиология растений и генетика. 2018. Т. 50. № 1. С. 23–28.].

14. Alam Z, Roncal J, Peña-Castillo L. Genetic variation associated with healthy traits and environmental conditions in *Vaccinium vitis-idaea*. BMC Genomics. 2018;19(1). https://doi.org/10.1186/s12864-017-4396-9

15. Dróżdż P, Sežiene V, Wójcik J, Pyrzyńska K. Evaluation of bioactive compounds, minerals and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) fruits. Molecules. 2018;23(1). https://doi.org/10.3390/molecules23010053

16. Hoornstra D, Vesterlin J, Parnanen P, Al-Samadi A, Zlotogorski-Hurvitz A, Vered M, *et al.* Fermented lingonberry juice inhibits oral tongue squamous cell carcinoma invasion *in vitro* similarly to curcumin. In Vivo. 2018;32(5):1089–1095. https://doi.org/10.21873/invivo.11350

17. Angelova SG, Ivanova SKr, Trifonovac I, Volevad S, Georgievae I, Stoyanova A, *et al.* Vaccinium vitis-idaea L., origin from Bulgaria indicate in vitro antitumor effect on human cervical and breast cancer cells. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences. 2019;56(1):104–112.

18. Jin Y, Liu Z, Liu D, Shi G, Liu D, Yang Y, *et al.* Natural antioxidant of rosemary extract used as an additive in the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) pomace. Industrial Crops and Products. 2019;138. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.074

19. Kostrykina SA. The use of bilberry (*Vaccinium praestans* Lamb.) in bakery. Agro-Industrial Complex: Problems and Development Prospects: Abstracts of the All-Russian Scientific and Practical Conference; 2019; Blagoveshchensk. Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University; 2019. p. 68. (In Russ.). [Кострыкина С. А. Использование красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) в производстве мучных кондитерских изделий // Агропромышленный комплекс: проблемы и перспективы развития: Тезисы докладов всероссийской научно-практической конференции. Благовещенск, 2019. С. 68.]

20. Kowalska K, Olejnik A, Zielińska-Wasielica J, Olkowicz M. Inhibitory effects of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) fruit extract on obesity-induced inflammation in 3T3-L1 adipocytes and RAW 264.7 macrophages. Journal of Functional Foods. 2019;54:371–380. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.01.040

21. Pärnänen P, Nikula-Ijäs P, Sorsa T. Antimicrobial and anti-inflammatory lingonberry mouthwash – A clinical pilot study in the oral cavity. Microorganisms. 2019;7(9). https://doi.org/10.3390/microorganisms7090331

22. Zhang Z, Zhou Q, Huangfu G, Wu Y, Zhang J. Anthocyanin extracts of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) attenuate serum lipids and cholesterol metabolism in HCD-induced hypercholesterolaemic male mice. International Journal of Food Science and Technology. 2019;54(5):1576–1587. https://doi.org/10.1111/ijfs.14025

23. Onali T, Kivimäki A, Mauramo M, Salo T, Korpela R. Anticancer effects of lingonberry and bilberry on digestive tract cancers. Antioxidants. 2021;10(6). https://doi.org/10.3390/antiox10060850

24. Korenev IA, Tyak GV, Makarov SS. Creation of new varieties of forest berry plants and prospects of their intensive reproduction (*in vitro*). Forestry Information. 2019;(3):180–189. (In Russ.). https://doi.org/10.24419/LHI.2304-3083.2019.3.15

25. Georgieva M, Badjakov I, Dincheva I, Yancheva S, Kondakova V. *In vitro* propagation of wild Bulgarian small berry fruits (bilberry, lingonberry, raspberry and strawberry). Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2016;22(1):46–51.

26. Mazurek M, Siekierzyńska A. Efficient *in vitro* propagation of *Vaccinium vitis-idaea* L. plants on the double phase medium. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. 2018;21(4). https://doi.org/10.30825/5.ejpau.160.2018.21.4

27. Zontikov DN, Zontikova SA, Malakhova KV, Maramokhin EV. Influence of the composition of nutritional media and growth regulators during clonal micropropagation of some polyliploid forms of the genus *Vaccinium* L. Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2019;21(2):39–44. (In Russ.). [Влияние состава питательных сред и регуляторов роста при клональном микроразмножении некоторых полиплоидных форм рода *Vaccinium* L. / Д. Н. Зонтиков [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2019. Т. 21. № 2. С. 39–44.].

28. Arigundam U, Variyath AM, Siow YL, Marshall D, Debnath SC. Liquid culture for efficient *in vitro* propagation of adventitious shoots in wild *Vaccinium vitis-idaea* ssp. *minus* (lingonberry) using temporary immersion and stationary bioreactors. Scientia Horticulturae. 2020;264. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109199

29. Debnath S, Arigundam UC. In vitro propagation strategies of medicinally important berry crop, lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.). Agronomy. 2020;10(5). https://doi.org/10.3390/agronomy10050744

30. Upadyshev MT, Vershinina OV. Comparative assessment of the impact of magnetic pulse treatment at the stage of adaptation of blackberry and raspberry-blackberry hybrids microplants to non-sterile conditions. Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia. 2020;(63):53–60. (In Russ.). https://doi.org/10.31676/2073-4948-2020-63-53-60

31. Bjadovski IA, Upadyshev MT, Bronzova AD. Pulsed magnetic field impact on adaptation and vegetation of strawberry microplants (*Fragaria×ananassa* Duch.). Horticulture and Viticulture. 2021;(4):19–24. (In Russ.). https://doi.org/10.31676/0235-2591-2021-4-19-24

32. Makarov SS, Kuznetsova IB, Upadyshev MT, Rodin SA, Chudetsky AI. Clonal micropropagation of cranberry (*Oxycoccus palustris* Pers.). Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):67–76. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-67-76

33. Akimov MYu, Bessonov VV, Kodentsova VM, Eller KI, Vrzhesinskaya OA, Beketova NA, *et al.* Biological value of fruits and berries of Russian production. Problems of Nutrition. 2020;89(4):220–232. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10055

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2388
https://elibrary.ru/TEDSEC

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Geroprotective activity of trans-cinnamic acid isolated from the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*)

**Anastasiya M. Fedorova[1,*], Lyubov S. Dyshlyuk[1], Irina S. Milentyeva[1], Anna I. Loseva[1], Olga A. Neverova[1], Mohammed El Amine Khelef[2]**

[1] *Kemerovo State University, Kemerovo, Russia*

[2] *Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia*

*Received: 27.04.2022*
*Revised: 24.06.2022*
*Accepted: 05.07.2022*

**Anastasiya M. Fedorova: anastasija.fedorova-af2014@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-8071-4411*
*Lyubov S. Dyshlyuk: https://orcid.org/0000-0002-7333-8411*
*Irina S. Milentyeva: https://orcid.org/0000-0002-3536-562X*
*Anna I. Loseva: https://orcid.org/0000-0003-4037-2653*
*Olga A. Neverova: https://orcid.org/0000-0001-7921-0569*
*Mohammed El Amine Khelef: https://orcid.org/0000-0002-9371-7670*

*© A.M. Fedorova, L.S. Dyshlyuk, I.S. Milentyeva, A.I. Loseva, O.A. Neverova, M.E.A. Khelef, 2022*

**Abstract.**
Trans-cinnamic acid is a phenolic compound with a wide range of bioactive properties, including antioxidant and antibacterial effects. It also has high potential in the food and cosmetic industries. We aimed to isolate trans-cinnamic acid from the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*) and study its geroprotective activity on *Caenorhabditis elegans* nematodes used as a model organism.
Our study objects included the *S. baicalensis* root culture and its extract, trans-cinnamic acid isolated from the extract, and *C. elegans* nematodes. Trans-cinnamic acid was isolated by high-performance liquid chromatography. The acid's geroprotective activity was studied by evaluating its effect at concentrations of 10, 50, 100, and 200 µmol/L on the lifespan, stress resistance, and reproductivity of *C. elegans*. For the lifespan study, the nematodes were cultivated at 20°C for 61 days. To assess their resistance to oxidative stress, 15 µL of 1M paraquat was added to each well of the plate. Thermal stress resistance was determined by raising the temperature to 33°C. For the reproductivity study, the nematodes were cultivated in the S-medium with the addition of *Escherichia coli* OP50 and trans-cinnamic acid at required concentrations for 72 h.
The maximum increase in lifespan (9.8%) was observed in the nematodes treated with 50 µmol/L of trans-cinnamic acid. Under oxidative stress, all the concentrations of trans-cinnamic acid increased the survival of nematodes, while under thermal stress, trans-cinnamic acid reduced the percentage of surviving nematodes. At a concentration of 100 µmol/L, trans-cinnamic acid increased the nematodes' reproduction by 1.48 times.
Based on our data, trans-cinnamic acid isolated from *S. baicalensis* can be recommended as a bioactive compound with geroprotective activity. However, further research is needed on other model organisms with detailed toxicity studies.

**Keywords.** Trans-cinnamic acid, root culture, *Scutellaria baicalensis*, *Caenorhabditis elegans*, geroprotector, life expectancy, stress resistance, reproduction

**Funding.** The study is in line with the state assignment on "Screening plant-based bioactive substances with geroprotective properties and developing technology to produce nutraceuticals that slow down aging" (project FZSR-2020-0006). The equipment was provided by the Center for Collective Use "Instrumental Methods of Analysis in the Field of Applied Biotechnology" at Kemerovo State University (KemSU).

**For citation:** Fedorova AM, Dyshlyuk LS, Milentyeva IS, Loseva AI, Neverova OA, Khelef MEA. Geroprotective activity of trans-cinnamic acid isolated from the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*). Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):582–591. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2388

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2388
https://elibrary.ru/TEDSEC

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Геропротекторная активность транс-коричной кислоты, выделенной из шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*)

**А. М. Федорова[1,*], Л. С. Дышлюк[1], И. С. Милентьева[1], А. И. Лосева[1], О. А. Неверова[1], Мохаммед Э. А. Хелеф[2]**

[1] *Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия*

[2] *Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия*

*Поступила в редакцию: 27.04.2022*
*Принята после рецензирования: 24.06.2022*
*Принята к публикации: 05.07.2022*

**А. М. Федорова: anastasija.fedorova-af2014@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-8071-4411*
*Л. С. Дышлюк: https://orcid.org/0000-0002-7333-8411*
*И. С. Милентьева: https://orcid.org/0000-0002-3536-562X*
*А. И. Лосева: https://orcid.org/0000-0003-4037-2653*
*О. А. Неверова: https://orcid.org/0000-0001-7921-0569*
*Мохаммед Э. А. Хелеф: https://orcid.org/0000-0002-9371-7670*

*© А. М. Федорова, Л. С. Дышлюк, И. С. Милентьева, А. И. Лосева, О. А. Неверова, М. Э. А. Хелеф, 2022*

**Аннотация.**
Транс-коричная кислота является фенольным соединением с широким спектром биологической активности, включая антиоксидантную и антибактериальную способность. Обладает высоким потенциалом для применения в пищевой и косметической промышленности. Целью работы являлось выделение транс-коричной кислоты из шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*) и исследование ее геропротекторной направленности на модели нематоды *Caenorhabditis elegans*. Объектами исследования являлись корневая культура *S. baicalensis* и ее экстракт, транс-коричная кислота, полученная из экстракта корневой культуры *S. baicalensis*, и штамм *C. elegans*. Выделение транс-коричной кислоты проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Исследование геропротекторной активности транс-коричной кислоты осуществляли путем оценки влияния на продолжительность жизни, стрессоустойчивость и репродуктивные способности нематод *C. elegans* при концентрациях 10, 50, 100 и 200 мкмоль/л. Продолжительность жизни нематоды изучали в процессе культивирования при 20 °C в течение 61 дня. Для оценки стрессоустойчивости при окислительном стрессе в каждую ячейку планшета добавляли 15 мкл 1М параквата, при температурном стрессе – повышали температуру до 33 °C. Репродуктивные способности оценивали с использованием нематод, которые культивировали в S-среде с добавлением *Escherichia coli* OP50 и транс-коричной кислоты в необходимой концентрации в течение 72 ч.
Максимальная продолжительность жизни наблюдалась у нематод, обработанных 50 мкмоль/л транс-коричной кислоты (9,8 %). При окислительном стрессе транс-коричная кислота приводила к увеличению выживаемости во всем диапазоне испытуемых концентраций, а под действием температуры снижала процент выживших нематод. При концентрации транс-коричной кислоты 100 мкмоль/л омечено увеличение репродуктивности в 1,48 раз.
Основываясь на полученных данных, транс-коричную кислоту из *S. baicalensis* можно рекомендовать как биологически активное соединение с геропротекторной активностью. Однако необходимы дополнительные исследования на других модельных организмах с подробными исследованиями токсичности.

**Ключевые слова.** Транс-коричная кислота, корневая культура, *Scutellaria baicalensis*, *Caenorhabditis elegans*, геропротектор, продолжительность жизни, стрессоустойчивость, репродуктивность

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Скрининг биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих геропротекторными свойствами, и разработка технологии получения нутрицевтиков, замедляющих старение» (проект FZSR-2020-0006). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» на базе Кемеровского государственного университета (КемГУ).

**Для цитирования:** Геропротекторная активность транс-коричной кислоты, выделенной из шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*) / А. М. Федорова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 582–591. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2388

**Introduction**

Life expectancy in the first-world countries has significantly increased due to proper hygiene and nutrition. According to the World Health Organization, there are 125 million people aged 80+ in the world [1]. This explains a growing need for developing drugs to prevent age-related diseases.

Old age is a major risk factor for common chronic, neurodegenerative, and oncological diseases such as cancer, cardiovascular diseases, multiple sclerosis, Parkinson's disease, etc. [2]. Aging is often accompanied by genomic damage, mitochondrial dysfunction, telomere shortening, epigenetic changes, proteostasis dysregulation, disruption of intercellular communication, and other processes. Cellular aging is defined as a response to stress that gives cells an irreversible proliferative capacity, thus causing the body to age [3].

Creating anti-aging drugs is a long process with many variables and it is difficult to assess their effect in clinical trials [4, 5]. Metformin is one of the drugs with an anti-aging effect that is used to treat diabetes mellitus [6]. However, we should distinguish between drugs that are aimed at reversing the aging process and geroprotective drugs that can prevent premature aging and increase life expectancy [2, 7, 8].

Polyphenols, whose molecules contain one or more phenolic hydroxyl groups, exhibit antioxidant, antitumorous, cardioprotective, anticancerous, and antimicrobial properties [9]. There is growing evidence that phenolic acids, especially hydroxycinnamic acids, have an effect on the regulation of lipid metabolism. For example, caffeic, ferulic, and coumaric acids significantly reduce hepatic lipids in rats with high cholesterol [10].

Trans-cinnamic acid (3-phenylpropenoic acid) is the main phenolic compound in plants [11]. Many studies have reported its geroprotective activity due to antibacterial, antidiabetic, anticancerous, and antiaging properties [12, 13].

Many medicinal plants growing in the Siberian Federal Okrug are sources of geroprotective compounds [14]. For example, the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*) contains flavonoids (quercetin, rutin, catechin, luteonin, etc.), phenolic acids (caffeic, ferulic, *p*-coumaric, *p*-hydroxybenzoic, and cinnamic), vitamins, carotenoids, and terpenes [15–19]. In order to preserve the diversity of its species, trans-cinnamic acid should be isolated from this plant's cell cultures *in vitro* [20]. Previous studies have found a significant amount of trans-cinnamic acid in the *in vitro* root culture extract of *S. baicalensis* [21].

A number of model organisms are used to study the effect of bioactive substances of plant origin on the aging process. They include nematodes (*Caenorhabditis elegans*), fruit flies (*Drosophila melanogaster*), yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*), short-lived fish (*Nothobranchius furzeri*), and rodents (mice and rats) [1].

In this study, we used nematodes *C. elegans* as a preclinical experimental model mainly due to their short lifespan under normal growth conditions [22]. This feature of nematodes allows scientists to study processes that affect aging and life expectancy. In addition, using *C. elegans* is cost-effective since they feed on inexpensive microorganisms such as *Escherichia coli* bacteria. Also, growing worms can be fully automated using a flow cytometry apparatus, where they are distributed in analytical plates, as well as robots that place the experimental samples in the wells [23]. Nematodes have a transparent body and do not need to be stained at all growth stages, so their internal organs are easily visible under a microscope. At the subcellular and tissue levels, fluorescent label reporters are used to study the distribution of expressing genes and their protein products. Powerful phase-contrast microscopes enable scientists to observe the division and death of individual worm cells [24, 25].

*C. elegans* has a lifespan of only three weeks, which makes it a convenient model to use. With sufficient food, optimal temperatures, and population control, nematodes can reach the adult growth stage in three days. Their embryogenesis is faster compared to other model organisms. At 20–25°C, the development of each cell can be traced in just 10–12 h. After embryonic development, nematode larvae go through several stages (L1–L4) before becoming adults [26]. The studies into the lifespan of nematodes are usually carried out in Petri dishes using liquid and solid nutrient media [27]. Thus, *C. elegans* can be used as model organisms to study the geroprotective properties of various bioactive substances.

In this study, we aimed to isolate trans-cinnamic acid from the Baikal skullcap (*S. baicalensis*) and study its geroprotective activity in the *C. elegans* nematode.

**Study objects and methods**

Our study objects were:

– *in vitro* root culture of the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*);
– *in vitro* root culture extract of the Baikal skullcap (*S. baicalensis*);
– trans-cinnamic acid obtained from the *in vitro* root culture extract of the Baikal skullcap (*S. baicalensis*); and
– soil nematodes *Caenorhabditis elegans* (strain N2 Bristol).

Germinated sterile seeds of *S. baicalensis* were used to obtain the root culture (Botanical Garden of the Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad). The seeds were sterilized in several stages: they were washed with detergent, placed in 95% ethanol for 30 s, and transferred to a 6% NaOCl solution for 30 min. After sterilization, the seeds were rinsed with sterile distilled water and then washed three times with it for 20 min. The seedlings grew for 14–28 days on a nutrient medium containing 50.00 mg of $B_5$ macrosalts,

10.00 mg of $B_5$ microsalts, 5.00 mL of Fe-EDTA, 10.00 mg of thiamine, 1.00 mg of pyridoxine, 1.00 mg of nicotinic acid, 30.00 g of sucrose, 100.00 mg of inositol, 0.05 mg of 6-benzylaminopurine, 1.00 mg of indoleacetic acid, and 20.00 g of agar. The seedlings were transformed with the soil agrobacteria *Agrobacterium rhizogenes* 15834 Swiss (Moscow, Russia). The *in vitro* root cultures of *S. baicalensis* were cultivated for 5 weeks. They were first grown in 100 mL flasks (40 mL of medium) and then transplanted into 300 mL flasks (100 mL of medium). The initial weight of the root culture ranged from 0.5 to 1.0 g [21].

The extract of the *S. baicalensis* root culture was obtained by water-alcohol extraction. For this, the dried and crushed plant roots were treated with 30.0 ± 0.2% ethyl alcohol (1:86) at 70.0 ± 0.1°C for 6.0 ± 0.1 h. The extraction was performed in an EKROS PE-4310 water bath (Ekroskhim, Russia) with a reflux condenser [28].

Then, trans-cinnamic acid was isolated from the obtained water-alcohol extract of the *S. baicalensis* root culture by high-performance liquid chromatography (HPLC) on a liquid chromatograph (Shimadzu LC-20 Prominence, Japan). The process of isolation and purification consisted of several stages, namely:

1. The extract of the *S. baicalensis* root culture was evaporated under vacuum at 50°C max;
2. Diethyl ether was added to the evaporated residue in three repetitions;
3. The ether fraction obtained was chromatographed on PF silica gel in an n-hexane-acetone gradient (1:0 → 0:1) to isolate hydroxycinnamic acids; and
4. Trans-cinnamic acid was isolated by subsequent rechromatography on PF silica gel in *n*-hexane-chloroform (1:0 → 0:1).

The trans-cinnamic acid isolated from the *S. baicalensis* root culture extract was at least 95% pure.

Infra-red (IR) spectroscopy was performed to analyze the chemical composition of trans-cinnamic acid on an FSM-1202 apparatus (Infraspek, St. Petersburg, Russia). IR spectra were recorded in potassium bromide disks (Fluka, Germany) in the range of 4000–400 $cm^{-1}$ with a resolution of 4 $cm^{-1}$ and the number of scans being 30. Air was used as a reference sample and it was recorded before the analysis of each sample. The Fspec (4.0.0.2) and Aspec (1.1) software was used to control the apparatus and process spectral data.

Next, we assessed the effect of trans-cinnamic acid on the lifespan, stress (oxidative and thermal) resistance, and reproductive abilities of *C. elegans* nematodes. The N2 Bristol strain was provided by the Laboratory for the Development of Innovative Medicines and Agrobiotechnologies (Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia). The nematodes were fed on *Escherichia coli* OP50 provided by the V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology (Moscow, Russia). We used a total of 100 nematodes for all the stages of the study. The control nematodes were not treated with solutions of trans-cinnamic acid. However, they were used in the lifespan and reproductivity tests and were subjected to oxidative and thermal stress.

To assess the effect of trans-cinnamic acid on nematodes, we used a stock solution of this acid in 10 mmol/L of dimethyl sulfoxide. Then, the acid was titrated by diluting stock solutions in sterile distilled water to concentrations of 2000, 1000, 500, and 100 μM. Each well with nematodes was filled with 15 μL of freshly prepared stock solutions, thus obtaining working concentrations of trans-cinnamic acid of 2000, 1000, 500, and 100 μmol/L, respectively. The stocks were stored at 4°C.

At the first stage, nematodes were cultivated on solid agar. For this, a daily culture of *E. coli* OP50 was obtained by inoculating one bacterial colony, which was previously grown on L-broth (15 g bacteriological agar, 10 g tryptone, 5 g yeast extract, 5 g NaCl, 1000 mL distilled water), in 5–10 mL of L-broth (10 g tryptone, 5 g yeast extract, 10 g NaCl, 800 mL distilled water). The bacteria were cultivated at 37°C for 24 h with intensive stirring. After the incubation of *E. coli* OP50, 50 μL of the overnight culture was inoculated into Petri dishes with an NGM medium (3 g NaCl, 17 g bacteriological agar, 2.5 g peptone, 975 mL distilled water) and incubated at 37°C for 24 h. Then, an NGM medium was prepared for cultivating nematodes. For this, the autoclaved NGM agar medium was cooled to 55°C in an EKROS PE-4310 water bath (Ekroskhim, Russia) for 15 min. Then, 1 mL of 1M $CaCl_2$, 1 mL of 5 mg/mL cholesterol in alcohol, 1 mL of 1M $MgSO_4$, and 25 mL of 1M $KPO_4$ buffer were added to the cooled agar. The nematodes were transferred to new NGM agar dishes in two ways: by a loop and by a piece of agar. The first method involved hooking a nematode with a calcined and cooled bacteriological loop and planting it on a bacterial lawn in the center of a new Petri dish with NGM agar. In the second method, a 5×0.5 cm piece of agar containing a nematode was cut out with a sterile scalpel from an NGM dish and transferred to the center of the new dish surface down. The dishes were incubated at 20°C.

