

Том 54, № 3, 2024
Vol. 54, № 3, 2024

ISSN 2074-9414
ISSN 2313-1748

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Food Processing:
Techniques and Technology



1 Кемеровский
государственный
университет
Объединяем
знания и людей

Национальный, рецензируемый научный журнал, посвященный вопросам пищевой промышленности и смежных отраслей. Журнал включен в SCOPUS, RSCI, Перечень ВАК (категория К1).

Миссия: создание, агрегация, поддержка и распространение научно-образовательного контента в области пищевой промышленности, объединение усилий различных категорий исследователей, вузовской и научной

интеллектуальной, 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, краткие научные сообщения по направлениям: пищевые системы; биотехнология; технологии пищевых производств; санитария и гигиена; экология; биобезопасность; частная зоотехния; электро-технологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса. Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте <https://fppt.ru>

Главный редактор:

А.Ю. Просеков, член-корр. РАН, д-р техн. наук, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия.

Зам. главного редактора:

А.Н. Петров, академик РАН, д-р техн. наук, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

О.О. Бабич, д-р техн. наук, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия.

Редакционная коллегия:

Е.В. Абакумов, профессор РАН, д-р биол. наук, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

И.В. Алтухов, д-р техн. наук, ООО «Промышленные технологические инновации», Иркутск, Россия;

В.В. Бахарев, д-р хим. наук, Самарский государственный технический университет, Самара, Россия;

С.М. Бычкова, д-р экон. наук, Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Пушкин, Россия;

А.Г. Галстян, академик РАН, д-р техн. наук, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия;

И.А. Ганиева, д-р экон. наук, АНО «Научно-образовательный центр «Кузбасс», Кемерово, Россия;

И.Ф. Горлов, академик РАН, д-р с.-х. наук, Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции, Волгоград, Россия;

Г.М. Гриценко, д-р экон. наук, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Россия;

Н.И. Дунченко, д-р техн. наук, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

И.А. Евдокимов, член-корр. РАН, д-р техн. наук, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия;

А.В. Заушинцева, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

Ю. Йианг, Ph. D., Колледж пищевых наук Северо-Восточного сельскохозяйственного университета, Харбин, Китай;

А.П. Каледин, д-р биол. наук, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

А.Б. Капранова, д-р физ.-мат. наук, Ярославский государственный технический университет, Ярославль, Россия;

Н.И. Кашеваров, академик РАН, д-р с.-х. наук, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Россия;

В.Г. Лобанов, д-р техн. наук, Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия;

Г.О. Магомедов, д-р техн. наук, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

О.А. Неверова, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

С.Л. Тихонов, д-р техн. наук, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия;

О.А. Фролова, д-р экон. наук, Нижегородский государственный инженерно-экономический университет, Княгинино, Россия;

Г.Ш. Хайдаров, канд. техн. наук, Узбекско-Финский педагогический институт, Самарканд, Узбекистан;

В.Н. Хмелев, д-р техн. наук, Бийский технологический институт Алтайского государственного технического университета, Бийск, Россия;

Ю.С. Хотимченко, д-р биол. наук, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия;

С.В. Шахов, д-р техн. наук, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия;

И.В. Юдаев, д-р техн. наук, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0.

Выпускающий редактор: А.И. Лосева

Ответственный за выпуск: А.А. Кирыжова

Литературные редакторы: Ф.И. Захарина,

С.В. Плисенко

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: fppt98@gmail.com

Адрес типографии: Кемеровский государственный университет, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, пр. Советский, 73

Дата выхода в свет 02.10.24

Усл. п. л. 24,76. Тираж 500 экз.

Цена свободная. Выходит 4 раза в год

Подписной индекс по интернет-каталогу агентства «Книга-Сервис» – 41672

Свидетельство о регистрации СМИ
ПИ № ФС77-72313 выдано Роскомнадзор

© Кемеровский государственный университет, 2024. © Авторы, 2024

Food Processing: Techniques and Technology is an open access, doubleblind peer-reviewed quarterly journal that encompasses a wide range in the food industry and agricultural science in Russia and neighboring regions.

The Journal is accepted by SCOPUS and Russian Science Citation Index. Our open access policy follows the Budapest Open Access Initiative (BOAI).

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.

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

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

Editor-in-Chief

Alexander Yu. Prosekov, Corresponding Member of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), Dr. Sci. (Biol.), Kemerovo State University, Kemerovo, Russia.

Deputy Editor-in-Chief

Andrey N. Petrov, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

Olga O. Babich, Dr. Sci. (Eng.), Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia.