At the second stage, the nematodes were synchronized. For this, 5–10 mL of sterile water was added to the Petri dish with a nematode and pipetted until its eggs were completely attached to the agar. The liquid from the dish was placed in a 50 mL centrifuge tube and centrifuged for 2 min (1200 rpm). Then, the supernatant was removed and the precipitate was washed with 10 mL of distilled water and centrifuged as described above. After repeated centrifugation, the supernatant was removed, and 5 mL of a freshly prepared mixture of 1 mL of 10 N NaOH, 2.5 mL of household bleach, and 6.5 mL of $H_2O$ was added to the precipitate. The mixture was thoroughly mixed on a vortex (Biosan, Latvia) for 10 min with a break every 2 min to observe the hydrolysis of nematodes under an Axio Observer Z1

microscope (Karl Zeiss, Germany). After that, 5 mL of M9 medium was added to neutralize the reaction. The resulting mixture was centrifuged for 2 min (2500 rpm). The supernatant was removed, and 10 mL of sterile water was added to the precipitate, with washing and centrifugation repeated 3 times. In the fourth repetition, the precipitate was washed with 10 mL of S-medium and the test tube with nematode eggs was placed on a slow shaker for a day at room temperature so that the nematodes could enter the L1 stage.

When the nematodes reached the L1 stage, an overnight bacterial culture of *E. coli* OP50 was added to the S-medium. The culture had been previously washed from the L-broth and resuspended in the S-medium to a concentration of 0.5 mg/mL. Then, 120 µL of the suspension containing bacteria and nematodes was added to each well of a 96-well plate (TPP, Switzerland). The plate was sealed with a film and left for 48 h at 20°C. After that, 15 µL of 1.2 mM 5-fluoro-2-deoxyuredin (FUDR) was poured into each well and left for a day at 20°C to prevent the nematodes from reproduction. At the end of incubation, the worms entered the L4 stage. Then, 15 µL of a solution with trans-cinnamic acid in different concentrations was added to the wells and the plates were cultivated at 20°C on day 5.

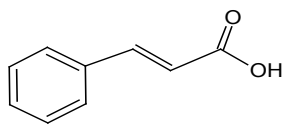
Next, we analyzed the effects of trans-cinnamic acid on the lifespan of *C. elegans* nematodes, their resistance to oxidative and thermal stress, as well as reproductive ability.

To assess the effect of trans-cinnamic acid on the lifespan of *C. elegans*, we used the acid at concentrations of 0 (control), 10, 50, 100, 200 µmol/L. The experiment was carried out in 96-well plates in the liquid S-medium for the cultivation of nematodes in 6 repetitions. The numbers of live and dead nematodes were counted every 4–7 days during 61 days of the experiment. The experiment was considered completed when all the control nematodes died.

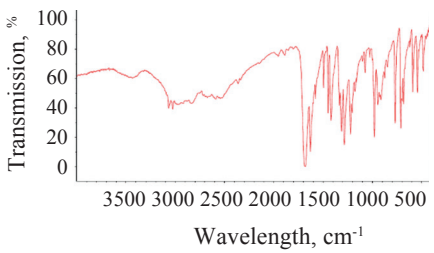
To determine the resistance of *C. elegans* to oxidative stress, we added 15 µL of 1M paraquat to each well and continued incubation in the thermostat at 20°C. The numbers of live and dead nematodes were counted twice: after 24 and 48 h of incubation.

The resistance of *C. elegans* to thermal stress was studied by increasing the temperature to 33°C. Live and dead nematodes were counted after 24 and 48 h of incubation.

The effect of trans-cinnamic acid on the reproductive ability of *C. elegans* was analyzed as follows. The synchronized nematodes at stage L1 in the S-medium with *E. coli* OP50 were placed in 48-well 270 µL plates and 30 µL of trans-cinnamic acid at the required concentration was immediately added to them. Thus, L1 larvae developed to the sexually mature stage of L4 in the presence of trans-cinnamic acid throughout the experiment for 72 h. Trans-cinnamic acid at each concentration was added in triplicate. When the nematodes reached stage L4, each well was filled with 300 µL of a lysis solution prepared in a 2-fold concentration and containing 2 mL of 10 M NaOH and 5.0 mL of bleach in 3.0 mL $ddH_2O$. The plate was covered with an adhesive film, placed in a MaxMate plate shaker (USA), and vortexed for 5 min at 1800 rpm. Then, the wells were filled with repeat nematodes for each test condition of each sample. The lysed nematodes were transferred into a 2 mL Eppendorf-type tube and centrifuged for 2 min at 1100 g at room temperature in an Eppendorf 5424 centrifuge (Eppendorf, USA). The supernatants were collected and transferred into a new Eppendorf tube, with 1 mL of M9 buffer added to the egg precipitate. The mixture was vigorously stirred and centrifuged for 2 min at 1100 g at room temperature. Then the procedure was repeated. Namely, the M9 washing medium was transferred into a new Eppendorf tube, and 1 mL of distilled water was added to the egg precipitate. The mixture was intensively stirred and used later to count the number of eggs formed in the L4 stage nematodes under the action of trans-cinnamic acid. For the count, 100 µL was taken from 1 mL of the




a



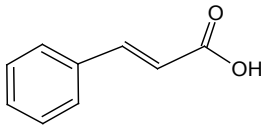
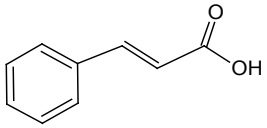
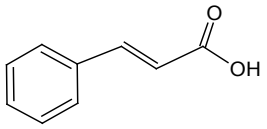
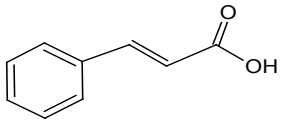
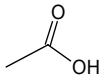
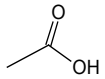
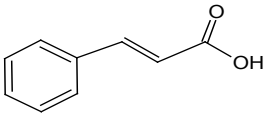

b

Figure 1. Trans-cinnamic acid obtained from the water-alcohol extract of the *Scutellaria baicalensis* root culture *in vitro*: a) structure; b) IR-spectrum

Рисунок 1. Транс-коричная кислота, полученная из водно-спиртового экстракта корневой культуры *in vitro Scutellaria baicalensis*: а) структура; b) ИК-спектр

Table 1. Vibrational frequencies and their correlation with the structural fragments of trans-cinnamic acid obtained from the water-alcohol extract of the *Scutellaria baicalensis* root culture *in vitro*

Таблица 1. Характеристичные колебательные частоты и их соотнесение с основными структурными фрагментами образца транс-коричной кислоты, полученной из водно-спиртового экстракта корневой культуры *in vitro Scutellaria baicalensis*

| Reference | Wavelength, $cm^{-1}$ | Type of vibrations/bonds of structural fragments |
|---|---|---|
|  | 3064 | Stretching vibrations of the diene fragment = C-H |
|  | 3026 | Stretching vibrations of the C-H bond |
| | 1680 | C=C of the diene fragment |
|  | 1631 | Stretching vibrations C=O of the carboxyl group |
|  | 1576, 1451, 1420, 1176 | Planar stretching vibrations of the C-C bonds of aromatic fragments |
|  | 1332, 1313, 1221 | Planar deformation vibrations of the O-H bond |
|  | 1285 | Stretching vibrations of the C-O bond |
| | 979 | Planar deformation vibrations of the ring hydroxyl groups |
|  | 766 | Out-of-plane deformation vibration of the C-C bond |

aqueous suspension of eggs previously obtained after the nematode lysis stage and transferred to a 96-well plate. The samples were placed in duplicate for each concentration of trans-cinnamic acid. The count was performed on an Axio Observer Z1 microscope (Karl Zeiss, Germany). If the well contained more than 100 eggs, they were additionally diluted and recounted.

**Results and discussion**

The results of IR spectroscopy of trans-cinnamic acid obtained from the *in vitro* root culture extract of *Scutellaria baicalensis* are shown in Fig. 1 and Table 1.

As we can see in the IR spectrum of trans-cinnamic acid (phenylpropenoic acid) isolated from *S. baicalensis*, the 3064 $cm^{-1}$ band is due to the stretching vibrations of the acid's diene fragment =C-H, while the 3026 $cm^{-1}$ band is determined by the C-H stretching vibrations in the benzene ring. These bands can be considered as characteristic for trans-cinnamic acid.

In this case, the 1680 $cm^{-1}$ band can also be considered as the C=C of the diene fragment. The 1631 $cm^{-1}$ band is due to the stretching vibrations of the carboxyl fragment. The 1576, 1451, 1420, and 1176 $cm^{-1}$ bands correlate with the stretching vibrations of the aromatic fragment's C-H bonds. The absorption band at 1451 $cm^{-1}$ is due to the deformation vibrations of the carboxyl fragment's C-O-H. The bands at 1332, 1313, and 1221 $cm^{-1}$ result from the O-H deformation vibrations and C-O stretching vibrations, including those of the carboxyl fragment. The 1285 $cm^{-1}$ band is associated with the stretching vibrations of the C-O bond.

The band at 979 $cm^{-1}$ correlates with the diene fragment in the trans-form. The monosubstituted ring

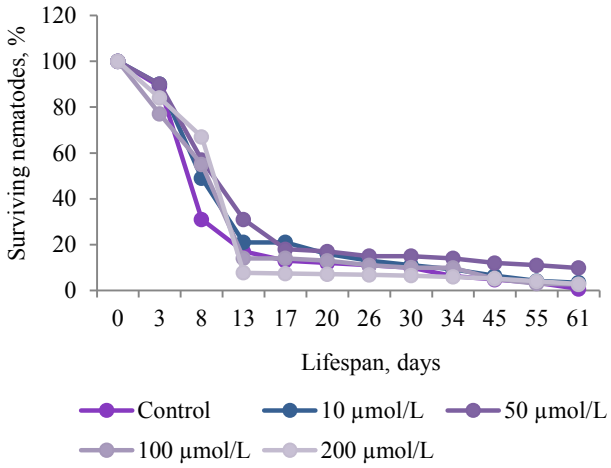



Figure 2. The effect of trans-cinnamic acid isolated from the water-alcohol extract of the *Scutellaria baicalensis in vitro* root culture on the lifespan of *Caenorhabditis elegans* nematodes

Рисунок 2. Влияние транс-коричной кислоты, выделенной из водно-спиртового экстракта корневой культуры *in vitro Scutellaria baicalensis*, на продолжительность жизни нематод *Caenorhabditis elegans*

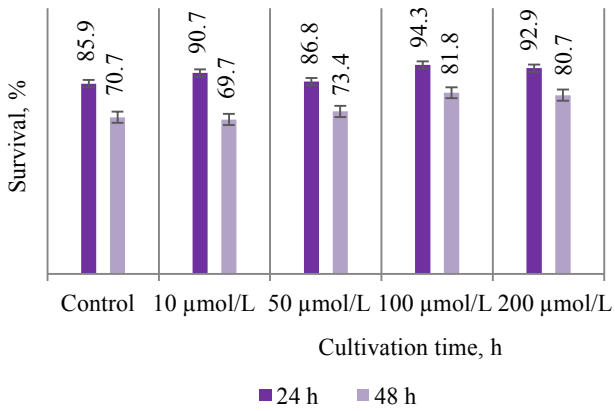



Figure 3. The effect of trans-cinnamic acid isolated from the water-alcohol extract of the *Scutellaria baicalensis in vitro* root culture on the resistance of nematodes to oxidative stress

Рисунок 3. Влияние транс-коричной кислоты, выделенной из водно-спиртового экстракта корневой культуры *in vitro Scutellaria baicalensis*, на устойчивость нематод при окислительном стрессе

is characterized by an out-of-planedeformation vibration of the C-C bond at 766 and 711 $cm^{-1}$.

Thus, the spectral activity corresponded to the structural features of trans-cinnamic acid.

Figure 2 shows the effect of trans-cinnamic acid (0 (control),10, 50, 100, and 200 µmol/L) isolated from the water-alcohol extract of the *S. baicalensis in vitro* root culture on the lifespan of *Caenorhabditis elegans* nematodes.

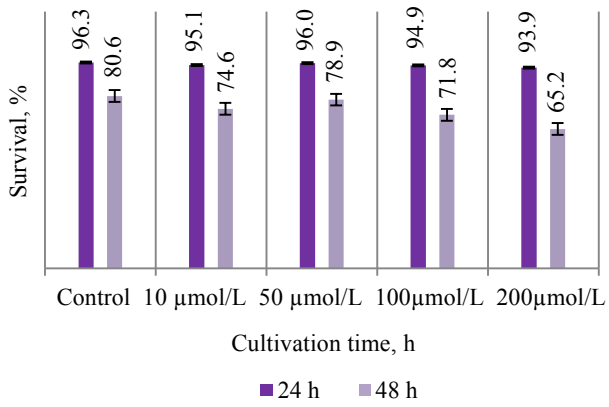



Figure 4. The effect of trans-cinnamic acid isolated from the water-alcohol extract of the *Scutellaria baicalensis in vitro* root culture on the resistance of nematodes to thermal stress

Рисунок 4. Влияние транс-коричной кислоты, выделенной из водно-спиртового экстракта корневой культуры *in vitro Scutellaria baicalensis*, на устойчивость нематод к температурному стрессу

As we can see in Fig. 2, on day 8 of the experiment, trans-cinnamic acid at all the concentrations under study (10, 50, 100, and 200 µmol/L) increased the lifespan of worms (by 18.1, 26.3, 24.1, and 36.6%, respectively). From day 13 to 34, 200 µmol/L of trans-cinnamic acid did not have a positive effect on the lifespan of nematodes, unlike the other concentrations. From day 34 to 61, all the concentrations increased the percentage of surviving nematodes. The highest increase in lifespan (9.8%) was observed in the nematodes treated with 50 µmol/L of trans-cinnamic acid.

Figures 3 and 4 show the effect of trans-cinnamic acid isolated from the water-alcohol extract of the *S. baicalensis in vitro* root culture on stress resistance.

As can be seen in Fig. 3, all the concentrations of trans-cinnamic acid (10–200 µmol/L) had a positive effect on the resistance of nematodes to oxidative stress during 24 and 48 h, i.e. increased their survival, compared to the control. We also found a gradual decrease in the percentage of surviving nematodes during 24-h oxidative stress with increased concentrations of trans-cinnamic acid.

After 5 days of nematode incubation in the presence of trans-cinnamic acid, the experimental plate was transferred to a 33°C incubator. Dead worms were counted after 24 h of nematode incubation at elevated temperature and after 48 h of incubation under prolonged thermal stress.

According to Fig. 4, trans-cinnamic acid significantly reduced the percentage of surviving nematodes under

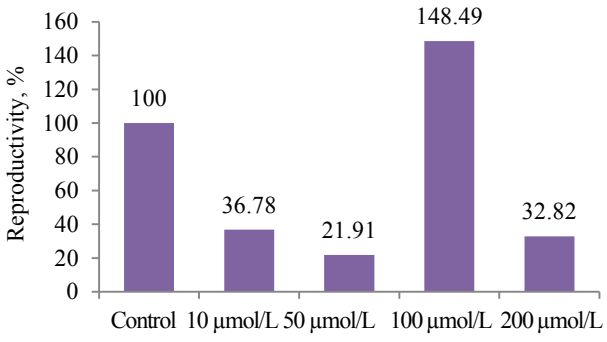



Figure 5. The effect of trans-cinnamic acid isolated from the water-alcohol extract of the *Scutellaria baicalensis in vitro* root culture on the reproductive abilities of nematodes

Рисунок 5. Влияние транс-коричной кислоты, выделенной из водно-спиртового экстракта корневой культуры *in vitro Scutellaria baicalensis*, на репродуктивные способности нематод

thermal stress with increased concentrations from 10 to 200 µmol/L.

Figure 5 shows the effect of trans-cinnamic acid isolated from the water-alcohol extract of the *S. baicalensis in vitro* root culture on the reproductive abilities of *C. elegans* nematodes.

As we can see in Fig. 5, trans-cinnamic acid at the concentrations of 10, 50, and 200 µmol/L did not significantly affect the reproductive performance of nematodes, compared to the control. The concentration of 100 µmol/L was the most effective since it produced 1.48 times more eggs, compared to the control.

**Conclusion**

Modern medical gerontology is looking for ways to increase life expectancy with a focus on geroprotectors – special compounds that reduce the rate of aging. Plants are the main source of geroprotectors, including *Scutellaria baicalensis*. Since this is a rare plant included in the Russian Red Data Book, we used its root culture as a source of trans-cinnamic acid.

In particular, we isolated trans-cinnamic acid from the water-alcohol extract of the *S. baicalensis in vitro* root culture b HPLC. The isolated bioactive compound was at least 95% pure. According to IR spectroscopy, the spectral activity corresponded to the structural features of trans-cinnamic acid.

To study the geroprotective activity of trans-cinnamic acid, we evaluated its effect in various concentrations on the lifespan, oxidative and thermal stress resistance, as well as reproductivity of *Caenorhabditis elegans* used as a model organism. As a result, we drew the following conclusions:

– all the studied concentrations of trans-cinnamic acid increased the lifespan of *C. elegans* worms, with the highest increase achieved by 50 µmol/L;
– all the concentrations of trans-cinnamic acid (10–200 µmol/L) had a positive effect on the resistance of nematodes to oxidative stress increasing their survival, compared to the control;
– under thermal stress, increased concentrations of trans-cinnamic acid significantly reduced the percentage of surviving nematodes; and
– trans-cinnamic acid at a concentration of 100 µmol/L increased the reproductive capacity of nematodes, producing 1.48 times more eggs, compared to the control. The remaining concentrations did not have such an effect.

Based on our data, trans-cinnamic acid can be used as a bioactive substance with geroprotective properties. However, further research is needed on other model organisms with detailed toxicity studies to determine the full potential of trans-cinnamic acid as an anti-aging agent capable of slowing down the aging process and extending life.

**Contribution**

All the authors equally contributed to the study concept, data processing and analysis, as well as writing the manuscript.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Критерии авторства**

Все авторы внесли равный вклад в создание исследования, обработку и анализ полученных результатов, а также в оформление статьи.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**References/Список литературы**

1. Folch J, Busquets O, Ettcheto M, Sánchez-López E, Pallàs M, Beas-Zarate C, *et al.* Experimental models for aging and their potential for novel drug discovery. Current Neuropharmacology. 2018;16(10):1466–1483. https://doi.org/10.2174/1570159X15666170707155345

2. Schmeer C, Kretz A, Wengerodt D, Stojiljkovic M, Witte OW. Dissecting aging and senescence – current concepts and open lessons. Cells. 2019;8(11). https://doi.org/10.3390/cells8111446

3. Bartke A. New directions in research on aging. Stem Cell Reviews and Reports. 2022;18(4):1227–1233. https://doi.org/10.1007/s12015-021-10305-9

4. Gems D. What is an anti-aging treatment? Experimental Gerontology. 2014;58:14–18. https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.07.003

5. Zimina MI, Sukhih SA, Babich OO, Noskova SYu, Abrashina AA, Prosekov AYu. Investigating antibiotic activity of the genus bacillus strains and properties of their bacteriocins in order to develop next-generation pharmaceuticals. Foods and Raw Materials. 2016;4(2):92–100. https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-2-92-100

6. Chatsirisupachai K, Palmer D, Ferreira S, de Magalhães JP. A human tissue-specific transcriptomic analysis reveals a complex relationship between aging, cancer, and cellular senescence. Aging Cell. 2019;18(6). https://doi.org/10.1111/acel.13041

7. Asyakina LK, Fotina NV, Izgarysheva NV, Slavyanskiy AA, Neverova OA. Geroprotective potential of *in vitro* bioactive compounds isolated from yarrow (*Achilleae millefolii* L.) cell cultures. Foods and Raw Materials. 2021;9(1):126–134. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-126-134

8. Dyshlyuk LS, Fedorova AM, Loseva AI, Eremeeva NI. Callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* as a source of geroprotectors. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):423–432. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432

9. Zyaitdinov DR, Evteev AV, Bannikova AV. Study of antioxidant and prebiotic properties of xylooligosaccharides and pofyphenols from secondary bioproducts of Cereafs. Modern Science and Innovations. 2020;31(3):50–58. https://doi.org/10.37493/2307-910X.2020.3.7

10. Wang Z, Ge S, Li S, Lin H, Lin S. Anti-obesity effect of trans-cinnamic acid on HepG2 cells and HFD-fed mice. Food and Chemical Toxicology. 2020;137. https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111148

11. Son J, Jang JH, Choi IH, Lim CG, Jeon EJ, Bae Bang H, *et al.* Production of *trans*-cinnamic acid by whole-cell bioconversion from L-phenylalanine in engineered *Corynebacterium glutamicum*. Microbial Cell Factories. 2021;20(1). https://doi.org/10.1186/s12934-021-01631-1

12. Neganova ME, Semenov V, Semenova M, Redkozubova OM, Aleksandrova YuR, Lysova EA, *et al.* Bioisosteric analogues of cinnamic acid as effective neuroprotectors. Biomedical Chemistry: Research and Methods. 2018;1(3). (In Russ.). https://doi.org/10.18097/BMCRM00052

13. Dorkina EG, Paukova EO, Agadzhanyan ZS, Sadzhaya LA, Pavlova LM. Antioxidant and membrane-stabilizing effect of natural flavonoids in acute experimental carbon tetrachloride hepatosis. Development, research and marketing of new pharmaceutical products: collection of scientific papers. Pyatigorsk: Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy; 2005. P. 336–338. (In Russ.). [Антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие природных флавоноидов при остром экспериментальном тетрахлорметановом гепатозе / Е. Г. Доркина [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. Пятигорск: Пятигорская государственная фармацевтическая академия, 2005. С. 336–338.].

14. Dyshlyuk LS, Dmitrieva AI, Ivanova SA, Golubtsova YuV, Ostroumov LA. *Panax ginseng* callus, suspension, and root cultures: extraction and qualitative analysis. Foods and Raw Materials. 2020;8(2):369–376. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-369-376.

15. Martin J, Dušek J. Flavonoid accumulation in Scutellaria baicalensis Georgii in vitro cultures upon treatment with sodium cinnamate. Ceska a Slovenska Farmacie. 2007;56(6):280–283.

16. Sytar O, Hemmerich I, Zivcak M, Rauh C, Brestic M. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. Saudi Journal of Biological Sciences. 2018;25(4):631–641. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.036

17. Yan B, Xu W, Su S, Zhu S, Zhu Z, Zeng H, *et al.* Comparative analysis of 15 chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* stem-leaf from different regions in China by ultra-high performance liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry. Journal of Separation Science. 2017;40(18):3570–3581. https://doi.org/10.1002/jssc.201700473

18. Wang Z-L, Wang S, Kuang Y, Hu Z-M, Qiao X, Ye M. A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis*. Pharmaceutical Biology. 2018;56(1):465–484. https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1492620

19. Shen J, Li P, He C, Liu H, Liu Y, Sun X, *et al.* Simultaneous determination of 15 flavonoids from different parts of *Scutellaria baicalensis* and its chemometrics analysis. Chinese Herbal Medicines. 2019;11(1):20–27. https://doi.org/10.1016/j.chmed.2018.09.005

20. Milentyeva IS, Le VM, Kozlova OV, Velichkovich NS, Fedorova AM, Loseva AI, *et al.* Secondary metabolites in *in vitro* cultures of Siberian medicinal plants: Content, antioxidant properties, and antimicrobial characteristics. Foods and Raw Materials. 2021;9(1):153–163. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-153-163

21. Vesnina AD, Dmitrieva AI, Dyshlyuk LS. Extract of the root culture *in vitro* of the Baikal sucker – A perspective geroprotector. Food Technologies and Biotechnologies: Proceedings of the 17th All-Russian Conference of Young Scientists,

Postgraduates and Students dedicated to the Year of Science and Technology in the Russian Federation; 2021; Kazan. Kazan: Kazan National Research Technological University; 2021. p. 284–288. (In Russ.). [Веснина А. Д., Дмитриева А. И., Дышлюк Л. С. Биологически активные вещества корневой культуры *in vitro* шлемника байкальского – перспективные геропротекторы // Пищевые технологии и биотехнологии: Материалы XVII Всероссийской конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием, посвященная Году науки и технологий в Российской Федерации. Казань, 2021. С. 284–288.].

22. Dyshlyuk LS, Dmitrieva AI, Drozdova MYu, Milentyeva IS, Prosekov AYu. Relevance of bioassay of biologically active substances (BAS) with geroprotective properties in the model of the nematode *Caenorhabditis elegans* in *in vivo* experiments. Current Aging Science. 2022;15(2):121–134. https://doi.org/10.2174/1874609814666211202144911

23. Peterson ND, Pukkila-Worley R. *Caenorhabditis elegans* in high-throughput screens for anti-infective compounds. Current Opinion in Immunology. 2018;54:59–65. https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.06.003

24. Ferguson GD, Bridge WJ. The glutathione system and the related thiol network in *Caenorhabditis elegans*. Redox Biology. 2019;24. https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101171

25. Wittkowski P, Marx-Stoelting P, Violet N, Fetz V, Schwarz F, Oelgeschläger M, *et al. Caenorhabditis elegans* as a promising alternative model for environmental chemical mixture effect assessment – A comparative study. Environmental Science and Technology. 2019;53(21):12725–12733. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03266

26. Ma L, Zhao Y, Chen Y, Cheng B, Peng A, Huang K. *Caenorhabditis elegans* as a model system for target identification and drug screening against neurodegenerative diseases. European Journal of Pharmacology. 2018;819:169–180. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.11.051

27. Zhang S, Li F, Zhou T, Wang G, Li Z. *Caenorhabditis elegans* as a useful model for studying aging mutations. Frontiers in Endocrinology. 2020;11. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.554994

28. Asyakina LK, Fedorova AM, Dyshlyuk LS. Optimization of the parameters of *in vitro* extraction of root cultures *Scutellaria galericulata*, *Scutellaria baicalensis*, *Potentilla alba*. Food Industry. 2021;(10):82–85. (In Russ.). https://doi.org/10.52653/PPI.2021.10.10.001

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2389
https://elibrary.ru/TETAWN

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Особенности получения и применения мицеллярного казеина в технологии молокоемких белковых продуктов

**Е. И. Мельникова, Е. Б. Станиславская, Е. В. Богданова*, Е. Д. Шабалова**

*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

*Поступила в редакцию: 02.06.2022*
*Принята после рецензирования: 11.08.2022*
*Принята к публикации: 06.09.2022*

**Е. В. Богданова: ek-v-b@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5053-2273*
*Е. И. Мельникова: https://orcid.org/0000-0002-3474-2534*
*Е. Б. Станиславская: https://orcid.org/0000-0002-0955-6238*
*Е. Д. Шабалова: https://orcid.org/0000-0002-7802-6150*

*© Е. И. Мельникова, Е. Б. Станиславская, Е. В. Богданова, Е. Д. Шабалова, 2022*

**Аннотация.**
Современные тенденции развития пищевой индустрии определяют новый взгляд на молоко как сырье для получения широкого ассортимента ингредиентов с различными функционально-технологическими свойствами. В этой связи большое научное и практическое значение имеют технологии белковых ингредиентов с применением мембранных методов фракционирования компонентов для сохранения нативных свойств белков. В нашей стране подобные технологии не разработаны. Цель работы – сформулировать технологические рекомендации по производству отечественного концентрата мицеллярного казеина.
Объектами исследования являлись обезжиренное молоко, коммерческие концентраты мицеллярного казеина зарубежных производителей, образцы творога с массовой долей жира 9,0 % и сыра «Российский», выработанные по традиционной технологии. Показатели качества и безопасности опытных образцов, в том числе фракционный состав белков обезжиренного молока, анализ гранулометрического и аминокислотного составов, определяли с применением стандартных арбитражных и общепринятых методик.
Был проведен сравнительный анализ химического состава и функционально-технологических свойств коммерческих образцов концентратов мицеллярного казеина различных производителей. Это позволило охарактеризовать тепловое воздействие на сырье при производстве концентратов и спрогнозировать перспективы их применения в технологии различных молочных продуктов. Экспериментально доказано, что образцы с высоким соотношением казеин:сывороточные белки и умеренно высокой тепловой обработкой увеличивают выход творога и сыра на 10–12 % в сравнении с традиционной рецептурой. Образцы с максимальной концентрацией неденатурированного сывороточного белкового азота обеспечивают повышение выхода белковых молочных продуктов на 2–3 % в сравнении с другими концентратами мицеллярного казеина. Было установлено соотношение казеин:сывороточные белки 80:20 в обезжиренном молоке, полученном в условиях ПАО МК «Воронежский». КМАФАнМ в нем составило не более $6\times10^4$, патогенные микроорганизмы отсутствуют.
По результатам исследования рекомендованы режимы микрофильтрации, тепловой обработки и сушки обезжиренного молока для максимального сохранения нативных свойств белков. Для повышения массовой доли казеина в молоке целесообразно проводить микрофильтрацию с применением мембран с диаметром пор не менее 15 нм. Микробиологические показатели молока позволяют применять низкотемпературную пастеризацию (не выше 76 ± 2 °C с выдержкой 10–15 с).

**Ключевые слова.** Мицеллярный казеин, белковые ингредиенты, переработка, обезжиренное молоко, фракционирование, сывороточные белки

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках проекта с использованием мер государственной поддержки развития кооперации российской образовательной организации высшего образования и организации реального сектора экономики с целью реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства, предусмотренного ПП Российской Федерации от 09 апреля 2010 г. № 218, по теме «Создание высокотехнологичного импортозамещающего производства белковых ингредиентов на основе молочного сырья для продуктов здорового питания» (соглашение № 075-11-2022-020 от 07.04.2022). Проект выполняется при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России). НИОКТР проводятся во ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий» (ВГУИТ).

**Для цитирования:** Особенности получения и применения мицеллярного казеина в технологии молокоемких белковых продуктов / Е. И. Мельникова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 592–601. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2389

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2389
https://elibrary.ru/TETAWN

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Micellar Casein Production and Application in Dairy Protein Industry

**Elena I. Melnikova, Ekaterina B. Stanislavskaya, Ekaterina V. Bogdanova*, Ekaterina D. Shabalova**

*Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia*

*Received: 02.06.2022*
*Revised: 11.08.2022*
*Accepted: 06.09.2022*

**Ekaterina V. Bogdanova: ek-v-b@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5053-2273*
*Elena I. Melnikova: https://orcid.org/0000-0002-3474-2534*
*Ekaterina B. Stanislavskaya: https://orcid.org/0000-0002-0955-6238*
*Ekaterina D. Shabalova: https://orcid.org/0000-0002-7802-6150*

*© E.I. Melnikova, E.B. Stanislavskaya, E.V. Bogdanova, E.D. Shabalova, 2022*

**Abstract.**
The modern food industry sees raw milk as a source of functional ingredients. Technologies of protein ingredients have a great scientific and practical importance because membrane fractionation methods preserve the native structure and properties of protein components. The resulting proteins have good fat profile, moisture retention, and emulsification characteristics, as well as perform some useful technological functions in food systems. They have no status of food additives and can be applied in various branches of food production. Unfortunately, the Russian food industry has no such technologies of its own. This article introduces some technological recommendations for the production of domestic micellar casein concentrate.
The research involved skim milk, commercial micellar casein concentrates from various manufacturers, curd samples with 9.0% of fat in dry matter, and Rossiysky cheese produced according to traditional formulation and technology. The experiment relied on standard research methods of physical and chemical analysis to establish the chemical composition of the samples, e.g., fractional composition of skim milk proteins, grain-size distribution, amino acid profile, etc.
The study involved a comparative analysis of the chemical composition, as well as functional and technological properties of commercial micellar casein concentrates from various manufacturers. A set of experiments made it possible to define the thermal effect on raw material and to predict the prospects for usage of the new technology. Samples with a high ratio of casein:whey proteins and a moderately high heat treatment increased the curd and cheese yield by 10–12% in comparison with the traditional formulation. Samples with the maximal concentration of undenatured milk-serum protein nitrogen increased the yield of protein dairy products by 2–3% in comparison with other samples of micellar casein concentrates. The ratio of casein:whey proteins was 80:20 in skim milk obtained at PJSC Dairy "Voronezhsky". The optimal pore diameter was ≥ 15 nm. As for the microbiological properties, QMA&OAMO was $6\times10^4$ CFU/dm$^3$, and no pathogenic microorganisms were detected. Therefore, low-temperature pasteurization proved feasible at ≤ 76 ± 2°C and 10–15 s of hold time. The micellar casein concentrate added certain functional and technological properties to the finished product, depending on the specific application scope.
The new technology will enable the domestic food industry to overcome the existing import dependence.

**Keywords.** Micellar casein, protein ingredients, processing, skim milk, fractionation process, whey proteins

**Funding.** The research was financed by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka) as part of research topic "High-tech import-substituting healthy food products from dairy-based protein ingredients" (Agreement No. 075-11-2022-020, April 07, 2022). R&D was performed by the Voronezh State University of Engineering Technologies (VSUET) using state support for cooperation between institutions of higher education and real economy organizations, Decree of the Russian Federation Government (April 09, 2010, No. 218).

**For citation:** Melnikova EI, Stanislavskaya EB, Bogdanova EV, Shabalova ED. Micellar Casein Production and Application in Dairy Protein Industry. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):592–601. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2389

## Введение

Молоко и молочные продукты входят в список Доктрины продовольственной безопасности РФ и имеют большое значение в рационе питания населения. Пищевая ценность молока состоит в том, что оно содержит все необходимые для человеческого организма питательные вещества (белки, жиры, углеводы, минеральные вещества, витамины и

воду) в сбалансированных соотношениях и легко перевариваемой форме [1]. Современные тенденции развития пищевой индустрии определяют новый взгляд на молоко-сырье как источник для получения широкого ассортимента ингредиентов с различными функционально-технологическими свойствами [2]. Благодаря своим уникальным характеристикам они нашли применение при производстве продуктов функционального, специализированного и детского питания, а также в мясной, молочной, пивобезалкогольной, кондитерской и хлебопекарной отраслях пищевой промышленности [3, 4].

Большое научное и практическое значение в развитии данного направления имеют технологии разработки белковых ингредиентов, содержащих различные фракции казеина и сывороточных белков. Их высокая биологическая ценность обусловлена сбалансированным содержанием аминокислот с разветвленной алифатической боковой цепью (валина, лейцина и изолейцина), а также легкой и почти полной перевариваемостью в желудочно-кишечном тракте человека [5, 6]. К таким ингредиентам относятся кислотный и сычужный казеины, казеинаты, копреципитаты, концентраты и изоляты молочных и сывороточных белков. Темпы их производства в последние несколько лет постоянно растут (рис. 1).

Технологии традиционных белковых ингредиентов (казеины, казеинаты, копреципитаты) не обеспечивают сохранение их нативных свойств. К более востребованным ингредиентам с высокой биологической ценностью относятся белковые концентраты, полученные с применением мембранных технологий фракционирования компонентов как молока, так и вторичного молочного сырья (например, концентраты молочных белков, мицеллярного казеина и сывороточных белков) [8, 9]. Это обусловлено их способностью проявлять важные физико-химические свойства, такие как жиро- и влагоудерживание, эмульгирование, а также выполнять ряд технологических функций в пищевых системах [10]. У белковых концентратов отсутствует статус пищевых добавок и литера с индексом «Е», что обеспечивает «чистую» этикетку готового пищевого продукта. Такие ингредиенты имеют широкую сферу применения в различных отраслях пищевой промышленности.

За рубежом рынок подобных белковых продуктов развит и востребован. Например, компания Arla Foods Ingredients выделяет белки из молочного сырья и использует их для производства продуктов детского, клинического, спортивного и здорового питания. Сырьем является молочная сыворотка, обезжиренное молоко и пахта. Это обеспечивает высокую доходность предприятия, т. к., помимо возможности производства ингредиентов с высокой пищевой и биологической ценностью и маржинальностью, отсутствует необходимость в решении вопроса утилизации вторичных отходов отрасли.

Набирает популярность производство таких молочных ингредиентов, как концентрат и изолят мицеллярного казеина. Их получают с использованием микро- и ультрафильтрации, которые обеспечивают максимальное сохранение нативной структуры белков и изменение соотношения казеин:сывороточные белки в сторону снижения содержания последних [7, 11]. В зависимости от размера пор мембран соотношение казеин:сывороточные белки в этом продукте может находится в пределах от 85:15 до 95:5. Наиболее распространенной формой мицеллярного казеина

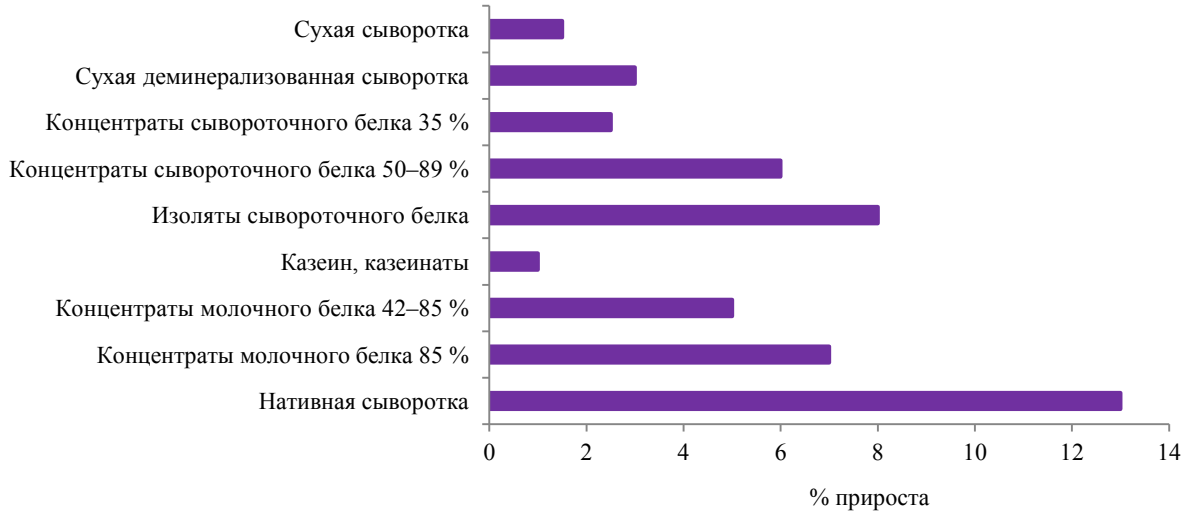



Рисунок 1. Рост производства молочных ингредиентов за период 2018–2021 гг. [7]

Figure 1. Dairy ingredients: production growth in 2018–2021 [7]

является продукт с соотношением 92:8. Реализация технологий фракционирования в этом направлении позволяет получать концентрат мицеллярного казеина и нативную сыворотку, характеризующуюся отсутствием гликомакропептида [12].

Концентрат мицеллярного казеина содержит казеин в нативной (мицеллярной) форме, а также часть нативных сывороточных белков, поэтому имеет аминокислотный профиль, отличающийся от традиционных казеинов, казеинатов и копреципитатов. Он характеризуется самой высокой биологической ценностью и высоким коэффициентом эффективности белка среди молочных продуктов [13]. Более медленный метаболизм казеина, по сравнению с сывороточными белками, позволяет отнести мицеллярный казеин к идеальной смеси белков для обеспечения положительного азотистого баланса в течение длительного периода времени.

Сохранение нативных свойств белков молока обеспечивает уникальные функционально-технологические характеристики концентрата мицеллярного казеина. Например, высокую термостабильность, т. е. концентрат мицеллярного казеина устойчив к температурам выше 80 °С при нейтральном pH [14]. Низкое содержание лактозы в нем обуславливает снижение скорости протекания реакции меланоидинообразования при тепловой обработке и уменьшение вероятности покоричневения пищевых продуктов по сравнению с другими белковыми ингредиентами. В отличие от классических казеинов концентрат мицеллярного казеина характеризуется практически полным отсутствием посторонних вкусов и запахов, а также лучшей растворимостью в воде. Концентрат мицеллярного казеина способен связывать 5–8 г воды и 2–3 г жира на 1 г. Это позволяет увеличить выход молокоемкой белковой продукции (сыр и творог) и улучшить ее консистенцию [14, 15]. Растворы концентрата мицеллярного казеина характеризуются высокой стабильностью пены – она практически не разрушается.

Мировые объемы производства концентрата мицеллярного казеина небольшие. В нашей стране подобные продукты не выпускаются. Поэтому организация производства концентратов мицеллярного казеина на отечественных предприятиях является актуальной задачей молочной отрасли, решение которой позволит обеспечить пищевую промышленность и население страны полноценными белками животного происхождения.

Цель работы – сформулировать технологические рекомендации по производству концентрата мицеллярного казеина из обезжиренного молока в условиях филиала «Калачеевский сырзавод» ПАО Молочный Комбинат «Воронежский». Для ее достижения сформулированы следующие задачи:

– исследовать состав и свойства образцов концентрата мицеллярного казеина различных производителей;
– определить требования к качеству и безопасности молока-сырья для производства концентрата мицеллярного казеина;
– обосновать режимы отдельных технологических операций получения концентрата мицеллярного казеина с учетом необходимых функционально-технологических характеристик готового продукта для организации его производства в условиях филиала «Калачеевский сырзавод» ПАО Молочный Комбинат «Воронежский».

**Объекты и методы исследования**

В качестве объектов исследований были выбраны обезжиренное молоко, выработанное на ПАО МК «Воронежский», концентраты мицеллярного казеина различных зарубежных производителей (ZUK «Pienas LT» (Литва), Ingredia (Франция), Murray Goulburn (Австралия)), а также образцы творога с массовой долей жира 9,0 % и сыра «Российский», выработанные с применением концентрата мицеллярного казеина по традиционной технологии.

Отбор проб объектов исследования и подготовку их к анализу проводили в соответствии с ГОСТ 26809.1-2014. Для изучения физико-химических показателей, а также установления химического состава сырья и опытных образцов использовали стандартные арбитражные и общепринятые в исследовательской практике методики, описанные в различных нормативных документах РФ, а также модифицированные, усовершенствованные и специальные, выполненные с применением современных приборов и информационных технологий. Исследования проводили в лабораториях кафедры технологии продуктов животного происхождения ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», ПАО МК «Воронежский», научно-испытательной лаборатории «Молоко» ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ВНИМИ, Москва).

***Фракционный состав белков обезжиренного молока.*** Анализ осуществляли посредством модульной системы для высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодноматричными, рефрактометрическими, флуориметрическими и низкотемпературными по светорассеянию «Маэстро ВЭЖХ» (ООО «ИНТЕРЛАБ», Москва) детекторами в сочетании с тандемной масс-спектрометрией. Для обработки результатов было использовано специальное программное обеспечение для сервисного обслуживания прибора.

***Анализ гранулометрического состава.*** Размеры частиц коммерческих образцов концентратов мицеллярного казеина различных зарубежных производителей определяли с применением лазерного дифракционного анализатора размера частиц LS 13 320 XR («Beckman Coulter», США). Анализ

осуществляли методом динамического светорассеяния с обработкой результатов с помощью программного обеспечения ADAPT Software. Преимуществом этого прибора является возможность установления размера частиц в наноэмульсиях и наносуспензиях. Эксперименты проводили с использованием сухого модуля и модуля с непрерывной многократной рециркуляцией анализируемого образца. Это позволило изучить кинетику его восстановления [16].

***Аминокислотный состав*** определяли с применением системы капиллярного электрофореза P/ACA MDQ («SCIEX LLC», США). Сущность метода заключается в разложении пробы для анализа кислотным гидролизом с переводом аминокислот в свободные формы, получении фенилизотиокарбамильных производных аминокислот, дальнейшем их разделении и количественном определении методом капиллярного электрофореза. Для количественного определения результатов анализа было использовано встроенное программное обеспечение 32 Karat Software.

Каждый показатель был измерен от 5 до 10 раз в трехкратной последовательности. Расчеты, построение графиков и их описание проводили методами математической статистики с помощью приложений Microsoft Office 16 для Windows 10. Графические интерпретации и обработку данных осуществляли посредством пакета прикладных программ MathCad 16.0.

## Результаты и их обсуждение

Технологический процесс получения концентрата мицеллярного казеина включает следующие операции: пастеризацию обезжиренного молока, его микро-, ультра- и диафильтрацию, а также распылительную сушку. С целью выявления возможных особенностей технологических режимов обработки обезжиренного молока для получения высококачественного концентрата мицеллярного казеина проведен сравнительный анализ химического состава и свойств нескольких коммерческих образцов готового продукта различных зарубежных производителей (табл. 1 и 2, рис. 2 и 3). В Российской Федерации безопасность подобных продуктов определяется ТР ТС 033/2013 и ТР ТС 021/2011. Конкретные стандарты, регламентирующие качество и безопасность концентрата мицеллярного казеина, отсутствуют.

Об избыточном температурном воздействии при производстве продукта свидетельствуют результаты анализа на наличие пригорелых частиц. Образец ZUK «Pienas LT» (Литва) содержит минимально возможное их количество.