Editorial Board Member

Evgeny V. Abakumov, Professor of the RAS, Dr. Sci. (Biol.), St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia;

Igor V. Altukhov, Dr. Sci. (Eng.), Industrial Technological Innovations LLC, Irkutsk, Russia;

Vladimir V. Bakharev, Dr. Sci. (Chem.), Samara State Technical University, Samara, Russia;

Svetlana M. Bychkova, Dr. Sci. (Econ.), St. Petersburg State Agrarian University, Pushkin, Russia;

Aram G. Galstyan, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), All-Russia Dairy Research Institute, Moscow, Russia;

Irina A. Ganieeva, Dr. Sci. (Econ.), Research and Academic Centre «Kuzbass», Kemerovo, Russia;

Ivan F. Gorlov, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Agr.), Povolzhsky Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russia;

Galina M. Gritsenko, Dr. Sci. (Econ.), Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia;

Nina I. Dunchenko, Dr. Sci. (Eng.), Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

Ivan A. Evdokimov, Corresponding Member of the RAS, Dr. Sci. (Eng.), North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia;

Alexandra V. Zaushintsena, Dr. Sci. (Biol.), Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

Yujun Jiang, Ph.D., College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin, China;

Anatoly P. Kaledin, Dr. Sci. (Biol.), Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

Anna B. Kapranova, Dr. Sci. (Econ.), Yaroslavl State Technical University, Yaroslavl, Russia;

Nikolay I. Kashevarov, Academician of the RAS, Dr. Sci. (Agr.), Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia;

Vladimir G. Lobanov, Dr. Sci. (Eng.), Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia;

Gazibeg O. Magomedov, Dr. Sci. (Eng.), Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

Olga A. Neverova, Dr. Sci. (Biol.), Kemerovo State University, Kemerovo, Russia;

Sergei L. Tikhonov, Dr. Sci. (Eng.), Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia;

Olga A. Frolova, Dr. Sci. (Econ.), Nizhni Novgorod Engineering-economic State University, Knyaginino, Russia;

Gayrat Sh. Haydarov, PhD (Eng.), Uzbek-Finnish Pedagogical Institute, Samarqand, Uzbekistan;

Vladimir N. Khmelev, Dr. Sci. (Eng.), Biysk Technological Institute, Altai State Technical University, Biysk, Russia;

Yuri S. Khotimchenko, Dr. Sci. (Biol.), Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia;

Sergey V. Shakhov, Dr. Sci. (Eng.), Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia;

Igor V. Yudaev, Dr. Sci. (Eng.), Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia.

All articles are licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

Executive Editor: A.I. Loseva

Publishing Editor: A.A. Kiryakova

Editors and Proofreaders: F.I. Zakharina, S.V. Plisenko

English Editor: N.V. Rabkina

Computer layout design: E.V. Volkova

Website 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 02, 2024

Printed sheet 24.76 conventional printed
Circulation 500 cop.

Open price. Issued 4 times a year

Full-texts are available online at fptt.ru/en, elibrary.ru, e.lanbook.com, cyberleninka.ru

© 2024, Kemerovo State University

© 2024, Authors

Колонка главного редактора
<https://fptt.ru>

Российский агропромышленный комплекс последние годы демонстрирует стабильный рост производства и широкое внедрение новых технологий. Отечественные производители обеспечивают население страны большим ассортиментом всех основных продуктов питания. По многим ключевым направлениям АПК России занимает лидерские позиции на мировом рынке и укрепляет свою роль в обеспечении глобальной продовольственной безопасности.

В майском указе Президента РФ перед аграрным сектором страны сформулированы задачи по увеличению объемов производства и завоевыванию внешних рынков. К 2030 г. необходимо нарастить производство продовольствия на четверть, а экспорт – в полтора раза. В течение следующих шести лет необходимо сосредоточиться на достижении технологического суверенитета АПК.

В данных условиях обеспечение аграрного сектора квалифицированными кадрами становится первоочередной задачей. Недостаток рабочей силы представляет собой один из ключевых факторов, сдерживающих рост производства. По информации Минсельхоза, в аграрной сфере трудится около 6 млн человек. Также отмечается, что в период с 2023 по 2024 год численность работников на российских предприятиях АПК сократилась примерно на 200 тыс. человек, что составляет 3,2 %. Согласно статистическим данным ИРПЭ, нехватка персонала варьируется от 5 до 10 % для крупных сельскохозяйственных предприятий и превышает 20 % для малых компаний.

В России предпринимаются значительные усилия для решения проблемы нехватки кадров в АПК. К числу ключевых мероприятий относятся: сотрудничество с образовательными учреждениями, включая целевое обучение студентов, а также развитие программ стажировок и учебно-производственной практики; организация курсов обучения и переподготовки специалистов за счет работодателей; увеличение уровня заработной платы.

Минсельхоз России реализует программы, направленные на поддержку сельских территорий, и проекты по ранней профориентации школьников, с целью повышения их интереса к аграрному образованию. В учебных заведениях открываются специализированные агроклассы. Министерство предлагает новую модель аграрного образования, основанную на взаимодействии «ВУЗ – школа – бизнес». В соответствии с планами министерства, в такой связке должна осуществляться подготовка аграрных специалистов.