Тепловое число сухих продуктов характеризует степень воздействия высокой температуры на белковые компоненты, приводящую к их возможной последующей денатурации. В основе принятой международной классификации сухих продуктов по этому показателю лежит зависимость увеличения доли связанного с казеином сывороточного белка $\beta$-лактоглобулина в результате его денатурации по мере повышения температуры или продолжительности тепловой обработки сырья и промежуточных продуктов. Это нежелательное явление для технологического процесса, поскольку

Таблица 1. Химический состав концентратов мицеллярного казеина различных производителей

Table 1. Chemical composition of micellar casein concentrates from various manufacturers

| Наименование показателя | Образцы | | |
|---|---|---|---|
| | ZUK «Pienas LT» (Литва) | Ingredia (Франция) | Murray Goulburn (Австралия) |
| Массовая доля влаги, % | 6,18 ± 0,20 | 6,02 ± 0,20 | 6,06 ± 0,20 |
| Массовая доля общего белка, % | 78,60 ± 0,22 | 77,79 ± 0,22 | 79,85 ± 0,22 |
| Массовая доля белка в СОМО, % | 84,68 | 82,86 | 85,92 |
| Соотношение казеин: сывороточные белки | 87:13 | 90:10 | 85:15 |
| Массовая доля жира, % | 1,00 ± 0,15 | 0,10 ± 0,05 | 1,00 ± 0,15 |
| Массовая доля лактозы, % | 4,80 ± 0,50 | 4,51 ± 0,50 | 3,56 ± 0,50 |
| Кислотность, °Т | 15,70 ± 1,00 | 14,50 ± 1,00 | 15,40 ± 1,00 |
| Активная кислотность, ед. pH | 7,01 ± 0,02 | 7,05 ± 0,02 | 6,93 ± 0,02 |
| Массовая доля золы, % | 8,55 ± 0,06 | 7,59 ± 0,06 | 7,00 ± 0,06 |
| Пригорелые частицы, диск | A | A/B | A/B |
| Содержание кальция, мг% | 2506,40 ± 375,96 | 2460,40 ± 369,06 | 2180,47 ± 327,07 |
| Содержание фосфора, мг% | 690,60 ± 0,30 | 669,90 ± 0,30 | 640,90 ± 0,30 |
| Содержание натрия, мг/кг | 808,16 ± 121,22 | 277,90 ± 41,69 | 359,46 ± 53,92 |
| Содержание калия, мг/кг | 4312,31 ± 517,48 | 1406,11 ± 168,73 | 1696,97 ± 203,64 |
| Содержание магния, мг/кг | 498,53 ± 64,81 | 365,86 ± 47,56 | 486,89 ± 63,30 |

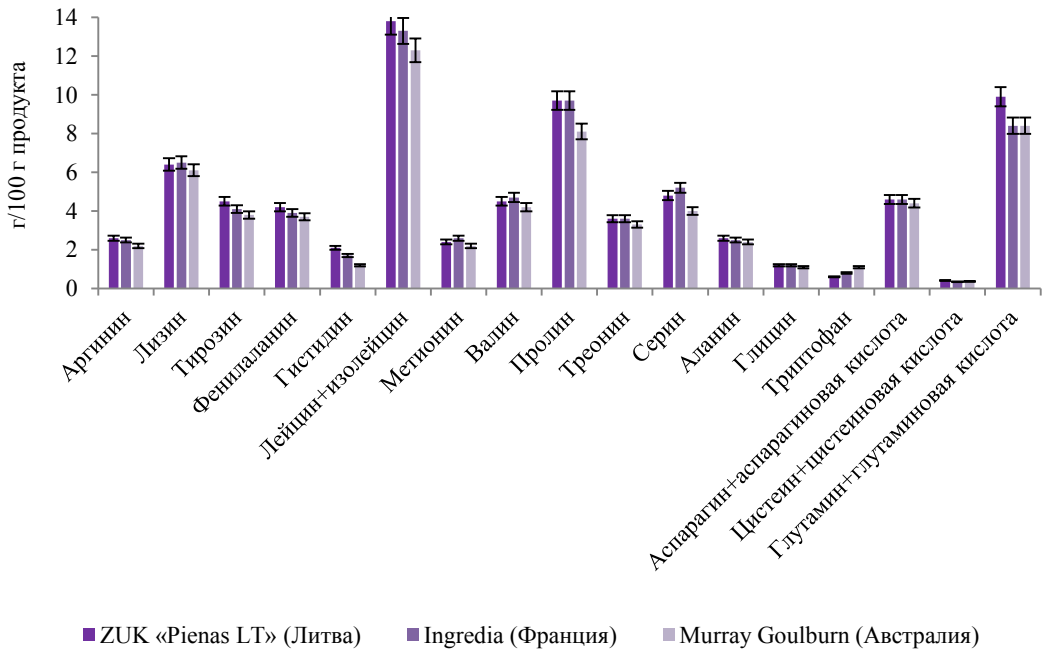



Рисунок 2. Аминокислотный состав изученных коммерческих образцов

Figure 2. Amino acid composition of commercial samples

Таблица 2. Сравнительный анализ функционально-технологических свойств концентратов мицеллярного казеина различных коммерческих образцов

Table 2. Functional and technological properties of various commercial micellar casein concentrates

| Наименование показателя | Образцы | | |
|---|---|---|---|
| | ZUK «Pienas LT» (Литва) | Ingredia (Франция) | Murray Goulburn (Австралия) |
| Показатель термообработки, тепловое число | 86,4 | 88,6 | 83,6 |
| Класс термообработки | Умеренно высокотемпературная | Высокотемпературная | Умеренно высокотемпературная |
| UMSPN, мг/г сухого продукта | 2,2 | 1,2 | 3,4 |
| Диспергируемость, % | 55,94 ± 2,24 | 55,84 ± 2,22 | 59,53 ± 2,38 |
| Смачиваемость, % | Менее 1,0 | Менее 1,0 | Менее 1,0 |
| Объемная насыпная плотность, г/см$^3$ | 0,357 ± 0,028 | 0,390 ± 0,030 | 0,364 ± 0,030 |
| Рыхлая насыпная плотность, г/см$^3$ | 0,458 ± 0,036 | 0,448 ± 0,035 | 0,461 ± 0,036 |
| Насыпная плотность, г/см$^3$ | 0,503 ± 0,039 | 0,479 ± 0,037 | 0,497 ± 0,039 |
| Индекс растворимости, см$^3$ сырого осадка | 0,20 ± 0,01 | 0,15 ± 0,01 | 0,10 ± 0,01 |

денатурированные белки теряют способность к полной регидратации, эмульгированию, пенообразованию, а также снижают их водосвязывающие и влагоудерживающие свойства. Тепловое число является значимым показателем для регулирования температуры пастеризации и распылительной сушки в технологии концентрата мицеллярного казеина.

Важная характеристика сухих продуктов – размер частиц, влияющий на физические свойства: насыпную плотность, плотность частиц, межклеточный воздух и сыпучесть [17]. Размер частиц и их распределение в сухом концентрате мицеллярного казеина определяют способность к восстановлению сухого продукта, его смачиваемость, диспергируемость и возможность применения в рецептурах других продуктов [18–21]. В связи с этим был изучен гранулометрический состав коммерческих образцов концентрата мицеллярного казеина (рис. 3).

Небольшой размер частиц (до 90 мкм) и правильная форма позволяют получить плотную упаковку с незначительным содержанием абсорбированного воздуха, а также способствуют полной

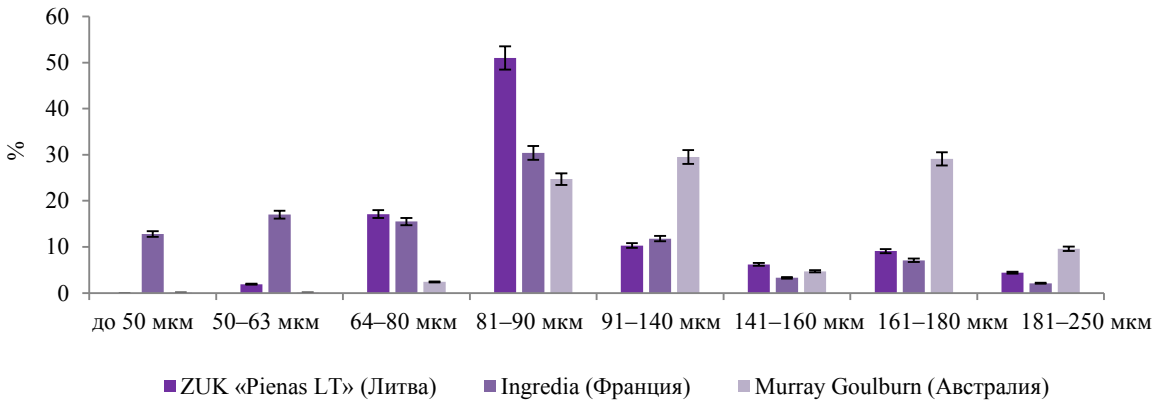



Рисунок 3. Распределение сухих частиц концентрата мицеллярного казеина различных коммерческих образцов по размерам

Figure 3. Dry particle garin-size distribution of various commercial micellar casein concentrates

Таблица 3. Химический состав и свойства средней пробы обезжиренного молока

Table 3. Chemical composition and properties of average skim milk sample

| Показатель | Нормативная документация на метод анализа | Значение |
|---|---|---|
| Массовая доля сухих веществ, % | ГОСТ Р 54668-2011 | 10,3 ± 0,4 |
| Массовая доля СОМО, % | ГОСТ Р 54668-2011 | 9,8 ± 0,4 |
| Массовая доля общего белка, %,<br>в т. ч. казеина<br>сывороточных белков,<br>в т. ч. $\alpha$-лактальбумина, мг/см$^3$<br>$\beta$-лактоглобулина, мг/см$^3$<br>альбумина сыворотки крови, мг/см$^3$<br>лактоферрина, мг/см$^3$<br>небелкового азота, %<br>неказеинового азота, % | ГОСТ Р 53951-2010<br>ISO/CD 17997-1/IDF 29-1<br>ГОСТ 34536-2019<br>Метод ВЭЖХ<br><br><br><br>ГОСТ 55246-2012<br>СТБ ISO 17997-1-2012 | 3,35 ± 0,05<br>2,460 ± 0,033<br>0,62 ± 18,00 % относ.<br>1,54 ± 0,50 % относ.<br>3,69 ± 0,50 % относ.<br>0,491 ± 0,500 % относ.<br>0,025 ± 0,500 % относ.<br>0,0313 ± 0,0030<br>0,061 ± 0,004 |
| Массовая доля жира, % | ГОСТ 5867-90 | 0,05 ± 0,03 |
| Массовая доля лактозы, % | ГОСТ Р 54667-2011 | 4,95 ± 0,70 |
| Содержание кальция, мг% | ГОСТ Р 55331-2012 | 118,37 ± 0,50 |
| Содержание общего фосфора, мг% | ГОСТ 31980-2012 | 69,08 ± 0,12 |
| Титруемая кислотность, °Т | ГОСТ 3624-92 | 18 ± 2 |
| Активная кислотность, pH | ГОСТ 32892-2014 | 6,74 ± 0,04 |
| Плотность, кг/м$^3$ | ГОСТ Р 54758-2011 | 1034,0 ± 1,0 |
| Группа термоустойчивости<br>по алкогольной пробе | ГОСТ 25228-82 | I |
| КМАФАнМ, КОЕ/см$^3$ | ГОСТ 32901-2014 | $6\times10^4$ |
| Патогенные микроорганизмы, в т. ч.<br>сальмонеллы в 25 см$^3$ продукта | ГОСТ 31659-2012<br>(ISO 6579:2002) | Отсутствуют |

регидратации с более высокой скоростью в сравнении с крупными сухими частицами (табл. 2, рис. 3) [22]. Крупные частицы концентрата мицеллярного казеина характеризуются большей смачиваемостью и диспергируемостью. Этому способствует низкое содержание молочного жира в исходной смеси. Регулирование условий сушки отдельной партии концентрата мицеллярного казеина позволит обеспечить варьирование функционально-технологических свойств готового продукта в зависимости от конкретной сферы его применения.

Коммерческие образцы концентрата мицеллярного казеина были применены для выработки нескольких партий творога с массовой долей жира 9,0 % на поточно-механизированной линии Tewes-Bis и сыра «Российский» в условиях ПАО МК «Воронежский». Установлено, что концентрат мицеллярного казеина с высоким соотношением казеин:сывороточные

белки и умеренно высокой тепловой обработкой (ZUK «Pienas LT» (Литва) и Murray Goulburn (Австралия)) увеличивают выход готового продукта на 10–12 % в сравнении с традиционной рецептурой. Концентрат мицеллярного казеина производства Murray Goulburn (Австралия) характеризуется максимальной концентрацией неденатурированного сывороточного белкового азота (табл. 2). Это обеспечивает повышение выхода белковых молочных продуктов на 2–3 % в сравнении с другими образцами концентрата мицеллярного казеина. Таким образом, перспективным является производство концентрата мицеллярного казеина с максимально возможным изменением соотношения казеин:сывороточные белки (92:8), но с тепловым числом, соответствующим умеренно высокотемпературной обработке.

Определены требования к качеству обезжиренного молока-сырья и обоснованы технологические режимы его обработки для максимального сохранения нативных свойств в процессе получения концентрата мицеллярного казеина. Наиболее важными характеристиками являются массовая доля белка и микробиологические показатели (в соответствии с ТР ТС 033/2013 КМАФАнМ не более $5\times10^5$ КОЕ/см$^3$, сальмонеллы не допускаются в 25 см$^3$). Это обусловлено щадящими режимами тепловой обработки в технологическом процессе. Усредненные значения показателей качества обезжиренного молока, полученного в условиях ПАО МК «Воронежский», представлены в таблице 3.

Установлено, что соотношение казеин:сывороточные белки в исследованном обезжиренном молоке составляет 80:20. Поскольку средний диаметр казеиновых мицелл в коровьем молоке находится в диапазоне 30–400 нм, субмицелл – 10–30 нм, а сывороточных белков – 4–15 нм, то для повышения содержания массовой доли казеина целесообразно подвергать его микро- и диафильтрации с применением мембран с диаметром пор не менее 5 нм [23]. Различные типы микрофильтрационных мембран (полимерные или керамические) характеризуются разной селективностью по белку. В сочетании со строго установленным фактором концентрирования этот вид обработки обезжиренного молока будет определять состав конечного продукта и выход концентрата мицеллярного казеина.

Микробиологические показатели обезжиренного молока (КМАФАнМ и отсутствие патогенных микроорганизмов), полученного в условиях ПАО МК «Воронежский», позволяют применять низкотемпературную пастеризацию в процессе выработки концентрата мицеллярного казеина для максимально возможного сохранения нативных свойств используемого сырья.

**Выводы**

По результатам проведенных исследований образцов концентрата мицеллярного казеина различных производителей установлено, что на повышение выхода белковых молочных продуктов, выработанных с применением концентрата мицеллярного казеина, влияние оказывают соотношение в них казеин:сывороточные белки и степень денатурации белков в процессе производства.

Поэтому технология получения концентрата мицеллярного казеина из обезжиренного молока в условиях филиала «Калачеевский сырзавод» ПАО Молочный Комбинат «Воронежский» должна включать применение мембранных методов для изменения соотношения казеин:сывороточные белки до 92:8, а также пастеризацию молока-сырья при температуре не выше 76 ± 2 °С с выдержкой 10–15 с и щадящие режимы сушки концентрированной смеси для максимального сохранения нативных свойств молочных белков. В этой связи для обеспечения безопасности концентрата мицеллярного казеина по микробиологическим показателям общая бактериальная обсемененность обезжиренного молока-сырья не должна превышать $5\times10^5$ КОЕ/см$^3$.

**Критерии авторства**

Е. И. Мельникова руководила проектом, предложила методику проведения эксперимента и организовала производственные испытания, проводила консультации в ходе исследования. Е. Б. Станиславская проводила поиск литературных источников и патентный поиск по исследуемой проблеме. Е. В. Богданова написала рукопись и корректировала ее до подачи в редакцию, несет ответственность за плагиат. Е. Д. Шабалова проводила экспериментальные исследования.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Contribution**

E.I. Melnikova managed the project, proposed a scheme of the experiment and organized production trials, conducted consultation during the study. E.B. Stanislavskaya reviewed of the literature and conducted the patent search on an investigated problem. E.V. Bogdanova wrote the manuscript, corrected it before filing in editing and is responsible for plagiarism. E.D. Shabalova conducted an experiment.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**References/Список литературы**

1. Prosekov AYu, Ivanova SA. Food security: The challenge of the present. Geoforum. 2018;91:73–77. https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.02.030

2. Volodin DN, Gridin AS, Evdokimov IA. Prospects of the production of dry protein ingredients based on the milk raw materials. Dairy Industry. 2020;(1):29–30. (In Russ.). [Володин Д. Н., Гридин А. С., Евдокимов И. А. Перспективы производства сухих белковых ингредиентов на основе молочного сырья // Молочная промышленность. 2020. № 1. С. 28–30.].

3. Królczyk JB, Dawidziuk T, Janiszewska-Turak E, Sołowiej B. Use of whey and whey preparations in the food industry – A review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2016;66(3):157–165. https://doi.org/10.1515/pjfns-2015-0052

4. Meena GS, Singh AK, Panjagari NR, Arora S. Milk protein concentrates: Opportunities and challenges. Journal of Food Science and Technology. 2017;54(10):3010–3024. https://doi.org/10.1007/s13197-017-2796-0

5. Gmoshinskiy IV, Zilova IS, Zorin SN, Demkina EYu. Membrane technologies – an innovative method of protein biological value increasing in young children feeding. Current Pediatrics. 2012;11(3):57–64. (In Russ.). https://doi.org/10.15690/vsp.v11i3.297

6. Halavach TN, Kurchenko VP, Zhygankov VG, Evdokimov IA. Determination of physicochemical, immunochemical and antioxidant properties, toxicological and hygienic assessment of whey protein concentrate and its hydrolysate. Foods and Raw Materials. 2015;3(2):105–114. https://doi.org/10.12737/13127

7. Carter BG, Cheng N, Kapoor R, Meletharayil GH, Drake MA. *Invited review*: Microfiltration-derived casein and whey proteins from milk. Journal of Dairy Science. 2021;104(3):2465–2479. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18811

8. Lyalin VA, Mikheev MS. Membrane technologies and equipment in the dairy industry. Milk Processing. 2020;254(12): 28–31. (In Russ.). [Лялин В. А., Михеев М. С. Мембранные технологии и оборудование в молочной промышленности // Переработка молока. 2020. Т. 254. № 12. С. 28–31.].

9. Korotkiy IA, Plotnikov IB, Mazeeva IA. Current trends in whey processing. Food Processing: Techniques and Technology. 2019;49(2):227–234. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-227-234

10. Kumar P, Sharma N, Ranjan R, Kumar S, Bhat ZF, Jeong DK. Perspective of membrane technology in dairy industry: A review. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 2013;26(9):1347–1358. https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13082

11. Chelnokov VV, Mikhailov AV, Zabolotnaya E. The relevance of industrial use of membrane technology in the Russian Federation. Advances in Chemistry and Chemical Technology. 2020;34(6):69–71. (In Russ.). [Челноков В. В., Михайлов А. В., Заболотная Е. Актуальность использования в промышленных масштабах мембранных технологий в Российской Федерации // Успехи в химии и химической технологии. 2020. Т. 34. № 6. С. 69–71.].

12. Ahmad T, Aadil RM, Ahmed H, Rahman U, Soares BCV, Souza SLQ, *et al.* Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. Trends in Food Science and Technology. 2019;88:361–372. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.003

13. Smirnova IA, Gutov NYu, Lukin AA. Research of composition of milk protein concentrates. Food Processing: Techniques and Technology. 2018;48(1):85–90 (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-85-90

14. Verruck S, Sartor S, Marenda FB, Barros ELS, Camelo-Silva C, Canella MHM, *et al.* Influence of heat treatment and microfiltration on the milk proteins properties. Advances in Food Technology and Nutritional Sciences. 2019;5(2):54–66. http://doi.org/10.17140/AFTNSOJ-5-157

15. Kruchinin AG, Illarionova EE, Bigaeva AV, Turovskaya SN. The role of dry milk technological properties in forming the quality of food systems. Bulletin of KSAU. 2020;161(8):166–173. (In Russ.). https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-8-166-173

16. Galstyan AG, Petrov AN, Illarionova EE, Semipyatniy VK, Turovskaya SN, Ryabova AE, *et al.* Effects of critical fluctuations of storage temperature on the quality of dry dairy product. Journal of Dairy Science. 2019;102(12):10779–10789. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17229

17. Radaeva IA, Illarionova EE, Turovskaya SN, Ryabova AE, Galstyan AG. Principles of domestic dry milk quality assurance. Food Industry. 2019;(9):54–57. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10145

18. Felix da Silva D, Ahrné L, Ipsen R, Hougaard AB. Casein-based powders: Characteristics and rehydration properties. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2018;17(1)240–254. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12319

19. Wu S, Cronin K, Fitzpatrick J, Miao S. Updating insights into the rehydration of dairy-based powder and the achievement of functionality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2022;62(24):6664–6681. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1904203

20. Kruchinin AG, Turovskaya SN, Illarionova EE, Bigaeva AV. Evaluation of the effect of κ-casein gene polymorphism in milk powder on the technological properties of acid-induced milk gels. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):53–66. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-53-66

21. Batista MA, Campos NCA, Silvestre MPC. Whey and protein derivatives: Applications in food products development, technological properties and functional effects on child health. Cogent Food and Agriculture. 2018;4(1). https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1509687

22. Ji J, Fitzpatrick J, Cronin K, Maguire P, Zhang H, Miao S. Rehydration behaviours of high protein dairy powders: The influence of agglomeration on wettability, dispersibility and solubility. Food Hydrocolloids. 2016;58:194–203. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.030

23. Tyopel A. Chemistry and physics of milk. St. Petersburg: Professiya; 2012. 831 p. (In Russ.). [Тёпел А. Химия и физика молока. СПб.: Профессия, 2012. 831 с.].

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2390
https://elibrary.ru/THZGWA

Обзорная статья
https://fptt.ru

# Алкогольные напитки с томатными продуктами

**А. Е. Чусова*, И. М. Жаркова, А. В. Коркина, А. А. Пронькина, В. П. Хиценко**

*Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия*

*Поступила в редакцию: 13.01.2022*
*Принята после рецензирования: 09.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

**А. Е. Чусова: hycovai@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1237-4870*
*И. М. Жаркова: https://orcid.org/0000-0001-8662-4559*
*А. В. Коркина: https://orcid.org/0000-0002-9298-5948*
*А. А. Пронькина: https://orcid.org/0000-0002-8183-6082*
*В. П. Хиценко: https://orcid.org/0000-0002-0656-9308*

*© А. Е. Чусова, И. М. Жаркова, А. В. Коркина, А. А. Пронькина, В. П. Хиценко, 2022*

**Аннотация.**
Разработка алкогольных и безалкогольных напитков с использованием нетрадиционного овощного сырья способствует расширению ассортимента продукции и позволяет промышленным предприятиям осваивать новые сегменты рынка. Цель исследования – обобщение и анализ современных данных об использовании продуктов переработки плодов томатов в технологии алкогольных напитков.
Объектами исследования являлись научные статьи открытого доступа и патенты, связанные с разработкой алкогольных и безалкогольных напитков с использованием томатных продуктов. Поиск вели по информационным базам Pubmed, E-library, Cyberleninka, Espacenet и Patentscope. Период поиска – с 2005 по 2021 гг. Систематизацию информации осуществляли методами анализа, сравнения и описания.
Был проанализирован российский и зарубежный опыт использования продуктов переработки томатов в технологии напитков. Большинство разработок сосредоточено на применении томатного сока в производстве безалкогольных напитков для повышения их пищевой ценности, улучшения органолептических показателей качества, расширения ассортимента продукции, в том числе предназначенной для людей, страдающих сахарным диабетом, и придания функциональных свойств (а именно антиоксидантных). В производстве пивных напитков используют измельченную мякоть томатов, сок или пюре. Информации о влиянии сортовой принадлежности томатов на получение заявленного технического результата не обнаружено.
Проведенный анализ свидетельствует о необходимости исследования влияния особенностей состава томатов (красноплодных, желтоплодных и темноокрашенных) на органолептические и физико-химические показатели качества пивных напитков, а также получения полуфабриката из вторичных продуктов переработки томатов (выжимок) для повышения пищевой ценности пивных напитков.

**Ключевые слова.** Томаты, пиво, ассортимент, рынок, потребление

**Для цитирования:** Алкогольные напитки с томатными продуктами / А. Е. Чусова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 602–612. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2390

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2390
https://elibrary.ru/THZGWA

Review article
Available online at https://fptt.ru/en

# Alcoholic Drinks with Tomato Products

**Alla E. Chusova*, Irina M. Zharkova, Angelina V. Korkina, Alena A. Pronkina, Viktoria P. Khitsenko**

*Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia*

*Received: 13.01.2022*
*Revised: 09.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

**Alla E. Chusova: hycovai@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1237-4870*
*Irina M. Zharkova: https://orcid.org/0000-0001-8662-4559*
*Angelina V. Korkina: https://orcid.org/0000-0002-9298-5948*
*Alena A. Pronkina: https://orcid.org/0000-0002-8183-6082*
*Viktoria P. Khitsenko: https://orcid.org/0000-0002-0656-9308*

*© A.E. Chusova, I.M. Zharkova, A.V. Korkina, A.A. Pronkina, V.P. Khitsenko, 2022*

**Abstract.**
New alcoholic and non-alcoholic beverages from non-traditional vegetable raw materials expand the domestic product range and allow food producers to develop new market segments. The present research objective was to summarize and analyze the current data on the use of tomatoes in alcohol production.
The review covered Russian and foreign open access scientific publications and patents registered in Pubmed, E-library, Cyberleninka, Espacenet, and Patentscope in 2005–2021.
Most publications featured tomato juice in soft drinks production as a means to increase their nutritional value, improve sensory profile, expand the product range, and develop new functional products, e.g., with antioxidant properties, for diabetic consumers, etc. Tomato pulp, juice, or puree is used in beer production. No publications featured the effect of tomato cultivars on the technical properties of the finished product.
The analysis revealed the need to study the effect of red, yellow, and dark tomatoes on the sensory and physico-chemical quality of beer drinks. Another research prospect is a novel semi-finished product from tomato pomace that would increase the nutritional value of beer drinks.