Минобрнауки России реализует проект «Передовые инженерные школы», который направлен на подготовку специалистов для высокопроизводительных секторов экономики, ориентированных на экспорт. Вузы, отобранные в результате конкурса, совместно с технологическими компаниями создают площадки для совместных разработок и обучения студентов.

Ректор, главный редактор,
член-корр. РАН, профессор,
Заслуженный работник высшей школы РФ,
Лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники

Строгие требования к образованию и профессиональной подготовке, необходимые для работы на современных предприятиях агропромышленного комплекса, становятся одними из ключевых факторов в преодолении актуальных вызовов. В этом контексте особую роль играют педагоги.

На протяжении многих лет подготовкой высококвалифицированных научных кадров для АПК, и в первую очередь для предприятий пищевой промышленности, занимается доктор технических наук, профессор, Почетный работник высшего профессионального образования РФ Нина Ивановна Дунченко. Она успешно сочетает административную, общественную, педагогическую и научную деятельность.

В своей профессиональной деятельности профессор Н. И. Дунченко следует концепции «обучение в течение всей жизни» (Life-Long-Learning). Ее вклад в развитие системы высшего образования в России трудно переоценить. Нина Ивановна занимала должности заместителя председателя учебно-методического объединения вузов страны по подготовке специалистов в области производства продуктов питания животного происхождения, первого проректора по учебной работе МГУ прикладной биотехнологии, а также проректора по учебной работе, заведующей кафедрой и деканом технологического факультета РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева. Под её руководством разработаны государственные образовательные стандарты высшего профессионального образования первого, второго и третьего поколений, открыты новые специальности и направления подготовки бакалавров и магистров. Нина Ивановна участвует в общественной жизни, является членом диссертационных, ученых и редакционных советов и профильных технических комитетов.

Под ее руководством и при непосредственном участии проводятся научные исследования в рамках Федеральных научных программ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Межотраслевых и Межвузовских научно-технических программ, являющихся приоритетными для науки и техники РФ и грантов.

Профессор Н. И. Дунченко основала научную школу в области совершенствования процессов производства конкурентоспособных пищевых продуктов функционального и специального назначения. Под её научным руководством подготавливаются и успешно защищаются магистерские, кандидатские и докторские диссертации.

27 октября доктор технических наук, профессор Нина Ивановна Дунченко отмечает юбилей – 75-лет! Редакция журнала сердечно поздравляет глубокоуважаемую Нину Ивановну с этой знаменательной датой. Желаем крепкого здоровья и неиссякаемой жизненной энергии, душевного спокойствия и тепла! Пусть рядом всегда будут родные, друзья и ученики!

А. Ю. Просеков 

Международный симпозиум, посвященный 90-летию со дня рождения Льва Александровича Остроумова

С 20 по 21 сентября 2024 г. в Кемеровском государственном университете прошел III Международный симпозиум «Пищевые технологии». В этом году симпозиум был посвящен 90-летию со дня рождения доктора технических наук, профессора, заслуженного деятеля науки и техники РФ, основателя научной школы Льва Александровича Остроумова – выдающегося ученого и учителя.

Пленарное заседание состоялось 20 сентября на базе Технологического института пищевой промышленности КемГУ. На нем присутствовали друзья, коллеги, ученики и продолжатели дела ученого Льва Александровича Остроумова, а также студенты направления «Продукты питания животного происхождения». В ходе заседания член-корреспондент РАН, ректор КемГУ Александр Юрьевич Просеков рассказал о своем учителе и о его роли в формировании человеческого и профессионального потенциала Кузбасса и России. Научная и педагогическая деятельность Льва Александровича была сосредоточена на развитии техники и технологии молочной отрасли. На протяжении многих лет он возглавлял кафедру технологии молока и молочных продуктов Кемеровского технологического института пищевой промышленности. Профессор Л. А. Остроумов оказал большую практическую помощь в развитии крупного сыроделия страны. По его инициативе был открыт первый в Сибири диссертационный совет по специальности 05.18.04 «Технология мясных, молочных, рыбных продуктов и холодильных производств», который выпустил несколько сотен кандидатов и докторов наук по пищевым и инженерным направлениям. Под непосредственным руководством Льва Александровича защищены 21 докторская и 166 кандидатских диссертаций.

О вкладе профессора Л. А. Остроумова в развитие пищевых технологий не только в России, но и в Казахстане рассказал доктор технических наук, член-корреспондент Национальной академии естественных наук Республики Казахстан Бердан Абдазимович Рскелдиев.

В ходе пленарного заседания участники обсудили вопросы производства молочных продуктов. Доктор технических наук, профессор Нина Ивановна Дунченко представила доклад, посвященный теории и практике направленного регулирования показателей качества структурированных молочных изделий. Доктор технических наук Галина Михайловна Свириденко осветила



актуальные вопросы производства и использования бактериальных заквасок в сыроделии России. Доклад о фундаментальных и прикладных аспектах гибридных технологий получения деминерализованной молочной сыворотки представил доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН Иван Алексеевич Евдокимов. Доктор технических наук, профессор Татьяна Николаевна Садовая рассказала о производстве сыров с плесневелой культурой на Кубани. Доктор химических наук, профессор Александр Леонидович Верещагин посвятил доклад вопросу применения пальмового масла для фальсификации молочных продуктов.

Двухдневная программа Симпозиума оказалась насыщенной и интересной. В работе семи секций Симпозиума приняли участие более 170 человек из 12 субъектов Российской Федерации, а также Казахстана, Республики Беларусь и Китая. Российские регионы были представлены участниками из Москвы и Московской области, Санкт-Петербурга, Новосибирской, Томской, Свердловской и Саратовской областей, Алтайского и Ставропольского краев, республик Бурятия и Саха (Якутия), а также Кемеровской области – Кузбасса.

На протяжении двух дней представители научной общественности и бизнеса обсуждали теоретические и прикладные аспекты биотехнологии и пищевой химии, фундаментальные и прикладные аспекты переработки растительного сырья, инновационные технологии переработки сырья животного происхождения, достижения индустрии питания, низкотемпературные системы и мехатронику, проблемы экологии, безопасности и менеджмента качества на современных производствах, промышленный дизайн в технологических системах.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2518>
<https://elibrary.ru/QHPVCO>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Применение методики среднеинтегральной оценки вододерживающей способности сахаросодержащих продуктов в кондитерском производстве



В. М. Арапов¹, И. В. Плотникова^{1,*}, Д. А. Казарцев²,
К. К. Полянский³, Г. О. Магомедов¹, М. В. Копылов¹,
В. Е. Плотников¹

¹ Воронежский государственный университет инженерных технологий^{ROR}, Воронеж, Россия

² Московский государственный университет технологий и управления им. К. Г. Разумовского (Первый казачий университет)^{ROR}, Москва, Россия

³ Воронежский филиал Российского экономического университета им. Г. В. Плеханова, Воронеж, Россия

Поступила в редакцию: 09.01.2024

Принята после рецензирования: 16.04.2024

Принята к публикации: 07.05.2024

*И. В. Плотникова: plotnikova_2506@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-5959-6652>

В. М. Арапов: <https://orcid.org/0009-0007-9611-5142>

Д. А. Казарцев: <https://orcid.org/0000-0001-6597-2327>

К. К. Полянский: <https://orcid.org/0000-0002-8817-1466>

Г. О. Магомедов: <https://orcid.org/0000-0002-7201-8387>

М. В. Копылов: <https://orcid.org/0000-0003-2678-2613>

В. Е. Плотников: <https://orcid.org/0000-0001-6707-8337>

© В. М. Арапов, И. В. Плотникова, Д. А. Казарцев, К. К. Полянский,
Г. О. Магомедов, М. В. Копылов, В. Е. Плотников, 2024



Аннотация.

При разработке пищевых продуктов, в том числе и кондитерских изделий, является важным сохранение их свежести в течение всего срока годности. Поэтому изучение влагосвязывающей способности продуктов является актуальным направлением. Цель работы – исследование среднеинтегральной влагосвязывающей способности сахаросодержащих продуктов для дальнейшего их использования в рецептуре кондитерских изделий.

Объекты исследования – высококонцентрированные сиропы (сахарный, сахаро-паточный, глюкозный, фруктозный, глюкозно-фруктозный, изомальтный) с влажностью 17,2–19,8 % и сахаристые гидролизаты крахмала (патока крахмальная различных видов и глюкозно-фруктозный сироп) с влажностью 17,0–22,4 %. Для оценки влагосвязывающей способности веществ применяли методику, разработанную проф. В. М. Араповым.

Результаты определения среднеинтегральной прочности связи влаги в продуктах показали, что чем выше общий относительный эквивалент свободной воды – $\omega_{06}(U_1, U_2)$, тем выше влагосвязывающая способность продукта. Чем ниже величина показателя $\omega_{06}(U_1, U_2)$, тем выше показатель активности воды – A_w . В сахарном сиропе ($A_w = 0,830$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 13$), сахаро-паточном сиропе ($A_w = 0,701$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 14,5$), патоке низкосахаренной ($A_w = 0,745$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 16,5$), патоке карамельной кислотной ($A_w = 0,727$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 27,5$), изомальтном сиропе ($A_w = 0,623$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 44,5$), патоке высокосахаренной ($A_w = 0,680$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 46$), глюкозном сиропе ($A_w = 0,548$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 48,5$), глюкозно-фруктозном сиропе ($A_w = 0,583$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 53$), фруктозном сиропе ($A_w = 0,499$, $\omega_{06}(U_1, U_2) = 61,5$). Значения показателя $\omega_{06}(U_1, U_2)$ фруктозного сиропа в 4,7...1,2 раза выше, чем в остальных продуктах.