**Keywords.** Tomatoes, beer, assortment, market, consumption

**For citation:** Chusova AE, Zharkova IM, Korkina AV, Pronkina AA, Khitsenko VP. Alcoholic Drinks with Tomato Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):602–612. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2390

## Введение

Ассортимент промышленно выпускаемых алкогольных напитков и традиции их употребления, исторически сложившиеся у каждого народа, отражают культурные и религиозные особенности. Первые сброженные напитки появились в те времена, когда люди стали замечать, что при определенных условиях фрукты и овощи могут превращаться в продукт с «пикантными» свойствами.

На Руси отношение к спиртному было сдержанное: чрезмерное потребление алкоголя порицалось церковью, т. к. пьянство считалось грехом. В Древней Руси (XI–XIV вв.) излюбленными напитками были сыта, березовица, вино, мед, квас, сикера и ол. Сыта представляет собой безалкогольный напиток из воды и меда. Березовицу и квас делали в двух вариантах: простом и «пьяном», т. е. грань между алкогольными и безалкогольными напитками была подвижной. Сыта легко могла забродить и превратиться в алкогольный напиток, сохраняющий то же название, что и безалкогольная разновидность.

Вторым по значению спиртным напитком в Древней Руси был мед. В греческом языке слово «меду» означало «хмельной напиток» (общее понятие алкоголя), которое иногда употреблялось в значении «чистое вино», т. е. слишком крепкое. История возникновения спиртных напитков с IX по XIV века отражена на рисунке 1 [1].

Рост популярности пива в европейских городах отмечен в XVI веке: суточное потребление взрослым человеком этого напитка достигало трех литров. Появление в XVII веке стеклянных бутылок привело к повышению популярности крепкого вина. Необходимо отметить, что крепкие напитки долгое время употреблялись исключительно в лекарственных целях.

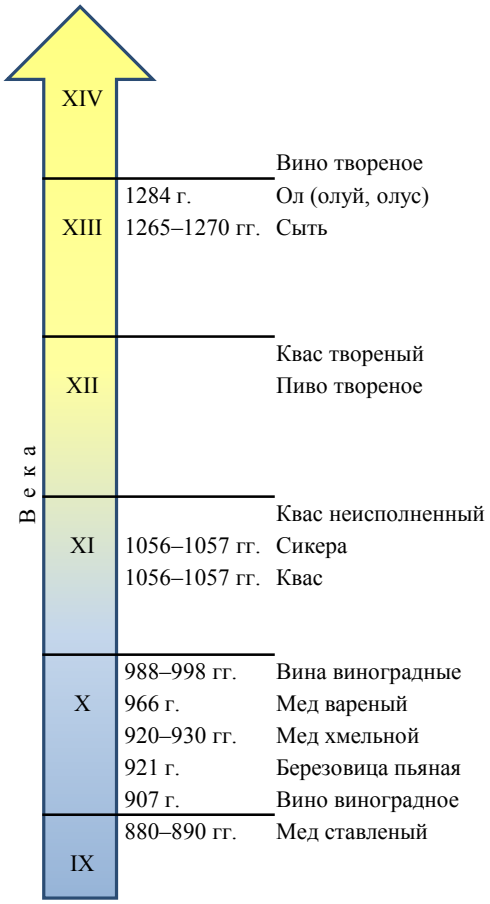



Рисунок 1. История возникновения алкогольных напитков

Figure 1. History of alcohol

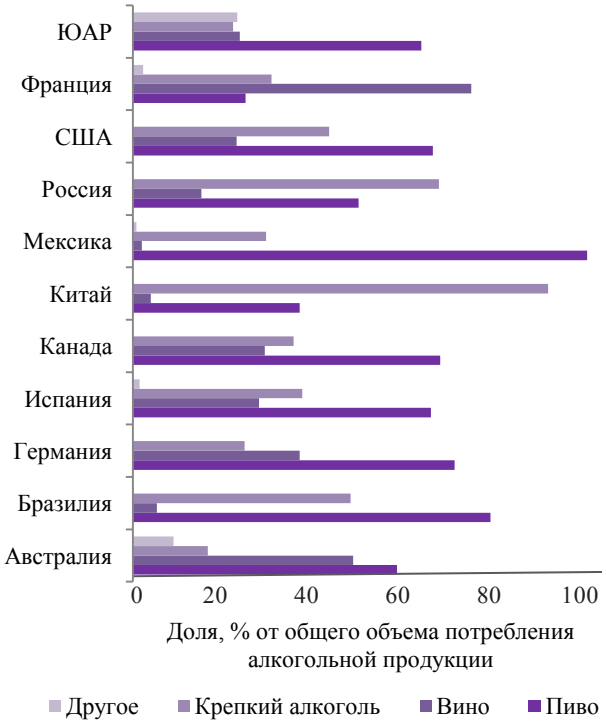



Рисунок 2. Характеристика потребления основных групп алкогольных напитков по странам мира

Figure 2. Alcohol consumption in different countries

Во второй половине XVIII века употребление алкоголя в Европе стало нормой жизни. Однако масштабная индустриализация привела к сокращению его производства, т. к. на заводах использовалась сложная техника, для обращения с которой требовались трезвые рабочие.

С начала XIX века безалкогольная (трезвенническая) традиция получила развитие: возникали общества трезвости, чаще принимались сухие законы, запрещающие производство и распространение алкогольных напитков. Наибольшее развитие трезвеннические идеи получили в Германии и Скандинавии. Вследствие этого в XX веке отношение к спиртным напиткам стало более сдержанным. Появилась мода на премиальную продукцию известных брендов, активно стала развиваться барная культура.

В настоящее время в мире нет ни одного государства, где люди вообще не употребляли бы алкоголь. Во многих странах употребление алкогольных напитков ограничивается законом или религиозными догматами. Однако это не приводит к полному отказу от алкогольной продукции.

Существует множество организаций, которые изучают уровень потребления пищевых продуктов и напитков, в том числе алкогольных, в разных странах мира. Наиболее авторитетной является Всемирная организация здравоохранения, которая каждый год проводит исследования и предоставляет отчеты по самым «пьющим» странам мира. В статистических исследованиях принимают участие только лица старше 15 лет. ВОЗ приводит информацию, классифицируя напитки по группам: пиво, вино, крепкий алкоголь (содержание спирта более 20–25 %) и другое (рис. 2) [2].

Из данных рисунка 2 видно, что алкогольные предпочтения жителей разных стран мира отличаются. В Мексике доля пива составляет более 75 % в общем объеме потребляемого алкоголя, в Бразилии, Германии, Канаде – более 50 %, а в Испании, США и ЮАР – около 50 %. Крепкие алкогольные напитки предпочитают жители Китая и России: на их долю приходится 69 и 51 % соответственно от общего объема потребляемого алкоголя. У французов наиболее потребляемым видом алкоголя является вино – его доля в общем объеме составляет 56 %. В Австралии употребляют пиво и вино – на них

Рисунок 3. Объем российского рынка алкогольных напитков по видам продукции в период с 2019 по 2021 гг.

Figure 3. Russian market of alcoholic beverages by type in 2019–2021

приходится 44 и 37 % соответственно всего потребляемого в стране алкоголя.

Такие различия обусловлены, с одной стороны, климатическими условиями, благоприятными для выращивания тех или иных культур, используемых для производства алкогольных напитков, а с другой – исторически сложившимися традициями и привычками населения, его культурой.

В России первое место по употреблению занимают крепкие алкогольные напитки, хотя объемы производства водки за последние три года сократились на 6,5 %, а производство ликеро-водочной продукции возросло на 33,3 % (рис. 3) [3, 4]. Отмечено увеличение общих объемов рынка алкогольной продукции за этот же период на 1,4 % за счет роста производства отдельных категорий продукции, а именно пива и вина на 2,9 и 11,4 % соответственно. С учетом прироста объемов производства алкогольных напитков за 2019 и 2020 гг. можно сделать прогноз на 2021 г., согласно которому объемы производства будут увеличиваться. Это можно объяснить расширением ассортимента безалкогольного пива и пивных напитков, которые нашли своего потребителя в лице большого числа автолюбителей и молодежи.

Наряду с основным сырьем при производстве пивных напитков (солод, хмель) используют дополнительное сырье (овощи, фрукты, ягоды, травы). С целью формирования новых физико-химических, органолептических и функциональных свойств готового продукта активно привлекаются нетрадиционные виды растительного сырья, т. к. оно характеризуется высоким содержанием биологически активных веществ. Примером таких важных для организма человека соединений являются каротиноиды. Главными источниками каротиноидов являются овощные культуры (томаты, морковь, тыква), фрукты (абрикосы, персики) и ягоды (облепиха) [5, 6].

В качестве дополнительного сырья широко используются соки. Они характеризуются высоким содержанием целого комплекса необходимых питательных веществ, включая балластные и минеральные вещества, а также витамины, которые являются естественными защитниками организма человека от окислительного повреждения. В связи с этим методы переработки сырья должны быть эффективными для большего извлечения и переноса биологически активных веществ в готовый продукт, а технология производства должна максимально их сохранять [7, 8].

Разработка напитков с использованием плодово-ягодного и пряно-ароматического сырья позволяет повысить их пищевую ценность, сохранить полезные свойства овощей и фруктов и обеспечить поступление в организм дополнительного количества эссенциальных нутриентов. Пиво с добавлением пряностей и трав известно давно. Применение отдельных видов пряно-ароматического сырья позволяло сохранять свежесть пива, скрывать посторонние привкусы и предотвращать его порчу [9–14].

Побочные продукты спиртового брожения могут быть не столь заметны в присутствии плодово-ягодного сырья. Если базовое пиво является элем, то в нем может присутствовать неспецифическая фруктовость и другие побочные продукты брожения, такие как диацетил. Если базовое пиво является лагером, то в нем будет меньшее количество побочных продуктов брожения. Хмелевой аромат может отсутствовать или быть сбалансированным фруктами и овощами в зависимости от типа пива. Фрукты, ягоды и овощи должны добавлять пиву дополнительную сложность вкуса и полезность, но не должны быть настолько заметными, чтобы нарушить равновесие итоговой органолептической картины. Может чувствоваться небольшая кислинка, присутствующая во фруктах и овощах, но она не должна быть интенсивной.

Применение фруктово-овощного сырья в производстве алкогольных напитков преследует также достижение цели в социальной сфере: снижение отрицательного влияния от чрезмерного употребления

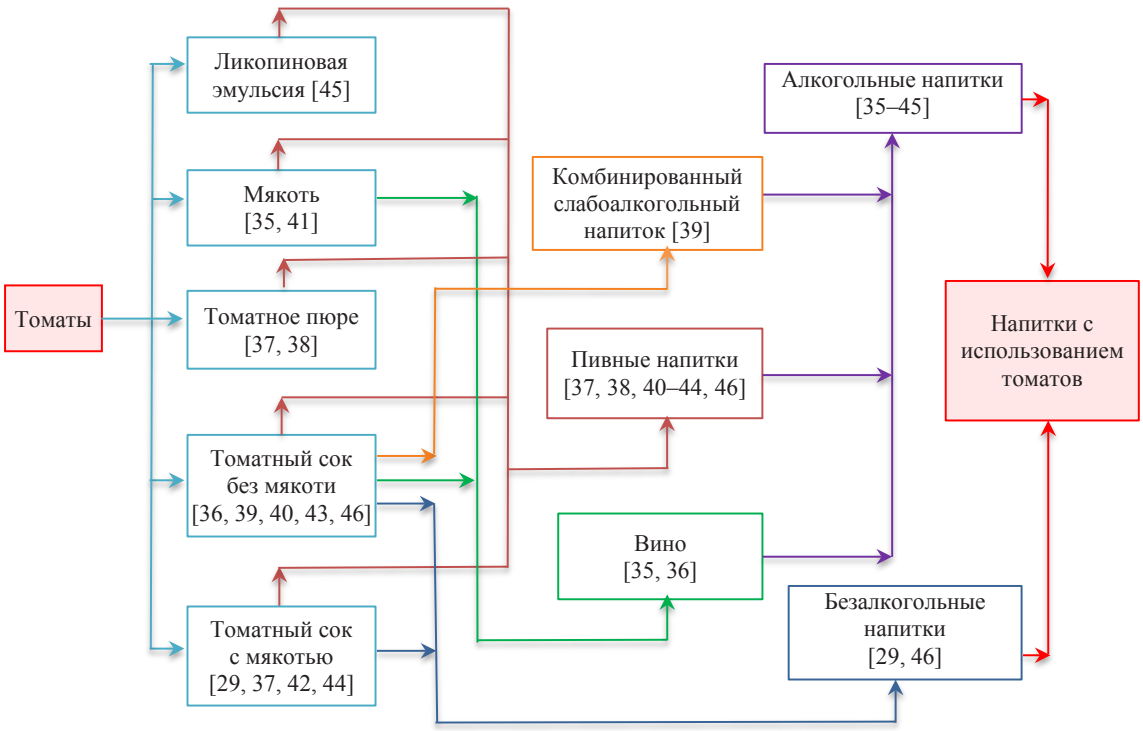



Рисунок 4. Классификация алкогольных и безалкогольных напитков с использованием томатов

Figure 4. Classification of alcoholic and non-alcoholic tomato-based drinks

алкоголя и сохранение здоровья населения страны путем увеличения доли потребления таких продуктов.

В связи с этим вызывает интерес применение продуктов переработки плодов томатов в технологии алкогольных напитков.

Одно из первых мест в рационе питания населения многих стран мира, а также в объемах промышленной переработки овощного сырья занимают плоды томата [15]. Мировое производство томатов ежегодно растет и по данным FAOSTAT в 2019 г. составило примерно 180,8 млн т [16].

Томаты и томатные продукты являются богатыми источниками разнообразных биологически активных веществ: микроэлементов (калия), фолиевой кислоты, витамина A, C, E, $B_3$, флавоноидов и фитостеролов [17].

Для современного человека томаты и содержащие их продукты являются одним из основных источников каротиноидов, в том числе ликопина, представляющего собой пигмент, который отвечает за характерный темно-красный цвет спелых плодов томатов [18–20]. Ликопин привлекает внимание благодаря своим биологическим свойствам, а именно антиоксидантным [20–22].

Каротиноиды томатов могут обеспечивать или усиливать питательные, сенсорные и функциональные свойства тех продуктов, в рецептуру которых они входят [23].

Томаты обладают противовоспалительной, антигенотоксической, антимутагенной, антипролиферативной и химиопрофилактической активностями, иммунозащитными свойствами и способностью к снижению уровня холестерина в крови [17, 18, 23]. Поэтому их потребление оказывает положительное влияние на здоровье человека.

При существующем уровне переработки томатов около 30 % их первоначального веса превращается в отходы (семена и кожица), которые содержат биологически ценные вещества: белок и пищевые волокна, а также бета-каротин, астаксантин и ликопин [21, 24–26].

В России, как и в других странах мира, отмечается стабильно высокий потребительский спрос на томаты и продукты их переработки. Однако ассортимент выпускаемой продукции ограничен и представлен соком, пастой, пюре, соусами и маринадами [27, 28].

Цель данного обзора – обобщение и анализ современных данных об использовании продуктов переработки плодов томатов в технологии алкогольных напитков.

Задачи исследования:

1. Систематизация информации о возможностях использования продуктов переработки томатов в технологии алкогольных и безалкогольных напитков;

2. Анализ существующих способов производства пивных напитков с добавлением томатных продуктов;

3. Выявление перспективных направлений исследований по расширению ассортимента напитков с томатными продуктами, в том числе связанных с решением технологических вопросов.

**Объекты и методы исследования**

Объектами исследования являлись научные статьи, находящиеся в открытом доступе, российские и зарубежные патенты, связанные с разработкой алкогольных и безалкогольных напитков с добавлением томатных продуктов. Поиск осуществляли по следующим информационным базам: Pubmed (ключевые слова – tomatoes, tomatoproducts, tomatolycopene, compositionoftomatoes), Elibrary (ключевые слова – томаты, помидоры, томатное пиво, состав томатов, томатный напиток, пивной напиток), Cyberleninka (ключевые слова – алкоголь, анализ рынка, статистика, напитки, томатные продукты), Espacenet (ключевые слова – tomatobeer, tomatoalcohol, lycopenebeer) и Patentscope (ключевые слова – tomato, tomatobeer, beer, tomatodrink, tomatowaste).

Для систематизации найденной информации использовали методы анализа, сравнения и описания.

**Результаты и их обсуждение**

Найденная по теме исследования научно-техническая и патентная информация была проанализирована и систематизирована с учетом вида используемого томатного продукта и разновидности получаемого напитка. Результаты представлены в виде схемы на рисунке 4.

Из рисунка 4 видно, что практически все продукты переработки томатов могут быть использованы в технологии напитков. Однако большинство разработок сосредоточено на применении томатного сока (с мякотью или без нее) в производстве безалкогольных напитков.

Потребители традиционно наслаждаются различными напитками со вкусом томатов, одним из которых является томатный сок. В меньших объемах производится томатно-тутовый сок [29]. Отличительной особенностью томатных соков является узнаваемый томатный вкус и наличие большого количества питательных веществ, включая витамины и минералы. Однако в состав отдельных наименований таких напитков входят пряности. Например, перец для придания острого или пикантного вкуса [25].

По данным [30], при употреблении стакана томатного сока человек может практически полностью покрыть суточную потребность в ликопине, а по данным [31] – в витамине С на 60 %, в витамине А – на 23 %, в К, Ca, Mn, Cr и Cu – на 13,5, 12, 10, 8 и 7 % соответственно, в витаминах $B_1$, $B_6$ и фолиевой кислоте – на 7 %, в витаминах $B_3$, $B_2$, $B_5$, минеральных солях Fe, Mg и P – около 5 %. Кроме того, томатный сок содержит как растворимые (пектины), так и нерастворимые (целлюлоза) пищевые волокна. Общее количество пищевых волокон в соках зависит от содержания в них мякоти [29]. Употребление томатного сока способствует выработке в человеческом организме серотонина – вещества, которое помогает улучшить настроение, снизить негативное последствие психоэмоциональных стрессов и снять нервное напряжение [32]. Благодаря наличию каротиноидов, среди которых ликопин, употребление томатного сока эффективно для повышения антиоксидантной защиты организма человека, в том числе от повреждающего действия радиации и УФ-излучения [33, 34].

Известны разработки китайских ученых, предусматривающие использование мякоти томатов или томатного сока без мякоти в качестве сырья при производстве вина, а также томатного пюре при производстве пивных напитков [35–38]. Известен способ создания комбинированного слабоалкогольного напитка с использованием томатного сока без мякоти [39]. Получаемые продукты характеризуются хорошими органолептическими свойствами (имеют томатный пряный вкус и аромат) и отличаются составом, а именно повышенной пищевой ценностью за счет использования томатного сырья. Наибольшее количество найденных источников информации связано с использованием различных продуктов переработки томатов в производстве пивных напитков.

Объемы производства и реализации пивных напитков в России находятся на этапе роста, поэтому более подробно остановимся на этом сегменте алкогольной и безалкогольной продукции.

Термин «пиво специальное» (с применением плодово-ягодного и растительного сырья и/или продуктов их переработки, и/или вкусоароматических добавок) появился в российском законодательстве в 2009 г. (недействующий ГОСТ Р 53459-2009). Это было вызвано необходимостью узаконить новый продукт, отличающийся по составу от классического представления о пиве как напитке, произведенном из солода и хмеля. Он появился в результате стремления производителей снизить себестоимость пива и поиска новых вкусовых решений.

По существующему определению (действующий ГОСТ Р 55292-2012) к пивным напиткам относят продукцию, приготовленную из пива (не менее 40 % объема готовой продукции) и/или пивного сусла из пивоваренного солода (не менее 40 % массы сырья), воды и дополнительного сырья (зерно- и сахаросодержащих продуктов, хмеля и/или хмелепродуктов, плодового и иного растительного сырья, вкусоароматических веществ). Объемная доля этилового спирта, образовавшегося в процессе брожения пивного сусла, должна быть не более чем 7 %, но его добавление не допускается. Более

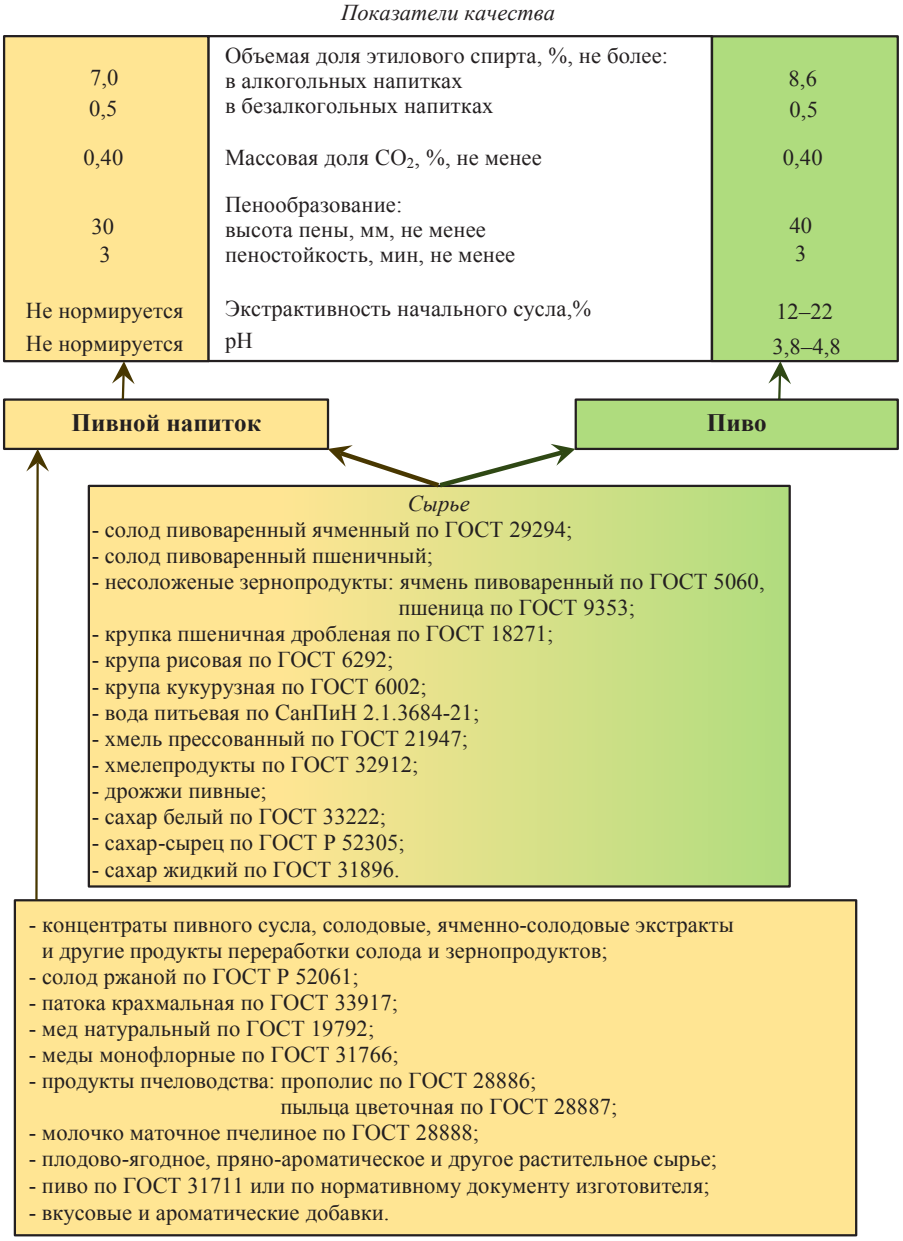



Рисунок 5. Характеристика ингредиентного состава и показателей качества пива и пивных напитков

Figure 5. Ingredients and quality indicators of beer and beer drinks

детально общие и отличительные черты пива и пивных напитков представлены на рисунке 5.

Благодаря введению в состав пивных напитков большого количества овощного или фруктового сырья появляется возможность разработки продукта, отличающегося высокой пищевой ценностью и способностью оказать благоприятное воздействие на организм человека.

Анализ российского рынка пивных напитков показал, что небольшое количество отечественных пивоварен производят продукцию с томатными компонентами: соком, пастой или соусом (табл. 1). Среди зарубежных производителей пивных напитков, поставляющих продукцию на российский рынок, найдено только три, которые используют в рецептурах томатный сок.

Таким образом, ниша пивных напитков с томатными продуктами на российском рынке занята небольшим числом отечественных и зарубежных производителей. Следует отметить, что продукция с подтвержденным положительным биологическим эффектом отсутствует. Также отсутствует продукция с осветленным томатным соком и препаратами ликопина. Следовательно, проведение работ

Таблица 1. Ассортимент пивных напитков с использованием томатных продуктов

Table 1. Range of tomato-based beer drinks

| Разновидность томатного продукта | Наименование пивного напитка | Торговая марка/Производитель | Содержание в 100 см³ | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Углеводов, мг, не более | Этилового спирта, %об. |
| Томатная паста | «Зависимость» | 4brewers/ООО «Четыре пивовара» (г. Владимир) | 5,0 | 6,9 |
| | «Бычье сердце» | PivotPoint/ООО «Клантрейд» (г. Коломна) | 6,2 | 6,5 |
| | Mary's Breakfast, Mary, Go Home! | Konix/ООО «Монплезир» (г. Заречный) | 8,0 | 6,5 |
| | Dai! Dai! | Rewort/ООО «СВОИ» (г. Сергиев посад) | 7,0 | 6,9 |
| | WildTomatoGose | BrewFiction/ООО «30 меридиан» (г. Москва) | 5,3 | 6,0 |
| | Catchup | Panzer/ООО «Соляр Бир» (г. Подольск) | 4,7 | 4,3 |
| | Tomatometod | Selfmade/ООО «БарбеллБрювери» (г. Москва) | 5,8 | 5,6 |
| | Hellman | Chibis/ООО «Пивоварня Чибис» (г. Москва) | 8,0 | 4,2 |
| Томатный сок | BloodyRoots | Coven/ООО «КОВЕН» (г. Мытищи) | 6,0 | 6,5 |
| | BloodyMary EmpressMaria | Zavod/ООО «РусскийКрафт» (г. Химки) | 7,0 | 7,0 |
| | TomatoMotato | ТАРКОС/ООО «Пивоварня С» (г. Воронеж) | 5,6 | 4,0 |
| | Chelada | Knightberg/ООО «Красный пивовар» (г. Санкт-Петербург) | 6,0 | 5,0 |
| | SolClamato | Heineken (Мексика) | Не указано на маркировке | 2,5 |
| | The Original Clam and Spice | FarmeryEstateBrewery (Канада) | | 4,0 |
| | Michelada | RebellionBrewingCo. (Канада) | | 4,2 |
| | Hellman | Chibis/ООО «Пивоварня Чибис» (г. Москва) | 8,0 | 4,2 |
| Томатный соус | PizzaTime | Sabotage/ООО «Бородач энд молнин» (г. Пермь) | 5,5 | 5,0 |
| | TheJudasKiss | RisingMoonBrewery/ООО «Райзинг Мун Брюери» (г. Москва) | 12,0 | 4,1 |
| Пюре из томатов | Инквизитор | Alaska/ООО «Катуков и сын» (г. Москва) | 6,0 | 6,0 |

по расширению ассортимента пивных напитков в данном направлении актуально.

Несмотря на то что на рынке уже имеются пивные напитки с томатными продуктами, мы считаем важным создать такие напитки, которые будут обладать не только высокими органолептическими показателями, но и приносить пользу организму человека. Поэтому нашей следующей задачей являлась разработка такого напитка.

Существует несколько способов производства томатных пивных напитков. Различие состоит в стадиях добавления томатных продуктов в пиво: при кипячении сусла, перед сбраживанием пивного сусла, фильтрацией или пастеризацией готового пива.

Выбор стадии зависит от вида добавляемого томатного продукта. Томатный сок без мякоти чаще всего добавляют в готовое пиво перед его пастеризацией и упаковкой [40]. Томатный сок с мякотью и другие продукты с частицами томатов (пюре, соусы) вносят до процесса фильтрации, чтобы затем убрать частицы мякоти, которые могут оседать в процессе хранения напитка [35].

Анализ зарубежной патентной информации показал, что особенности производства алкогольных напитков с томатными продуктами заключаются в следующем: купажирование осветленного томатного сока (8–12 % сухих веществ) или мякоти томатов с готовым пивом осуществляют при соотношении 1:1 или 2:1. Затем проводят пастеризацию при температуре 90–95 °С в течение 10–30 мин или при температуре 70–90 °С в течение 40–50 мин [40, 41].

При приготовлении пивного сусла на стадии кипячения сусла с хмелем можно использовать томатный сок или томатное пюре [37]. Причем томатный сок или протертые томаты добавляют за 10 мин до окончания кипячения [42]. При сбраживании пивного охлажденного сусла добавляют томатный сок с содержанием сухих веществ 6 % в соотношении 6:4 [43].

Известны способы приготовления алкогольных напитков из комбинаций различных по свойствам видов сырья. Запатентован способ производства вина, который предусматривает использование в качестве сырья риса, мякоти томатов, супернатанта (осветленный сок) и воды. Брожение ведут в течение 7 суток при температуре 30 °С. Полученный напиток фильтруют и проводят термообработку при температуре 90–95 °С в течение 15–20 мин [35]. По

способу [36] при изготовлении алкогольного напитка сырьем является сброженный томатный сок, вода, мука и смесь «кодзи» (микроорганизмы *Rhizopus oryzae*, *Saccharomycetaceae*, сухие компоненты питательной среды и ферменты, выделенные из микроорганизмов *R. oryzae*). Брожение ведут при температуре 23 °С в течение 2–3 суток, дображивание – при температуре 21 °С в течение 20–25 суток.

Известен способ производства комбинированного слабоалкогольного напитка. В качестве сырья используют осветленный с помощью центрифугирования томатный сок, этиловый спирт крепостью 95 % об., воду, эмульсию томатного пигмента (это продукт обезвоженной обработки нерастворимых компонентов томатов (клетчатка), содержащий ликопин, экстрагированный сверхкритическим диоксидом углерода и растворенный в растительном масле) и лимонную кислоту. Все ингредиенты смешивают и полученный напиток насыщают диоксидом углерода [39].

Исследована возможность применения томатного сырья в производстве солодового сусла в качестве основы для создания напитка, ликопинового пива (при смешивании готового пива с микроэмульсией ликопина), безалкогольного напитка из тутовника (при смешивании томатного сока с готовым тутовым напитком) и напитка с низким содержанием углеводов [29, 44–46].

**Выводы**

Проведя анализ зарубежной и отечественной научно-технической и патентной информации, систематизировали сведения о возможных направлениях использования продуктов переработки томатов в технологии алкогольных и безалкогольных напитков.

Установили, что основная часть разработок, связанных с применением томатных продуктов в технологии напитков, направлена на повышение их пищевой ценности, улучшение органолептических показателей качества, расширение ассортимента продукции, в том числе для людей, страдающих сахарным диабетом, а также на придание функциональных свойств (а именно антиоксидантных) и продление сроков годности.

Для производства пивных напитков используют измельченную мякоть томатов, сок или пюре. В работе рассмотрены стадии введения в напитки данных томатных продуктов.

Однако не обнаружена информация о влиянии сортовой принадлежности и особенностей состава томатов, использованных в разработках, на получение заявленного технического результата.

Таким образом, можно определить перспективные направления исследований по расширению ассортимента напитков с томатными продуктами:

1. Исследование влияния особенностей состава красноплодных, желтоплодных и темноокрашенных томатов на органолептические и физико-химические показатели качества пивных напитков;

2. Получение полуфабриката из вторичных продуктов переработки томатов (выжимок) для повышения пищевой ценности пивных напитков.

**Критерии авторства**

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Contribution**

All the authors contributed equally involved in the research and design of the manuscript.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article

**References/Список литературы**

1. Alcoholic drinks of Ancient Russia [Internet]. [cited 2021 Dec 20]. Available from: http://factsite.ru/spirtnyie-napitki-drevney-rusi.html [Спиртные напитки Древней Руси. URL: http://factsite.ru/spirtnyie-napitki-drevney-rusi.html (дата обращения: 20.12.2022).].

2. Global rating of the most drinking countries 2020 [Internet]. [cited 2021 Dec 20]. Available from: https://tyulyagin.ru/ratings/rejting-samyx-pyushhix-stran-mira.html#2 [Рейтинг самых пьющих стран мира на 2020 год. URL: https://tyulyagin.ru/ratings/rejting-samyx-pyushhix-stran-mira.html#2 (дата обращения: 20.12.2022).].

3. Russia and countries of the world. 2020: Statistical compendium. Moscow: Rosstat; 2020. 385 p. (In Russ.). [Россия и страны мира. 2020: Статистический сборник. М: Росстат, 2020. 385 с.].

4. Overview of the Russian alcohol market [Internet]. [cited 2021 Dec 20]. Available from: https://ac.gov.ru/uploads/2-Publications/alcogol/alco.2020.4.pdf [Обзор российского рынка алкогольной продукции. URL: https://ac.gov.ru/uploads/2-Publications/alcogol/alco.2020.4.pdf (дата обращения: 20.12.2022).].

5. Savić A, Velemir A, Papuga S, Stojković M. Influence of blackberry juice addition on mead fermentation and quality. Foods and Raw Materials. 2021;9(1):146–152. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-146-152

6. Kozhemayko AV, Sergeeva IYu, Dolgolyuk IV. Experimental determination of biologically active compounds in pomace of siberian beet and carrot. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):179–187. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-179-187

7. Samoylov AV, Suraeva NM, Zaytseva MV, Rachkova VP, Kurbanova MN, Belozerov GA. Toxicity of apple juice and its components in the model plant system. Foods and Raw Materials. 2020;8(2):321–328. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-321-328

8. Lilishentseva AN. Criteria of vegetable juices naturalness. Food Processing: Techniques and Technology. 2017;47(4): 123–129. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2017-4-123-129

9. Martinez-Gomez A, Caballero I, Blanco CA. Phenols and melanoidins as natural antioxidants in beer. Structure, reactivity and antioxidant activity. Biomolecules. 2020;10(3). https://doi.org/10.3390/biom10030400

10. Tanashkina TV, Semenyuta AA, Trotsenko AS, Klykov AG. Gluten-free low-alcohol beverages fermented from light and scalding buckwheat malt. Food Processing: Techniques and Technology. 2017;45(2):74–80. (In Russ.). [Безглютеновые слабоалкогольные напитки из светлого томленого гречишного солода / Т. В. Танашкина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2017. Т. 45. № 2. С. 74–80.].

11. Kozłowski R, Dziedziński M, Stachowiak B, Kobus-Cisowska J. Non- and low-alcoholic beer – popularity and manufacturing techniques. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria. 2021;20(3):347–357. https://doi.org/10.17306/J.AFS.0961

12. De Francesco G, Sannino C, Sileoni V, Marconi O, Filippucci S, Tasselli G, *et al. Mrakia gelida* in brewing process: An innovative production of low alcohol beer using a psychrophilic yeast strain. Food Microbiology. 2018;76:354–362. https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.06.018

13. Ducruet J, Rébénaque P, Diserens S, Kosińska-Cagnazzo A, Héritier I, Andlauer W. Amber ale beer enriched with goji berries – The effect on bioactive compound content and sensorial properties. Food Chemistry. 2017;226:109–118. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.047

14. Humia BV, Santos KS, Schneider JK, Leal IL, de Abreu Barreto G, Batista T, *et al.* Physicochemical and sensory profile of Beauregard sweet potato beer. Food Chemistry. 2020;312. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126087

15. Gadzhieva AM, Sultanov YuM, Ramaldanova ZN. Processing of secondary vegetable raw materials using electrophysical methods: Expanding the range of products with increased nutritional value based on tomato raw materials. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(4):224–226. (In Russ.). [Гаджиева А. М., Султанов Ю. М., Рамалданова З. Н. Переработка вторичного овощного сырья с использованием электрофизических методов: расширение ассортимента продуктов повышенной пищевой ценности на основе томатного сырья // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2020. Т. 82. № 4. С. 224–226.].

16. Brasesco F, Asgedom D, Casari G. Strategic analysis and intervention plan for fresh and industrial tomato in the Agro-Commodities Procurement Zone of the pilot Integrated Agro-Industrial Park in Central-Eastern Oromiya, Ethiopia. Addis Ababa: FAO, 2019. 80 p.

17. Chaudhary P, Sharma A, Singh B, Nagpal AK. Bioactivities of phytochemicals present in tomato. Journal of Food Science and Technology. 2018;55(8):2833–2849. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3221-z

18. Gadzhieva AM, Sultanov YuM, Ramaldanova ZN. Complex processing of tomato raw materials to produce tomato dye lycopene – the elixir of life. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(4):219–223. (In Russ.). [Гаджиева А. М., Султанов Ю. М., Рамалданова З. Н. Комплексная переработка томатного сырья с получением томатного красителя ликопина – эликсира жизни // Вестник ВГУИТ. 2020. Т. 82. № 4. С. 219–223.].

19. Setyorini D. Terpenoids: Lycopene in tomatoes. In: Perveen S, editor. Terpenes and terpenoids – recent advances. IntechOpen, 2021. https://doi.org/10.5772/intechopen.97126

20. Heymann T, Schmitz LM, Lange J, Glomb MA. Influence of β-carotene and lycopene on oxidation of ethyl linoleate in one- and disperse-phased model systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2020;68(9):2747–2756. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07862

21. Setyorini D, Sugito Y, Aini N, Tyasmoro SY. Lycopene, beta-carotene and productivity of tomato varieties at different shade levels under medium land of Indonesia. Journal of Applied Horticulture. 2018;20(2):92–96. https://doi.org/10.37855/JAH.2018.V20I02.17

22. Sri Harsha PSC, Lavelli V. Effects of maltodextrins on the kinetics of lycopene and chlorogenic acid degradation in dried tomato. Molecules. 2019;24(6). https://doi.org/10.3390/molecules24061042

23. Trombino S, Cassano R, Procopio D, Di Gioia ML, Barone E. Valorization of tomato waste as a source of carotenoids. Molecules. 2021;26(16). https://doi.org/10.3390/molecules26165062

24. Ali MY, Sina AAI, Khandker SS, Neesa L, Tanvir EM, Kabir A, *et al.* Nutritional composition and bioactive compounds in tomatoes and their impact on human health and disease: A review. Foods. 2020;10(1). https://doi.org/10.3390/foods10010045

25. Saini RK, Moon SH, Keum Y-S. An updated review on use of tomato pomace and crustacean processing waste to recover commercially vital carotenoids. Food Research International. 2018;108:516–529. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.003

26. Szabo K, Cătoi A-F, Vodnar DC. Bioactive compounds extracted from tomato processing by-products as a source of valuable nutrients. Plant Foods for Human Nutrition. 2018;73(4):268–277. https://doi.org/10.1007/s11130-018-0691-0

27. Gasparyan ShV, Maslovskii SA. Processing of vegetables in Russia: present time and future. Potato and Vegetables. 2028;(6):2–6. (In Russ.). [Гаспарян Ш. В., Масловский С. А. Переработка овощей в России: настоящее и будущее // Картофель и овощи. 2018. № 6. С. 2–6.].

28. Wu X, Yu L, Pehrsson PR. Are processed tomato products as nutritious as fresh tomatoes? Scoping review on the effects of industrial processing on nutrients and bioactive compounds in tomatoes. Advances in Nutrition. 2022;13(1):138–151. https://doi.org/10.1093/advances/nmab109

29. Dzharullaev DS, Murtazalieva ZG. New tomato-mulberry beverage. Beer and Beverages. 2007;(3):23. (In Russ.). [Джаруллаев Д. С., Муртазалиева З. Г. Новый томатно-тутовый напиток // Пиво и напитки. 2007. № 3. С. 23.].

30. Shhh EV, Elizarova EV, Makhova AA, Bragina TV. Role of tomatoes and products thereof in human healthy diet. Problems of Nutrition. 2021;90(4):129–137. (In Russ.). https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-129-137

31. Ivanova NN, Khomich LM, Beketova NA. Tomato juice nutritional profile. Problems of Nutrition. 2018;87(2):53–64. (In Russ.). https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10019

32. Yoo J-M, Lee BD, Sok D-E, Ma JY, Kim MR. Neuroprotective action of N-acetyl serotonin in oxidative stress-induced apoptosis through the activation of both TrkB/CREB/BDNF pathway and Akt/Nrf2/Antioxidant enzyme in neuronal cells. Redox Biology. 2017;11:592–599. https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.034

33. Nakamura A, Itaki C, Saito A, Yonezawa T, Aizawa K, Hirai A, *et al.* Possible benefits of tomato juice consumption: a pilot study on irradiated human lymphocytes from healthy donors. Nutrition Journal. 2017;16(1). https://doi.org/10.1186/s12937-017-0248-3

34. Souyoul SA, Saussy KP, Lupo MP. Nutraceuticals: A review. Dermatol Ther (Heidelb). 2018;8(1):5–16. https://doi.org/10.1007/s13555-018-0221-x

35. Wang J, Cheng J, Wang J, *et al.* Tomato rice wine and the method of its preparation. China patent CN1219043C. 2005.

36. Xie R. Tomato drink and yeast for making a drink. China patent CN03125280A. 2005.

37. Waki I. Method for producing alcoholic beverage. Japan patent JP2006094855A. 2006.

38. Livaich A. Compositions and methods of preparation of alcohol based on tomatoes. China patent US2007065561A1. 2007

39. Miura Y. Carbonated tomato alcoholic beverage. Japan patent JP2007189934A. 2007.

40. Zhao Y. Beer and tomato juice. China patent CN106398930A. 2017.

41. Kong Y. Tomato beer processing method. China patent CN104673563A. 2015.

42. Waki I. Production of liquors and beer, miscellaneous liquors, sparkling wine and low-alcoholic beverage. Japan patent JP2000139441A. 2000.

43. Fu W. Tomato beer and its production method. China patent CN1354247A. 2020.

44. Waki I. Production method of tomato alcohol beverage capable of enjoying four kinds of tastes of tomato beer, tomato sparkling wines depending on strength of gas volume (high and low) by adding step of carbon dioxide addition/gas volume to acquired patent No. 5024646 (production method of alcohol beverage). Japan patent JP2019041748A. 2019.

45. Wu M, Ye S, Zhu F, Zhao G, Quan L, He F, *et al.* Preparation method of lycopene beer. China patent CN102559425A. 2012.

46. Monma T, Kuzuhara H. Low carbohydrate vegetable beverage. Japan patent JP2018157834A. 2018.

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2391
https://elibrary.ru/TQRZQB

Оригинальная статья
https://fptt.ru

# Сушка растительных материалов, обработанных низкотемпературной плазмой

**И. А. Шорсткий**

*Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия*

*Поступила в редакцию: 11.02.2022*
*Принята после рецензирования: 15.03.2022*
*Принята к публикации: 05.04.2022*

*И. А. Шорсткий: i-shorstky@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5804-7950*

*© И. А. Шорсткий, 2022*

**Аннотация.**
Переход к эффективному производству требует построения научных основ для развития энергосберегающих технологий и процессов сушки растительных материалов для их преобразования в продукты с функциональными свойствами. Математическое моделирование и управление процессом сушки имеет большое значение для прогнозирования ее хода и обеспечения эффективной переработки растительных материалов, предварительно обработанных низкотемпературной плазмой.
В работе были использованы растительные материалы: яблоко сорта Гренни Смит и картофель сорта Боровичок. В качестве электрофизической обработки использовали воздействие низкотемпературной плазмы атмосферного давления в воздушной газовой среде. За основную модель тепломассопереноса приняли модель Лыкова через систему связанных дифференциальных уравнений потенциала влажности и температуры. Математический аппарат и программный код реализовывали в программной среде MathCAD.
В результате обработки низкотемпературной плазмой атмосферного давления в воздушной газовой среде отмечено снижение длительности сушки растительных материалов. При росте величины индекса дезинтеграции установлено снижение общей длительности процесса сушки. Математический аппарат модели тепломассопереноса при сопоставлении с данными эксперимента сушки растительных материалов показал высокую схожесть результатов. На основе анализа кинетических коэффициентов переноса потенциалов тепла, влаги и давления предложен управляющий параметр процесса сушки растительных материалов – индекс дезинтеграции.
Предлагаемый математический аппарат дает возможность провести объяснения возникающих эффектов, а уточненные кинетические коэффициенты на основе экспериментальных данных способствуют объяснению процессов, протекающих в объекте сушки.

**Ключевые слова.** Сушка, тепломассоперенос, управление процессом сушки, электрофизическая обработка, низкотемпературная плазма, индекс дезинтеграции, численное моделирование

**Финансирование.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (РНФ) № 21-79-00112, https://rscf.ru/project/21-79-00112

**Для цитирования:** Шорсткий И. А. Сушка растительных материалов, обработанных низкотемпературной плазмой // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 613–622. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2391

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2391
https://elibrary.ru/TQRZQB

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

# Cold Plasma Pretreatment in Plant Material Drying

**Ivan A. Shorstkii**

*Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia*

*Received: 11.02.2022*
*Revised: 15.03.2022*
*Accepted: 05.04.2022*

*Ivan A. Shorstkii: i-shorstky@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5804-7950*

*© I.A. Shorstkii, 2022*

**Abstract.**
Efficient production requires reliable scientific foundations for new energy-saving technologies and drying processes that are able to transform plant materials into functional products. Mathematical modeling and control can provide efficient drying of cold plasma pretreated plant materials and predict its results.
The present research featured raw potatoes and apples that underwent an electrophysical treatment by atmospheric pressure plasma in an air gas medium. The Luikov drying model served as the main model of heat and mass transfer as a system of coupled differential equations of humidity and temperature potentials. The mathematical modeling procedure and the program code were implemented in the MathCAD software.
The cold plasma pretreatment proved to decrease the drying time. A greater disintegration index resulted in a shorter total drying time. The mathematical modelling of the heat and mass transfer processes almost coincided with the experimental results. The analysis of kinetic transfer coefficients of heat, moisture, and pressure potentials made it possible to develop a control parameter of the drying process of plant materials entitled as the disintegration index.
The proposed mathematical model explained the emerging effects, while the refined kinetic coefficients supported by experimental data clarified the processes in the drying material.

**Keywords.** Drying, heat and mass transfer, drying process control, electrophysical treatment, cold plasma, disintegration index, numerical modeling

**Funding.** The reported research was funded by the Russian Science Foundation (RSF) No. 21-79-00112, https://rscf.ru/en/project/21-79-00112

**For citation:** Shorstkii IA. Cold Plasma Pretreatment in Plant Material Drying. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):613–622. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2391

## Введение

Глобальная конкуренция, необходимость обеспечения безопасности производства пищевых продуктов с высокой пищевой ценностью и снижение удельной энергоемкости технологий способствуют развитию перспективных технологий управления технологическими процессами [1, 2]. Комплексное решение этих проблем перспективно для пищевых систем.