Методика, предложенная проф. В. М. Араповым, позволяет не только качественно, но и количественно оценить состояние влаги в пищевом продукте. Для предотвращения процесса намокания кондитерских изделий лучше использовать сахарный и/или сахаро-паточный сироп, и/или низкосахаренную патоку с низким значением показателя $\omega_{06}(U_1, U_2) = 16,5...13$. Для продления свежести изделий в рецептуру можно добавлять фруктозный и/или глюкозно-фруктозный, и/или глюкозный сироп, и/или патоку высокосахаренную с высоким значением показателя $\omega_{06}(U_1, U_2) = 61,5...46$. Предлагаемый метод может быть использован на предприятиях пищевой промышленности.

Ключевые слова. Кондитерское производство, сахара, патока крахмальная, влагосвязывающая способность, активность воды

Для цитирования: Применение методики среднеинтегральной оценки вододерживающей способности сахаросодержащих продуктов в кондитерском производстве / В. М. Арапов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 436–451. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2518>

Average Integral Assessment of Water Binding Capacity in Sugar-Containing Confectionery Products

Vladimir M. Arapov¹, Inessa V. Plotnikova^{1,*}, Dmitry A. Kazartsev²,
Konstantin K. Polansky³, Gazibeg O. Magomedov¹,
Maxim V. Kopylov¹, Viktor E. Plotnikov¹



¹ Voronezh State University of Engineering Technologies^{ROR}, Voronezh, Russia

² K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management (the First Cossack University)^{ROR}, Moscow, Russia

³ Plekhanov Russian University of Economics, Voronezh Branch, Voronezh, Russia

Received: 09.01.2024
Revised: 16.04.2024
Accepted: 07.05.2024

*Inessa V. Plotnikova: plotnikova_2506@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-5959-6652>
Vladimir M. Arapov: <https://orcid.org/0009-0007-9611-5142>
Dmitry A. Kazartsev: <https://orcid.org/0000-0001-6597-2327>
Konstantin K. Polansky: <https://orcid.org/0000-0002-8817-1466>
Gazibeg O. Magomedov: <https://orcid.org/0000-0002-7201-8387>
Maxim V. Kopylov: <https://orcid.org/0000-0003-2678-2613>
Viktor E. Plotnikov: <https://orcid.org/0000-0001-6707-8337>

© V.M. Arapov, I.V. Plotnikova, D.A. Kazartsev, K.K. Polansky,
G.O. Magomedov, M.V. Kopylov, V.E. Plotnikov, 2024



Abstract.

Confectionery products must retain their freshness during the entire shelf-life period, and this quality should be considered at the stage of formulation design. As a result, moisture binding capacity of food products is an important research area. This research featured the average integral moisture binding capacity of sugar-containing materials to be used in confectionery products.

The research featured two groups of products. The first included thick syrups of sugar, molasse, glucose, fructose, glucose+fructose, and isomalt with a moisture content of 17.2–19.8%. The second included starch hydrolysates, i.e., various starch molasses and glucose+fructose syrup with a humidity of 17.0–22.4%. To assess the water binding capacity, the authors appealed to the method developed by Prof. V.M. Arapov.

A higher total relative equivalent of free water $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2)$ increased the water retention capacity. A lower value of $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2)$ correlated with a higher water activity A_w . In sugar syrup, A_w was 0.830 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 13$; in sugar+molasse syrup, A_w was 0.701 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 14.5$; in low-sugar molasse, A_w was 0.745 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 16.5$; in caramel acid molasse, A_w equaled 0.727 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 27.5$; in isomalt syrup, A_w was 0.623 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 44.5$; in high-sugar molasse, A_w was 0.680 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 46$; in glucose syrup, A_w reached 0.548 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 48.5$; in glucose+fructose syrup, A_w was 0.583 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 53$; in fructose syrup, A_w was 0.499 at $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2) = 61.5$. The values of $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2)$ of fructose syrup were 4.7...1.2 times higher than in other products.

Prof. V.M. Arapov's method rendered both qualitative and quantitative analysis of moisture in a food product. Sugar, sugar+molasse, and low-sugar molasse syrups with $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2)$ as low as 16.5...13 had the best results in protecting confectionery products from water absorption. Fructose, glucose+fructose, glucose, and high-sugar molasse syrups with the value of $\omega_{\text{total}}(U_1, U_2)$ as high as 61.5...46 could prolong the shelf-life of the finished product. The method demonstrated a good industrial and commercial potential.

Keywords. Sugar, starch molasse, moisture binding capacity, water activity, confectionery production

For citation: Arapov VM, Plotnikova IV, Kazartsev DA, Polyanskiy KK, Magomedov GO, Kopylov MV, et al. Average Integral Assessment of Water Binding Capacity in Sugar-Containing Confectionery Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):436–451. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2518>

Введение

Одной из главных задач при разработке нового ассортимента кондитерских изделий является сохранение их свежести и минимизация изменения влаги в течение всего срока годности, что во многом зависит от прочности связи влаги в продукте.