Альтернативные «зеленые» технологии активно внедряются в процессы производства разнообразных продуктов [3, 4]. Например, технология обработки импульсным электрическим полем, которая успешно применяется при переработке картофеля, производстве соков и подготовке к процессам сушки [5–7]. Наряду с этим такие технологические процессы с применением электрических полей, как электропорация, электрогидродинамическая сушка и электроосмос начинаются внедряться в пищевой промышленности [8–10]. В данной работе рассматривается «зеленая» технология обработки низкотемпературной плазмой в качестве предварительной подготовки растительных материалов для управления процессами сушки. Ряд ученых отметил возможность применения низкотемпературной плазмы для ускорения процессов сушки [8, 9]. N. N. Misra и др. обрабатывали специи перца чили потоком низкотемпературной плазмы с частотой 20 кГц и мощностью 750 Вт [10]. Было установлено, что длительность сушки при такой обработке снижается на 12,6 % по сравнению с контрольным образцом. E. Vorobiev и N. Lebovka исследовали эффект обработки низкотемпературной плазмой семян кукурузы при мощности 500 Вт и длительностью 50 с [8]. Результаты показали, что обработка может снизить длительность сушки растительного материала.

В процессе сушки растительных материалов, кроме энергетических затрат, важными являются факторы,

затрагивающие безопасность и качество продукта, которые являются функцией состояния (температура, влажность и состав) материала [11]. В связи с этим управление процессом сушки для ограничения перегрева материала или неконтролируемой усадки являются важными задачами производства.

С точки зрения термодинамики процесса возникающий интенсивный массоперенос в предварительно обработанных низкотемпературной плазмой биоматериалах вызван формированием большого количества древовидных микроканалов, расположенных в толщине биоматериала преимущественно вдоль силовых линий напряженности электрического поля [11]. Основным барьером для массопереноса влаги из структуры капиллярно-пористых коллоидных тел в процессе сушки является сопротивление клеточных мембран. С помощью плазмолиза, в процессе которого происходит анатомическое разрушение клеточных мембран из-за температурного воздействия, возможно ускорение процесса сушки [12]. Предварительная обработка низкотемпературной плазмой может положительно сказаться на динамике массообмена в биоматериалах за счет изменения капиллярно-пористой структуры, присутствия высвободившейся жидкой фазы на поверхности материала в начальный момент времени, увеличения суммарной диффузии и изменения некоторых термодинамических параметров объекта сушки (теплоемкости, теплопроводности и др.) [12–15]. Знания о механизме тепло- и массопереноса процесса сушки для предварительно обработанного низкотемпературной плазмой растительного материала являются необходимым инструментом при построении основ для разработки передовых «зеленых» технологий в пищевой, химической и других областях промышленности.

Целью данного исследования являлось численное моделирование процессов сушки растительных материалов, обработанных низкотемпературной плазмой, на основе модели Лыкова с определением управляющего фактора обработки.

## Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали яблоки сорта Гренни Смит и картофель сорта Боровичок. Размеры нарезок составляли 45 мм в диаметре с толщиной 5 мм. Начальная влажность объектов исследования составляла 78,2 ± 1,3 и 83 ± 1 % для картофеля и яблок соответственно. Влажность измеряли с помощью анализатора влажности (HC103, Mettler Toledo). Сушку образцов картофеля и яблок проводили в соответствии с данными работ [15, 16] в сушильном шкафу Binder FP 240 (Квакенбрюк, Германия) при температуре 60 °C и объемной скорости потока воздуха 4,8 м$^3$/ч в течение 8 ч.

***Обработка низкотемпературной плазмой.*** Обработку низкотемпературной плазмой атмосферного давления в воздушной газовой среде проводили с использованием технологической установки на базе высоковольтного усилителя Matsusada 20-B-20 (Matsusada Precision Inc, Япония). Установка обеспечивает формирование устойчивого микроплазменного разряда с помощью источника термоэлектронной эмиссии. Параметры импульса: длительность импульса – 40 мс, частота следования импульсов – 100 Гц, амплитуда импульсов – 60000 В/м. Измерение высоковольтного сигнала осуществляли с помощью осциллографа Tektronix TDS 220 через высоковольтный делитель (X1000, Tektronix). Ячейка для обработки растительных материалов представляет собой систему из плоского анода, на котором располагают исследуемый материал, и катода с термоэлектронной эмиссией, который установлен на шасси для осуществления сканирующего принципа обработки. Эксперименты проводились с применением величины удельной энергий 1 кДж/кг и напряженности поля 60000 В/м.

***Определение индекса дезинтеграции.*** При обработке растительных материалов активно используется показатель эффективности электрофизической обработки – индекс дезинтеграции [17]. Данный индекс количественно характеризует степень анатомически разрушенных растительных клеток в процессе обработки низкотемпературной плазмой. Сущность метода заключается в измерении величины электропроводности растительного материала до и после обработки [17]. Величину электропроводности определяли с использованием прецизионного LCR метра 1920 Quadtech (IET LABS, Нью-Йорк, США) на базовых узловых частотах: 10 и 100 Гц и 1, 10 и 100 кГц. При работе с листовыми растительными материалами использовали 2-пиновую насадку, а при работе с растительными материалами толщиной 5 мм – ячейку из плоскопараллельных электродов с набором 4-пиновых коннекторов (1700-03 Kelvin Leads).

Величину индекса дезинтеграции определи по формуле:

$$Z = (\sigma - \sigma_i) / (\sigma_d - \sigma_i) \qquad (1)$$

где $\sigma$ – электропроводность образца после обработки; $\sigma_i$ – электропроводность образца до обработки (значение близко к нулю); $\sigma_d$ – электропроводность максимально разрушенных клеток образцов (замороженных при –20 °C).

***Модель сушки Лыкова.*** Академиком Лыковым на базе термодинамики необратимых процессов заложены основы тепломассопереноса и сформулирована система связных дифференциальных уравнений в частных производных двух уравнений для передачи тепла и массы. Модель Лыкова успешно использовалась для моделирования процессов

переноса температуры и влажности в капиллярно-пористых материалах [18, 19].

Подробная информация о модели с использованием системы уравнений с учетом потенциала давления приведена в работе [20] и численно решена в работе [21]. В данной работе используется система уравнений с потенциалом температуры $T$ и влажности $M$ с допущениями в соответствии с работами [17, 21]:

$$\rho_0 c_q \frac{\partial T}{\partial t} = \left(k_q + \in \lambda \delta' \rho_0 D\right) \nabla^2 T \cdot \quad (2)$$

$$c_m \frac{\partial M}{\partial t} = \delta' D \nabla^2 T + D c_m \nabla^2 M \quad (3)$$

где $T$ – потенциал температуры, К; $M$ – потенциал влажности, °М; $\epsilon$ – отношение коэффициента диффузии пара к коэффициенту диффузии полной влажности; $\lambda$ – скрытая теплота парообразования, кДж/кг; $c_m$ – удельная влагоемкость объекта сушки, кг влаги/(кг сухого тела·°М); $D$ – коэффициент диффузии, м²/с; $c_q$ – удельная теплоемкость, Дж/(кг·К); $k_q$ – коэффициент теплопроводности, Дж/(м·К·с); $\rho_0$ – плотность сухого тела, кг/м³; $\delta' = \frac{\delta'}{c_m}$ – термоградиентный коэффициент, 1/К.

Первая часть уравнения (2) после знака равно описывает теплоперенос Фурье, а вторая часть – термодиффузионный эффект Дюфора. В уравнении (3) эффект Соре представлен в первой части правой стороны уравнения, а вторая часть описывает массовый поток от диффузии жидкой фазы.

Определение потенциала влажности $M$ осуществляли с использованием преобразования Лыкова с использованием экспериментальных данных влажности по материалу $M_t$ через следующее выражение:

$$M_t = c_m M \quad (4)$$

где $M_t$ – влажность материала в пересчете на сухое вещество; $c_m$ – удельная влагоемкость объекта сушки, кг влаги/(кг сухого тела·°М). Величина $c_m$ определяется экспериментальным путем с использованием эталонной шкалы или может быть принята из справочных данных термодинамических характеристик [22–24].

***Граничные и начальные условия.*** Набор граничных условий Неймана для системы дифференциальных уравнений (2)–(3) может быть задан из работы [20]. Начальная температура окружающей среды составляла 60 °С для всех образцов, а начальная влажность картофеля и яблок – 85 и 87 % соответственно.

$$M = M_a \quad \text{Г1} \quad (5)$$

$$c_m \rho_0 D \frac{\partial M}{\partial n} + j_m + \frac{D}{c_m} \rho_0 \delta \frac{\partial T}{\partial n} + \alpha_m \rho_0 c_{ma} (M_{ai} - M_a) = 0 \quad \text{Г2} \quad (6)$$

$$T = T_a \quad \text{Г3} \quad (7)$$

$$k_q \frac{\partial T}{\partial n} + j_q + \alpha_q (T - T_a) + \alpha_m \lambda \rho_0 (1 - \in) c_{ma} (M_{ai} - M_a) = 0 \quad \text{Г4} \quad (8)$$

где Г1, Г2, Г3 и Г4 составляют полную пограничную поверхность.

В уравнениях (6) и (8) $\alpha_m$ – конвективный коэффициент массоотдачи, кг/(м²с); $\alpha_q$ – конвективный коэффициент теплоотдачи, Вт/(м²К). Индекс «а» означает окружающий. В уравнении (6) $c_m \rho_0 D \frac{\partial M}{\partial n}$ представляет собой поток влажности, проходящего от центра образца к его поверхности, $\frac{D}{c_m} \rho_0 \delta \frac{\partial T}{\partial n}$ и $\alpha_m \rho_0 c_{ma} (M_{ai} - M_a)$ описывают количество влаги, отводимой от поверхности.

Выражение $k_q \frac{\partial T}{\partial n}$ уравнения (8) представляет собой количество тепла, передаваемого материалу, выражение $\alpha_q (T - T_a)$ определяет тепло, подносимое к поверхности, а последний член $\alpha_m \lambda \rho_0 (1 - \in) c_{ma} (M_{ai} - M_a)$ описывает количество влаги, отводимой от поверхности материала.

На основе литературных источников в таблице 1 представлены данные термодинамических харак-

Таблица 1. Термодинамические характеристики объектов сушки

Table 1. Thermodynamics of drying material

| Параметры | Единица измерения | Значение | |
|---|---|---|---|
| | | Картофель | Яблоко |
| Плотность сухого тела, $\rho_0$ | кг/м³ | 1031 | 1610 |
| Удельная теплоемкость, $c_q$ | Дж/(кг·К) | 3494 | 3950 |
| Коэффициент теплопроводности $k_q$ | Вт/(м·К) | 0,480 | 0,570 |
| Удельная влагоемкость, $c_m$ | кг влаги/(кг сухого тела·°М) | 0,003 | 0,003 |
| Термоградиентный коэффициент, $\delta$ | 1/К | 0,02 | 0,02 |
| Отношение коэффициента диффузии пара к коэффициенту диффузии полной влажности, $\epsilon$ | – | 0,3 | 0,3 |
| Скрытая теплота парообразования, $\lambda$ | Дж/кг | $2{,}25 \times 10^6$ | $2{,}25 \times 10^6$ |

теристик объектов сушки. Значение коэффициента конвективной теплопередачи составило 24 Вт/(м²·К), а коэффициент конвективной массопередачи $\alpha_m$ составил $10^{-5}$ м/с [24, 25]. Начальная температура всех образцов была 20 °С.

Переход дифференциальных уравнений к безразмерному виду осуществляли в соответствии со следующими выражениями:

$$\Theta = \frac{T - T_a}{T_0 - T_a}; \Psi = \frac{M - M_e}{M_0 - M_e}; \tau = \frac{k_q t}{\rho_0 c_q l^2}; \quad \nabla^* = l\nabla;\ n^* = \frac{n}{l} \tag{9}$$

где $M_e$ – потенциал влажности в равновесии с $M_a$. Если $c_{ma} = 1$, тогда $M_e = M_a$; $l$ – это характерный размер тела для теплопередачи и диффузии влаги в продукте.

Получаем запись системы дифференциальных уравнений в безразмерном виде:

$$\frac{\partial\Theta}{\partial t} = (1 + \mathrm{FeLu})(\nabla^*)^2\Theta + (\in \mathrm{KoLu})(\nabla^*)^2\Psi \quad (2a)$$

$$\frac{\partial\Psi}{\partial t} = \mathrm{PnLu}(\nabla^*)^2\Theta + \mathrm{Lu}(\nabla^*)^2\Psi \quad (3a)$$

$$\frac{\partial\Psi}{\partial n^*} + \mathrm{Pn}\frac{\partial\Theta}{\partial n^*} + Bi_m\Psi = 0 \quad \text{Г2а} \quad (6a)$$

$$\frac{\partial\Theta}{\partial n^*} + Bi_q\Theta + Bi_m\mathrm{LuKo}(1-\in)\Psi = 0 \quad \text{Г4а} \quad (8a)$$

где $\mathrm{Lu} = \frac{\rho_0 c_q D}{k_q}$ – число Лыкова, $\mathrm{Ko} = \frac{\lambda c_m(M_0 - M_e)}{c_q(T_0 - T_e)}$ – число Косовича, $\mathrm{Pn} = \frac{\delta(T_0 - T_a)}{c_m(M_0 - M_e)}$ – число Поснова; $Fe = \in \mathrm{KoPn}$ – число Федорова; $Bi_q = \frac{\alpha_q l}{k_q}$ – число Био для теплопереноса, $Bi_m = \frac{\alpha_m l}{D}\frac{\rho_0 c_{ma}}{\rho_0 c_m}$ – число Био для массопереноса.

***Формулировка конечного элемента.*** Управляющие дифференциальные уравнения (2а)–(3а) являются асимметричными, что усложняет их численное решение. Для формирования симметричной системы примем условия, что величины $\epsilon$ и $\delta$ постоянны. Умножив уравнение (2а) на Pn, а выражение (3а) на $\epsilon$Ko и преобразовав систему уравнений в уравнения конечного элемента с использованием метода взвешенных остатков Галеркина в матричной форме, получим:

$$\begin{bmatrix} C_T & 0 \\ 0 & C_M \end{bmatrix}\begin{pmatrix} \dot{T} \\ \dot{M} \end{pmatrix} + \begin{bmatrix} K_{11} & K_{12} \\ K_{21} & K_{22} \end{bmatrix}\begin{pmatrix} T \\ M \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} F_T \\ F_M \end{pmatrix} = 0 \quad (10)$$

где коэффициенты $C_T = \mathrm{Pn}$, $C_M = \epsilon\mathrm{Ko}$, $K_{11} = (1+\mathrm{FeLu})\cdot\mathrm{Pn}$, $K_{12} = K_{21} = \mathrm{FeLu}$, $K_{22} = \epsilon\mathrm{KoLu}$, $F_T$ и $F_M$ соответствуют членам температуры и влажности в уравнениях (2а)–(3а). Матрица (10) симметрична и может быть численно решена. Выражение (10) соответствует принципам симметрии Онзагера ($K_{12} = K_{21}$).

***Решение системы дифференциальных уравнений тепломассопереноса.*** В целях создания эффективного вычислительного метода решения системы уравнений (2а)–(8а) предложено использование конечно-разностного метода в соответствии с методологией, описанной ранее [21]. Определенный с помощью численного метода потенциал влажности сравнивался с данными эксперимента. Отклонение значений рассчитывалось по формуле:

$$\mathrm{JJ} = \sum_{n=0}^{15}\left(\left(\frac{M_{p_n} - M_{exp_n}}{M_{p_n}}\right)^2\right) \quad (11)$$

где $n$ – номер экспериментальной экстраполяционной точки.

***Кинетические коэффициенты.*** Для анализа влияния обработки низкотемпературной плазмы на процесс сушки была поставлена обратная задача для определения кинетических коэффициентов $K$ и $C$ уравнения (10). Вычисление вектора весовых коэффициентов $Z(K,C)$ проводилось в виде минимизации квадрата функции невязок пробной функции $M(K,C)$ от экспериментальной кривой потенциала влажности:

$$Z(K,C) = \sum_{n=0}^{15}(M(K,C)_n - intepr(S,X,Y,x)_n)^2 \quad (12)$$

**Результаты и их обсуждение**

***Индекс дезинтеграции.*** При оценке индекса дезинтеграции $Z$, используя выражение (1) после обработки низкотемпературной плазмой, величина индекса резко возрастает с увеличением количества ее направленных разрядов (рис. 1). Рост величины индекса дезинтеграции связан с ростом количества формируемых сковных каналов и количеством разрушенных мембран растительных клеток. Для образца картофеля и яблока максимальное значение индекса $Z$ зафиксировано при 1500 имп/см². После достижения определенного уровня индекса $Z$ количество разрушенных клеток не увеличивается. Данный факт связан с точечным характером обработки, ограничивающим полное разрушение клеточной структуры. При обработке импульсным электрическим полем рядом исследователей был установлен аналогичный факт. R. Ostermeier и др. связывают ограничения роста индекса дезинтеграции с возникновением обратного эффекта процесса электропорации из-за сверхинтенсивной обработки [26]. Схожая зависимость величины индекса дезинтеграции для материалов картофеля и яблока была получены другими авторами при обработке импульсным электрическим полем [27, 28].

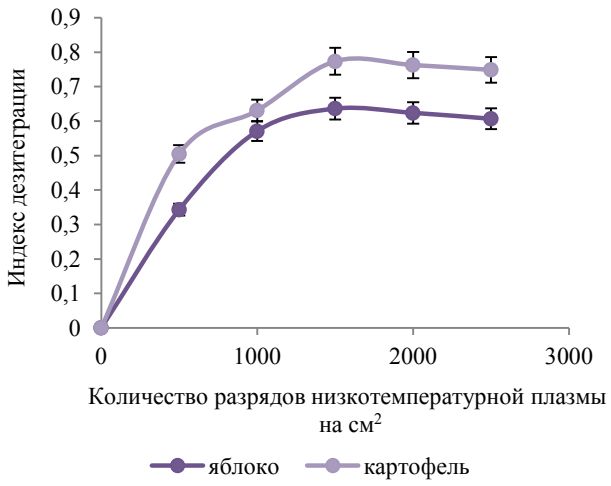



Рисунок 1. Зависимость индекса дезинтеграции от плотности количества разрядов низкотемпературной плазмы на 1 см$^2$

Figure 1. Effect of the density of low-temperature plasma discharges per 1 cm$^2$ on the disintegration index

Полученные данные индекса $Z$ (рис. 1) были использованы для выбора необходимых значений удельных энергий для достижения трех различных уровней $Z$. Таким образом, у картофеля и яблока были выбраны три уровня индекса $Z$ (0,3, 0,45 и 0,6) для дальнейшего анализа факторов управления процессом сушки. Данные уровни были выбраны для удобства анализа с учетом достигнутого максимального значения индекса $Z$ = 0,6 для яблока. Картофель обрабатывали при удельных энергозатратах 0,5, 1,2 и 1,8 кДж/кг, яблоко – при 0,35, 1 и 1,8 кДж/кг.

***Экспериментальные результаты сушки.*** Кривые сушки образцов картофеля и яблока с наличием обработки низкотемпературной плазмой и без представлены на рисунке 2. Кривые свидетествуют о том, что процесс сушки протекает в условиях доминирующего дифузионного переноса. Предварительная обработка низкотемпературной плазмой позволила снизить длительность сушки до достижения $M_t$ = 0,1. При удельной энергии 1,8 кДж/кг длительность сушки удалось снизить на 25 и 28 % для картофеля и яблока соответсвенно. В опубликованных ранее работах сообщалось, что энергетические затраты на обработку составляют менее 1 % от общих энергетических затрат процесса сушки [15, 16]. Качественные характеристики продукции сохраняются на высоком уровне.

***Численное моделирование.*** Рассчитанный потенциал влажности с использованием математического аппарата для образцов необработанного картофеля и яблока показан на рисунке 3. Численные результаты прогнозируемого потенциала влажности сравнивались с экспериментальными данными через уравнение (12). Отклонения расчетной влажности от соответствующих экспериментальных данных показаны на рисунке 3. Прогнозируемое значение потенциала влажности коррелирует с экспериментальными результатами для всех видов образцов. Относительное отклонение по потенциалу влажности составило менее 3 % для всех рассчетных точек.

Для образцов, предварительно обработанных низкотемпературной плазмой при различной интенсивности обработки, применялась та же процедура численного моделирования, что и для необработанных образцов. Диапазон отклонений для всех проанализированных данных составлял от 1,2 до 4 %. Это подтверждает целесообразность использования модели Лыкова в качестве математического инструмента для прогнозирования кривых объектов сушки при постоянной температуре.

Определенный с помощью математического аппарата потенциал влажности для растительных материалов (рис. 3) был использован для нахождения заданных значений кинетических коэффициентов из уравнения (10). Аргумент матрицы $K$ на основе входных данных таблицы 1 для образцов картофеля и яблока после процедуры минимизации отклонения был определен как:

$$K_{\text{карт}} = \begin{bmatrix} K_{11} & K_{12} \\ K_{21} & K_{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 22.3 & 86.9 \\ 86.9 & 342.1 \end{bmatrix}$$

$$K_{\text{ябл}} = \begin{bmatrix} 51.4 & 201.1 \\ 201.1 & 791.1 \end{bmatrix} \qquad (13)$$

Зависимость величины $Z$ от кинетического коэффициента $K$ представлена на рисунке 4.

Первичный анализ полученных зависимостей кинетических коэффициентов от индекса $Z$ демонстрирует растущий тренд. Величина коэффициента $K_{12}$ демонстрирует рост с увеличением интенсивности обработки. Это можно объяснить корреляцией между коэффициентом диффузии $D$ и удельной влагоемкостью $c_m$. Основные кинетические коэффициенты $K_{11}$ и $K_{22}$ демонстрируют схожее поведение для картофеля и яблока, обработанных низкотемпературной плазмой. В работе [21] было отмечено, что параметры $\epsilon$, $D$ и $c_m$ оказывают наибольшее влияние на эффективность процесса сушки (массообмена). Большие значения параметров $\epsilon$ и $D$ и малые значения $c_m$ позволяют интенсифицировать процесс сушки без использования высоких температур.

Для решения задачи управления сушкой было принято условие, что значения других кинетических коэффициентов из уравнения (12) являются постоянными в рассматриваемом диапазоне. Параметр $D$ влияет на кинетические коэффициенты $K_{11}$, $K_{12}$, $K_{21}$ и $K_{22}$, параметр $\epsilon$ – на $K_{11}$ и $K_{12}$, параметр $c_m$ – на $K_{21}$ и $K_{22}$.

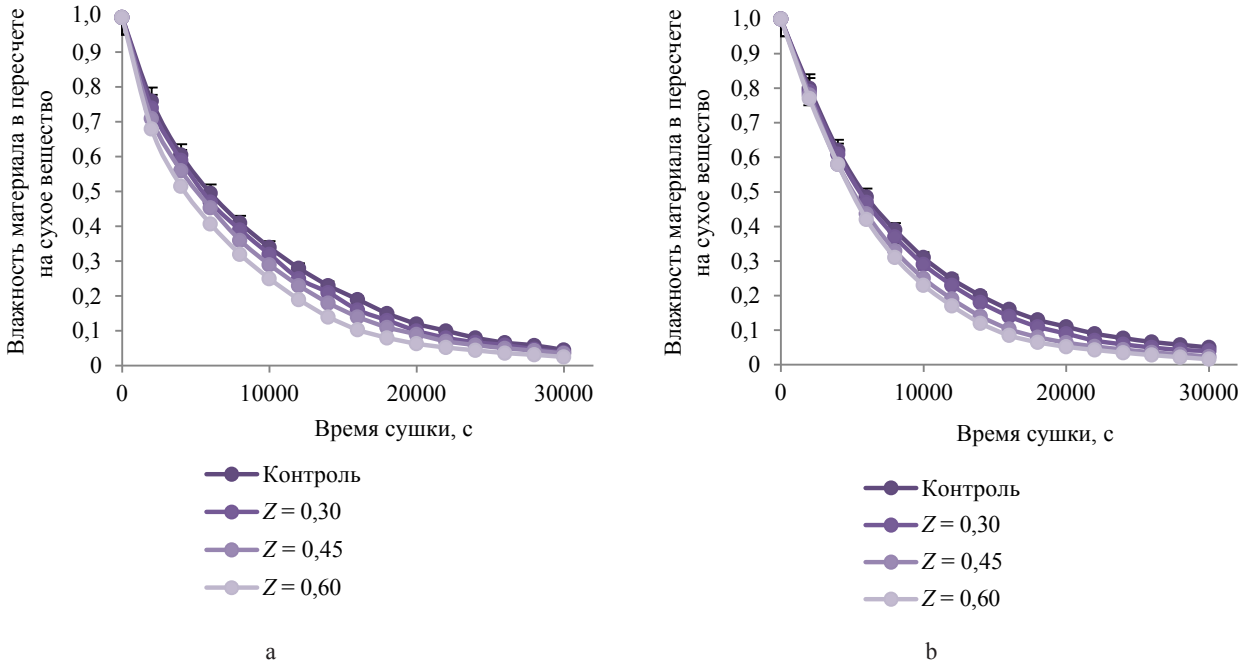



Рисунок 2. Кривые сушки картофеля (a) и яблока (b) при различных уровнях индекса дезинтеграции клеток

Figure 2. Drying curves for potatoes (a) and apples (b) at cell disintegration indexes

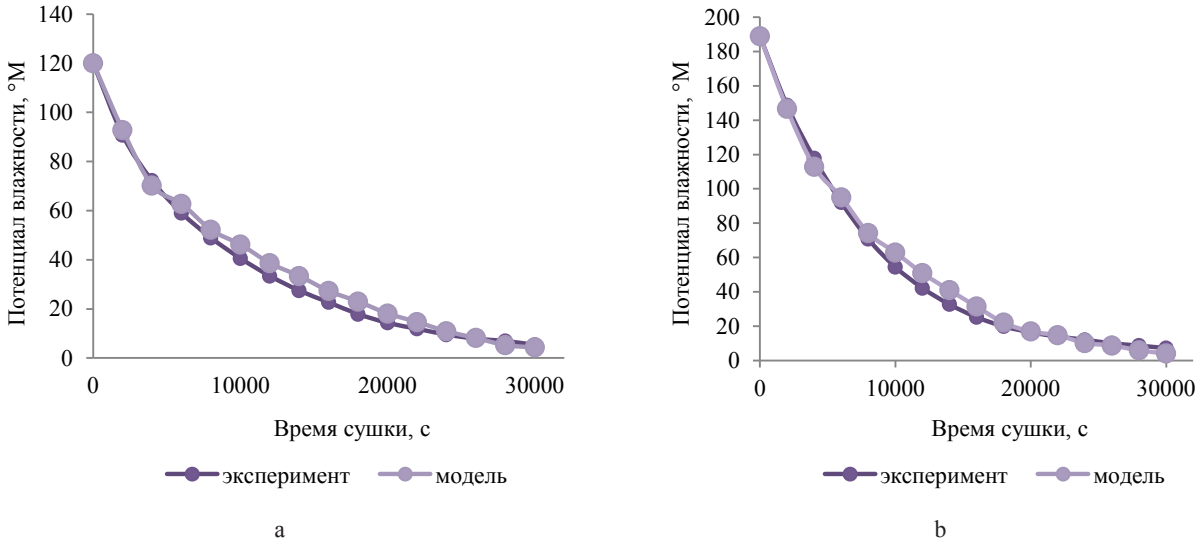



Рисунок 3. Сравнение данных процесса сушки эксперимента с моделью для контрольных образцов картофеля (a) и яблока (b)

Figure 3. Drying model for potatoes (a) and apples (b): experiment vs. control

Таким образом, для анализа влияния обработки низкотемпературной плазмой на процесс сушки необходимо определить взаимосвязь между основными кинетическими коэффициентами и индексом дезинтеграции. Как видно из уравнения (12), коэффициент диффузии присутствует в каждом кинетическом коэффициенте. В соответствии с работами по предварительной электрофизической обработке при более простой оценке основной акцент направлен на изменение коэффициента диффузии. Примем в данной работе аналогичную гипотезу и свяжем коэффициент диффузии с индексом

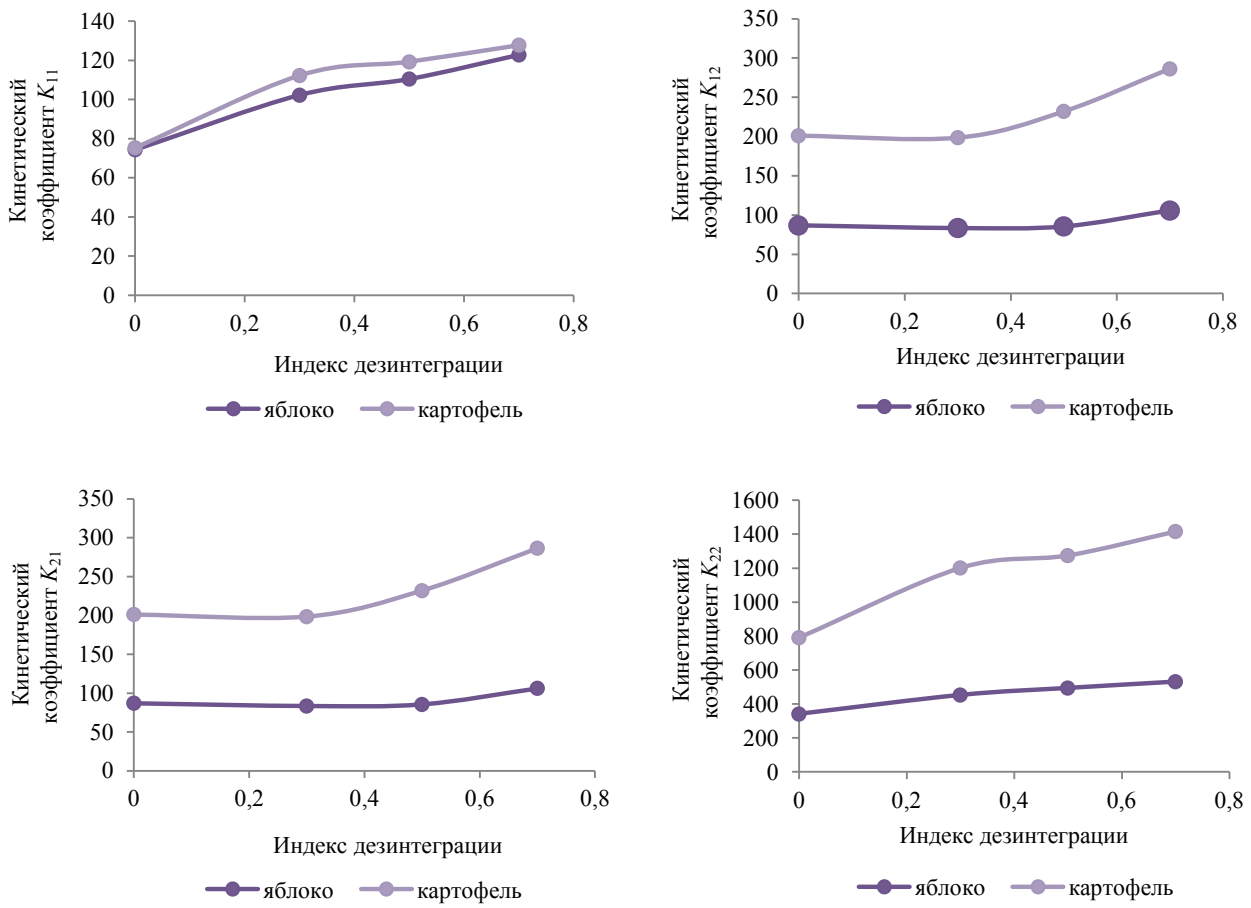



Рисунок 4. Зависимости кинетических коэффициентов от величины индекса дезинтеграции *Z* для картофеля и яблока

Figure 4. Effect of disintegration index *Z* on the kinetic coefficients: potatoes and apples

дезинтеграции через выражение и введем упрощенную запись $Sh = 1 + Z$:

$$K_{обр} = (1+Z)\cdot K_0 = Sh\cdot K_0 \qquad (14)$$

Индексы «обр» и «0» в уравнении (14) означают обработанный и начальный. Проведенная проверка изменения кинетических коэффициентов из уравнения (13), в соответствии с полученным экспериментальным путем индексом дезинтеграции, показала высокую схожесть $R^2$ = 0,985. Следовательно, коэффициент *Sh* можно внедрить в систему дифференциальных уравнений при использовании электрофизических методов предварительной обработки материалов, таких как обработка импульсным электрическим полем или низкотемпературной плазмой. Однако дальнейшие более детальные и с расширенным кругом объектом исследования необходимы для подтверждения правомерности использования данного коэффициента для управления процессом сушки растительных материалов.

**Выводы**

Разработанный математический аппарат и программный код на основе дифференциальных уравнений термодинамических потенциалов влажности и температуры Лыкова способны описывать экспериментальные кривые сушки предварительно обработанных низкотемпературной плазмой растительных материалов. Предложенные модель и методология, с их высокой точностью (невязка менее 4 %), могут быть использованы для анализа, моделирования и управления процессом сушки пищевых и сельскохозяйственных продуктов. Проведенная оценка эффективности разрушения анатомической целостности растительных клеток посредством измерения индекса дезинтеграции коррелирует с кинетическими коэффициентами модели Лыкова. Эти выражения позволяют прогнозировать ход переноса потенциала влажности и управлять процессом сушки предварительно обработанных материалов с помощью низкотемпературной плазмы при различной интенсивности обработки.

**Конфликт интересов**

Автор заявляет, что материалы статьи не были опубликованы ранее и не отправлены в другие журналы. В работе не проводились испытания над животными.

**Conflict of interest**

The author declares that this material has not already been published or submitted elsewhere. The experimental research involved no animal tests.

**References/Список литературы**

1. Bassey EJ, Cheng J-H, Sun D-W. Novel nonthermal and thermal pretreatments for enhancing drying performance and improving quality of fruits and vegetables. Trends in Food Science and Technology. 2021;112:137–148. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.045

2. Kumar M, Dahuja A, Tiwari S, Punia S, Tak Y, Amarowicz R, *et al.* Recent trends in extraction of plant bioactives using green technologies: A review. Food Chemistry. 2021;353. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129431

3. Lammerskitten A, Shorstkii I, Parniakov O, Mykhailyk V, Toepfl S, Rybak K, *et al.* The effect of different methods of mango drying assisted by a pulsed electric field on chemical and physical properties. Journal of Food Processing and Preservation. 2020;44(12). https://doi.org/10.1111/jfpp.14973

4. Armenta S, Garrigues S, Esteve-Turrillas FA, de la Guardia M. Green extraction techniques in green analytical chemistry. TrAC – Trends in Analytical Chemistry. 2019;116:248–253. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.016

5. Fauster T, Schlossnikl D, Rath F, Ostermeier R, Teufel F, Toepfl S, *et al.* Impact of pulsed electric field (PEF) pretreatment on process performance of industrial French fries production. Journal of Food Engineering. 2018;235:16–22. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.023

6. Ostermeier R, Hill K, Dingis A, Töpfl S, Jäger H. Influence of pulsed electric field (PEF) and ultrasound treatment on the frying behavior and quality of potato chips. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2021;67. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102553

7. Arab Shirazi SH, Pedram Nia A, Saeidi Asl MR, Naghipour F, Tavakolipour H. Antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts of *Salvia leriifolia* L. and *Linum usitalissmum* L. subjected to a pulsed electric field. Foods and Raw Materials. 2020;8(1):186–195. https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-186-195

8. Vorobiev E, Lebovka N. Fundamentals of Electroporation, theory and mathematical models for simulation of PEE processing. In: Vorobiev E, Lebovka N, editors. Processing of foods and biomass feedstocks by pulsed electric energy. Cham: Springer; 2020. pp. 27–49. https://doi.org/10.1007/978-3-030-40917-3_2

9. Zipaev DV, Tulina AA, Kozhukhov AN. The use of capillary electrophoresis in the evaluation of food and beverages. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(1):82–87. (In Russ.). https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-1-82-87

10. Misra NN, Martynenko A, Chemat F, Paniwnyk L, Barba FJ, Jambrak AR. Thermodynamics, transport phenomena, and electrochemistry of external field-assisted nonthermal food technologies. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2018;58(11):1832–1863. https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1287660

11. Shorstkiy IA. Pulsed electric field treatment of biomaterials in preparation for drying. Krasnodar: Izdatel′skiy Dom-Yug; 2020. 172 p. (In Russ.). [Шорсткий И. А. Применение обработки импульсным электрическим полем биоматериалов при подготовке к сушке. Краснодар: Издательский Дом-Юг, 2020. 172 с.].

12. Bao T, Hao X, Shishir MRI, Karim N, Chen W. Cold plasma: An emerging pretreatment technology for the drying of jujube slices. Food Chemistry. 2021;337. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127783

13. Farias TRB, Rodrigues S, Fernandes FAN. Effect of dielectric barrier discharge plasma excitation frequency on the enzymatic activity, antioxidant capacity and phenolic content of apple cubes and apple juice. Food Research International. 2020;136. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109617

14. Karim N, Shishir MRI, Bao T, Chen W. Effect of cold plasma pretreated hot-air drying on the physicochemical characteristics, nutritional values and antioxidant activity of shiitake mushroom. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021;101(15):6271–6280. https://doi.org/10.1002/jsfa.11296

15. Shorstkii I. Application of cold filamentary microplasma pretreatment assisted by thermionic emission for potato drying. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020;66. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102540

16. Khudyakov D, Sosnin M, Shorstkii I, Okpala COR. Cold filamentary microplasma pretreatment combined with infrared dryer: Effects on drying efficiency and quality attributes of apple slices. Journal of Food Engineering. 2022;329. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111049

17. Shorstkii IA, Sosnin MD. Cell membranes of plant materials anatomical integrity changes under the influence of filamentary microplasma treatment assisted by thermionic emission. Advances in Applied Physics. 2021;9(3):235–244. (In Russ.). https://doi.org/10.51368/2307-4469-2021-9-3-235-244

18. Koukouch A, Bakhattar I, Asbik M, Idlimam A, Zeghmati B, Aharoune A. Analytical solution of coupled heat and mass transfer equations during convective drying of biomass: experimental validation. Heat and Mass Transfer. 2020;56(6):1971–1983. https://doi.org/10.1007/s00231-020-02817-w

19. Vargas-González S, Núñez-Gómez KS, López-Sánchez E, Tejero-Andrade JM, Ruiz-López II, García-Alvarado MA. Thermodynamic and mathematical analysis of modified Luikov's equations for simultaneous heat and mass transfer. International Communications in Heat and Mass Transfer. 2021;120. https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2020.105003

20. Lykov AV. Theory of Drying. Moscow: Ehnergiya; 1968. 472 p. (In Russ.). [Лыков А. В. Теория сушки. М.: Энергия, 1968. 472 с.].

21. Shorstkii IA, Kosachev VS, Koshevoi EP. Numerical modeling of the process of drying biomaterials after pulsed electric field treatment using a system of temperature, moisture, and pressure equations. Journal of Engineering Physics and Thermophysics. 2020;93(5):1285–1295. https://doi.org/10.1007/s10891-020-02233-1

22. Nikitina LM. Thermodynamic parameters and mass transfer coefficients in moist materials. Moscow: Energiya; 1968. 500 p. [Никитина Л. М. Термодинамические параметры и коэффициенты массопереноса во влажных материалах. М.: Энергия, 1968. 500 с.]

23. Krokida MK, Zogzas NP, Maroulis ZB. Heat transfer coefficient in food processing: Compilation of literature data. International Journal of Food Properties. 2002;5(2):435–450. https://doi.org/10.1081/JFP-120005796

24. Berk Z. Physical properties of food materials. In: Berk Z, editor. Food process engineering and technology. Academic Press; 2009. pp. 7–25. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373660-4.00001-6

25. Mohsenin NN. Thermal properties of foods and agricultural materials. New York: Gordon and Breach; 1980. 408 p.

26. Ostermeier R, Giersemehl P, Siemer C, Töpfl S, Jäger H. Influence of pulsed electric field (PEF) pre-treatment on the convective drying kinetics of onions. Journal of Food Engineering. 2018;237:110–117. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.010

27. Liu C, Grimi N, Lebovka N, Vorobiev E. Effects of pulsed electric fields treatment on vacuum drying of potato tissue. LWT. 2018;95:289–294. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.090

28. Lammerskitten A, Mykhailyk V, Wiktor A, Toepfl S, Nowacka M, Bialik M, *et al.* Impact of pulsed electric fields on physical properties of freeze-dried apple tissue. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2019;57. https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2019.102211

ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)
https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3
https://fptt.ru/

## СОДЕРЖАНИЕ

*Магомедов Г. О., Хвостов А. А., Журавлев А. А., Магомедов М. Г.,Таратухин А. С., Плотникова И. В.* Формирование структуры мякиша сбивного бездрожжевого хлеба при интенсивной СВЧ-конвективной выпечке ..... 426

*Гурский И. А., Творогова А. А.* Влияние концентратов сывороточных белков на технологические и органолептические показатели качества мороженого ..... 439

*Лазарева О. И., Сытов А. М.* Оценка биологической безопасности антарктического криля *Euphausia superba* (Dana, 1852) из вод Атлантического океана ..... 449

*Дмитриева А. И., Фасхутдинова Е. Р., Дроздова М. Ю., Кутузов С. С., Проскурякова Л. А.* Филогенетическое разнообразие микроорганизмов источника Абаканский Аржан – потенциальных продуцентов микробной энергии ..... 458

*Грибкова И. Н., Харламова Л. Н., Севостьянова Е. М., Лазарева И. В., Захаров М. А., Борисенко О. А.* Анализ возможностей извлечения органических соединений пивной дробины различными способами ..... 469

*Гниломедова Н. В., Аникина Н. С., Весютова А. В., Олейникова В. А., Гавриш В. М., Чайка Т. В.* Идентификация кристаллов тартратных солей в составе осадка вин ..... 490

*Зайцева Л. В., Рубан Н. В., Цыганова Т. Б., Мазукбзова Э. В.* Разработка обогащенных кондитерских кремов на растительных маслах с модификацией углеводного профиля ..... 500

*Маслов А. В., Мингалеева Э. Ш., Ямашев Т. А., Шибаева Н. Ф.* Изучение влияния комплексной растительной добавки на свойства мучных смесей и пшеничного теста ..... 511

*Рябова А. Е., Толмачев В. А., Галстян А. Г.* Фазовые переходы сгущенного молока с сахаром в расширенных температурных диапазонах хранения ..... 527

*Урубков С. А., Королёв А. А., Смирнов С. О.* Разработка рецептур каш и крупяных продуктов для диетического профилактического питания ..... 536

*Ворошилин Р. А., Курбанова М. Г., Юстратов В. П., Ларичев Т. А.* Получение и идентификация биоактивных пептидов из вторичных сырьевых ресурсов переработки птицы ..... 546

*Элеманова Р. Ш.* Характеристика сезонных изменений белкового состава молока хайнака ..... 555

*Чудецкий А. И., Родин С. А., Зарубина Л. В., Кузнецова И. Б., Тяк Г. В.* Микроклональное размножение и особенности адаптации к условиям *ex vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium* ..... 570

*Федорова А. М., Дышлюк Л. С., Милентьева И. С., Лосева А. И.,Неверова О. А., Мохаммед Э. А. Хелеф* Геропротекторная активность транс-коричной кислоты, выделенной из шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*)..... 583

*Мельникова Е. И., Станиславская Е. Б., Богданова Е. В., Шабалова Е. Д.* Особенности получения и применения мицеллярного казеина в технологии молокоемких белковых продуктов ..... 592

*Чусова А. Е., Жаркова И. М., Коркина А. В., Пронькина А. А., Хиценко В. П.* Алкогольные напитки с томатными продуктами ..... 602

*Шорсткий И. А.* Сушка растительных материалов, обработанных низкотемпературной плазмой ..... 613

## CONTENTS

*Magomedov Gazibeg O., Khvostov Anatoly A., Zhuravlev Aleksey A., Magomedov Magomed G., Taratukhin Aleksei S., Plotnikova Inessa V.* Formation of Whipped Yeast-Free Bread Crumb with Intensive Microwave Convective Baking. Food Processing ..... 427

*Gurskiy Igor A., Tvorogova Antonina A.* The Effect of Whey Protein Concentrates on Technological and Sensory Quality Indicators of Ice Cream ..... 440

*Lazareva Olga I., Sytov Aleksandr M.* Biological Safety Assessment of Antarctic Krill *Euphausia superba* (Dana, 1852) from theAtlantic Ocean ..... 450

*Dmitrieva Anastasiya I., Faskhutdinova Elizaveta R., Drozdova Margarita Yu., Kutuzov Sergei S., Proskuryakova Larisa A.* Phylogenetic Diversity of Microorganisms from the Abakan Arzhan Thermal Spring: Potential Producers of Microbial Energy ..... 459

*Gribkova Irina N., Kharlamova Larisa N., Sevostianova Elena M., Lazareva Irina V., Zakharov Maxim A., Borisenko Olga A.* Extracting Organic Compounds from Brewer's Spent Grain by Various Methods ..... 470

*Gnilomedova Nonna V., Anikina Nadezhda S., Vesyutova Antonina V., Oleinikova Veronika A., Gavrish Vladimir M., Chayka Tatyana V.* Identifying Tartrate Salt Crystals in Wine Sediment..... 491

*Zaytseva Larisa V., Ruban Natalia V., Tsyganova Tatiana B., Mazukabzova Ella V.* Fortified Confectionery Creams on Vegetable Oils with a Modified Carbohydrate Profile .... 501

*Maslov Alexander V., Mingaleeva Zamira Sh., Yamashev Timur A., Shibaeva Nailya F.* Effect of a Complex Plant Additive on Flour Mixes and Wheat Dough ..... 512

*Ryabova Anastasia E., Tolmachev Vladislav A., Galstyan Aram G.* Phase Transitions of Sweetened Condensed Milk in Extended Storage Temperature Ranges ..... 526

*Urubkov Sergey A., Korolev Aleksei A., Smirnov Stanislav O.* Cereals and Cereal Products for Dietary Preventive Nutrition ..... 537

*Voroshilin Roman A., Kurbanova Marina G., Yustratov Vladimir P., Larichev Timothy A.* Identifying Bioactive Peptides from Poultry By-Products ..... 545

*Elemanova Rimma Sh.* Seasonal Changes in the Protein Composition of Khainak Milk ..... 556

*Chudetsky Anton I., Rodin Sergey A., Zarubina Lilia V, Kuznetsova Irina B., Tyak Galina V.* Clonal Micropropagation and Peculiarities of Adaptation to e*x vitro* Conditions of Forest Berry Plants of the Genus *Vaccinium* ..... 571

*Fedorova Anastasiya M., Dyshlyuk Lyubov S., Milentyeva Irina S., Loseva Anna I., Neverova Olga A., Khelef Mohammed El Amine* Geroprotective activity of trans-cinnamic acid isolated from the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*) ..... 582

*Melnikova Elena I., Stanislavskaya Ekaterina B., Bogdanova Ekaterina V., Shabalova Ekaterina D.* Micellar Casein Production and Application in Dairy Protein Industry ..... 593

*Chusova Alla E., Zharkova Irina M., Korkina Angelina V., Pronkina Alena A., Khitsenko Viktoria P.* Alcoholic Drinks with Tomato Products ..... 603

*Shorstkii Ivan A.* Cold Plasma Pretreatment in Plant Material Drying ..... 614