В настоящее время широко используются новые сахаросодержащие продукты с различными свойствами и химическим составом. Для производителей немаловажным является информация о прогнозировании изменения качества продукта с использованием тех или иных ингредиентов различного состава [1]. Данные

изменения в большей степени, как правило, связаны с протеканием массообменных процессов (сорбции и десорбции влаги), что приводит к модификации органолептических, структурно-механических и микробиологических показателей и играет доминирующую роль при установлении гарантийного срока годности изделий [2]. При хранении одних кондитерских изделий сорбция может играть отрицательную роль, при хранении других – положительную, то же самое относится и к десорбции влаги. Так, например, при внесении в рецептуру кондитерских изделий аморфной структуры (карамели, козинаков, халвы, литого ириса и др.) сахаросодержащих продуктов с повышенным содержанием редуцирующих сахаров (фруктозы, глюкозы, мальтозы, лактозы и др.), а также продуктов их распада и реверсии (ангидридов, гуминовых веществ, оксиметилфурфурола и др.), которые образуются при длительном тепловом воздействии, повышаются гигроскопичные свойства изделий, при этом на их поверхности адсорбируется влага, что приводит к намоканию и липкости корпуса к заверточным или упаковочным материалам [3–5]. Внесение этих же сахаросодержащих продуктов в рецептуру других кондитерских изделий (помадных, молочных, желейных, ликерных конфет, мармелада, зефира, ириса тираженного, щербета, нуги, жидких начинок, пряничных изделий, кексов и др.), которые при хранении высыхают из-за потери влаги в процессе кристаллизации сахарозы или ретроградации крахмала, способствует продлению их свежести и сохранению потребительских свойств в течение всего срока годности. Следовательно, качество и влагоудерживающая способность пищевых веществ кондитерских изделий во многом зависят от химического состава и количества вносимых сахаросодержащих продуктов.

Во многих рецептурах сахаристых кондитерских изделий основную долю составляют сахар белый, количество которого варьируется от 20 до 75 %, и патока крахмальная – от 10 до 60 %, которая используется как антикристаллизатор. На сегодняшний день активно внедряются и используются вместо сахара белого, как кристаллические сахара в чистом виде (фруктоза, глюкоза, мальтоза, лактоза, лактулоза и др.), так и подсластители (изомальтит, мальтит, лактит, сорбит, ксилит, эритрит, маннит, трегалоза, тагатоза, и др.). В качестве антикристаллизаторов широко применяют сахаристые гидролизаты крахмала (патоку крахмальную и/или высококонцентрированные сахаросодержащие сиропы – глюкозно-фруктозный, глюкозный, фруктозный и др.), а также сиропы различной концентрации из растительного сырья. В состав некоторых сахаристых гидролизатов крахмала и сиропов помимо моно- и дисахаридов, содержатся высокомолекулярные полисахариды (декстрины, амилопектины, инуло- и олигосахариды и др.), которые повышают пищевую ценность продуктов и из-за различной степени связывания влаги могут по-разному влиять на изменение прочности связи влаги в готовых изделиях [6].

Изучение влагосвязывающей способности используемых и новых сахаров, подсластителей и антикристаллизаторов различных видов является актуальным и востребованным направлением дальнейшего развития кондитерского производства, что позволит оценить и спрогнозировать изменение качества того или иного изделия, а следовательно, сделать правильный выбор при их использовании.

В действующих ГОСТах и ТУ на кондитерские изделия содержание влаги оценивают по показателю «массовая доля влаги (W , %)». Долю свободной влаги, под которой понимают отношение количества влаги в продукте к общей массе продукта, оценивают по показателю «активность воды (A_w)» [7, 8]. Показатель A_w является основным критерием, характеризующим состояние воды в пищевых продуктах, он широко применяется во всем мире как для прогнозирования технологических свойств пищевых продуктов, так и является мощным инструментом для регулирования их качества и сроков хранения. Данный показатель включен в систему стандартов ISO 9000, его контролируют при анализе рисков по критическим контрольным точкам, предусматривающих системой HACCP. В странах Евросоюза и США при экспертизе ряда продуктов определение показателя A_w является обязательным [9]. При совместном контроле показателей W и A_w в продуктах можно прогнозировать интенсивность протекания различных физико-химических, биохимических и микробиологических процессов при производстве и хранении изделий, что позволяет улучшить качество продукции и определить оптимальные сроки ее хранения.

Из литературных источников известно, что значение показателя A_w для сахаристых кондитерских изделий в большей степени зависит от влажности, количества и химического состава используемого рецептурного сырья, в том числе сахара и сахаросодержащих продуктов, а также от влажности готового продукта, что предопределяет физико-химические, структурно-механические свойства и влагоперенос при его хранении [10, 11].

Для сохранения свежести изделий и снижения показателя A_w используют различные влагоудерживающие сахароподобные или сахаросодержащие ингредиенты, например, глицерин, пропиленгликоль, полидекстрозу, инвертный сахар, сорбит, мальтит, мальтодекстрин, полисахариды и др. [12]. Моносахариды обладают высокой способностью связывать влагу и снижать показатель A_w , дисахариды и полисахариды оказывают меньшее влияние. Способность снижения показателя A_w некоторыми сахарами и сахароподобными продуктами можно изобразить схематично (по нарастающей) [13]:

Амилопектин → Мальтогексоза → Мальтотриоза → Сорбит → Сахароза → Мальтоза → Лактулоза → Глюкоза → Фруктоза → Ксилоза → Глицерин

Для объективной оценки состояния влаги и прогнозирования её изменения со временем наиболее важной является информация о прочности связи влаги с пищевыми веществами в продукте [14]. Изучение форм связи влаги, разработка точных и ускоренных методов определения физического состояния и свойств воды в пищевых продуктах имеет теоретическое и практическое значение и на сегодня является актуальным и востребованным направлением [15].

Соотношение «свободной» и «связанной» влаги в продукте, прочность связи влаги с пищевыми веществами можно определить по изменению термодинамических, теплофизических, массообменных и структурно-механических характеристик продукта [16].

Известны различные способы определения количественного и качественного состава водных фракций, отличающихся энергией связи влаги с веществом: ЯМР-спектроскопия, хроматографические методы, основанные на анализе сорбционных свойств, методы термического анализа и др. [17]. Распространенным из них является метод, основанный на анализе изотерм сорбции и десорбции, получаемых путем помещения вещества в эксикатор с газообразной средой с заданной относительной влажностью и температурой и выдерживания образца в этой среде до наступления состояния равновесия [17]. Данный метод применяется для нахождения соответствия между фактической влажностью исследуемого вещества и относительной влажностью воздуха. Принцип десорбции состоит в том, что равновесное давление в газообразной среде, в которую помещен образец ниже, чем парциальное давление водяного пара над образцом, что обеспечивает переход влаги из вещества в газообразную среду. Длительность проведения эксперимента по получению изотерм сорбции и десорбции в отдельных случаях может составлять более 30 дней [18]. Существуют варианты данного метода, позволяющие более ускоренно проводить процесс сорбции-десорбции. Например, в работе Н. Б. Кондратьева для проведения экспериментальных исследований получения изотерм сорбции и десорбции используется специально созданная установка [35]. Принцип работы установки основан на прохождении сжатого воздуха с различной относительной влажностью через слой сыпучего материала, создавая при этом псевдоожиженное состояние сыпучего продукта. Проведение исследования сорбционных свойств вещества в псевдоожиженном слое позволяет ускорить процесс сорбции и десорбции влаги с веществом в 3–4 раза по сравнению с использованием эксикаторов, однако длительность метода даже в этом случае составляет до 7 дней. Экспериментальные данные аппроксимируются в виде уравнения зависимости равновесной влажности вещества от относительной влажности окружающего воздуха и температуры. Применяя при анализе изотерм десорбции метод А. В. Лыкова, можно дать качественную оценку формам связи влаги, а энергию связи влаги с материалом можно определить по уравнению А. Ребиндера:

$$E_{\text{св}} = -RT \ln [\varphi(U_p, T)] \quad (1)$$

где $\varphi(U_p, T)$ – относительная влажность воздуха, находящегося в равновесном состоянии с веществом, имеющим влагосодержание при температуре T .

Применение данного анализа и расчета энергии связи влаги с кондитерскими изделиями поможет обосновать применение в них тех или иных влагоудерживающих сахароподобных или сахаросодержащих ингредиентов.

Однако, отметим, что методы, основанные на анализе изотерм сорбции и десорбции, независимо от условий проведения опытов и скорости процесса, позволяют получить информацию о качественном составе водных фракций и затруднительны для точного определения ее количественного состава, а также характеризуются значительной длительностью проведения эксперимента.

Для изучения количественного и качественного состава водных фракций и свойств воды в материале применяются методы, основанные на нагревании образца при высушивании в термографическом устройстве с построением термограммы в виде кривых дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) [19–21], дифференциального термического анализа (ДТА) или термогравиграммы в печи дериватографа [22].

Методика, представленная в работах Н. С. Родионой, Е. А. Пожидаевой и др. позволяет определить количество водных фракций по количеству экзотермических пиков на кривых дифференциальной сканирующей калориметрии и дифференциальной термического анализа или по количеству ступеней (изломов) на термогравиграмме [22–24, 35]. В работах В. А. Каминского и С. В. Шахова представлена методика изучения форм связи влаги на основе дифференциально-термического анализа [25, 26]. Для этого кривую термогравиграммы преобразовывают в зависимость степени изменения массы (α) от температуры (T) и в дальнейшем перестраивают в координатах $(-lg\alpha) - (10^3/T)$. Анализ построенных кривых позволяет определить температурные зоны удаления влаги из материала с различной формой и энергией связи, а также массовую долю влаги, десорбируемую с одинаковой скоростью.

Общим недостатком всех описанных методик с получением термограмм в виде кривых термогравиграммы, дифференциальной сканирующей калориметрии и дифференциальной термического анализа является необходимость применения дорогостоящего лабораторного оборудования (дериватографа).

Рассмотренные методы, основанные на дифференциально-термическом анализе вещества, дают хорошую оценку качественного и количественного состава водных фракций в исследуемом материале, однако не позволяют дать интегральную оценку прочности связи влаги в материале, которая является обобщенным и более важным показателем при исследовании влагосвязывающей способности кондитерских продуктов и выборе влагоудерживающих сахароподобных или сахаросодержащих ингредиентов [27, 28, 35].

Разработанный и запатентованный способ по определению прочности связи влаги с веществом не дает произвести интегральную оценку прочности связи влаги в веществе в любом диапазоне влагосодержаний, так как многие вещества не содержат свободной влаги, особенно кондитерские изделия, и поэтому на их графических кривых не имеется начального линейного участка, что значительно затрудняет определение максимальной скорости сушки и вносит погрешность в результаты измерений, в том числе и для всего диапазона удаляемой при сушке влаги, а выбранный критерий величины относительного эквивалентного влагосодержания дает сравнительную оценку летучести не «свободной» влаги, а летучести влаги, удаляемой в начальный период сушки, в сравнении с летучестью прочносвязанной влаги [29].

При разработке рецептуры кондитерских изделий встает задача выбора сахаросодержащего ингредиента из числа разных видов сиропов и патоки, обладающего наибольшей водоудерживающей способностью, чтобы обеспечить наибольший выход продукта и обеспечить минимальную усушку готовых изделий при их хранении. С этой целью необходимо сравнение среднеинтегральной оценки прочности связи влаги в кондитерских изделиях с различными сахаросодержащими продуктами.

Следовательно, для пищевой промышленности, в том числе и кондитерской, актуальным является разработка новой методики определения среднеинтегральной оценки прочности связи влаги с веществом в любом диапазоне влагосодержаний и использование ее в исследовании влагосвязывающей способности различных продуктов.

Цель работы – исследование среднеинтегральной влагосвязывающей способности сахаросодержащих продуктов для дальнейшего их использования в рецептуре кондитерских изделий.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования были выбраны часто используемые в кондитерском производстве сахаросодержащие продукты: кристаллические сахара (сахар белый, глюкоза, фруктоза, изомальт), на основе которых готовились высококонцентрированные сиропы с массовой долей влаги 17,2...19,8 %; сахаристые гидролизаты крахмала фирмы «Cargill» (патока крахмальная различных видов (низкосахаренная, карамельная кислотная, высокосахаренная), глюкозно-фруктозный сироп) с массовой долей влаги 17,0...22,4 %. Для сравнения готовили сахарный и сахаро-паточный сиропы с содержанием влаги 19,4 % и 19,8 % (соответственно), причем сахаро-паточный сироп готовили на основе сахара белого и патоки карамельной кислотной (при соотношении 1:0,5).

В опытных образцах определяли: массовую долю влаги рефрактометрическим методом по коэффициенту преломления раствора продукта в соответствии

с ГОСТ 5900 «Изделия кондитерские. Методы определения влаги и сухих веществ»; массовую долю редуцирующих веществ и сахарозы в высококонцентрированных сиропах йодометрическим методом в соответствии с ГОСТ 5903 «Изделия кондитерские. Методы определения сахара»; массовую долю редуцирующих веществ в патоке методом Лейна-Эйна в соответствии с ГОСТ 33917 «Патока крахмальная. Общие технические условия». Содержание глюкозы, фруктозы, мальтозы, полисахаридов определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии со статистической обработкой результатов. Содержание изомальта определяли по содержанию сухих веществ в изомальтном сиропе.

Полученные высококонцентрированные сиропы (сахарный, сахаро-паточный, глюкозный, фруктозный, глюкозно-фруктозный и изомальтный) и патока крахмальная различных видов существенно отличаются по показателям качества и углеводному составу (табл. 1) [30].

В сахарном и сахаро-паточном сиропах больше всего содержится сахарозы – 79,8 и 50,6 % (соответственно). В глюкозном, фруктозном и глюкозно-фруктозном сиропах количество редуцирующих сахаров (глюкозы и/или фруктозы) наибольшее – 80,7, 80,1, 77,6 % (соответственно). Во всех видах патоки сахароза и фруктоза отсутствуют, но в зависимости от вида содержание редуцирующих сахаров (глюкоза и мальтоза) колеблется от 32,9...60,2 %, полисахаридов (декстрины, тетра- и трисахариды) – от 19,7...46,8 %, причем последние по своей химической природе представляют собой разветвленные высокомолекулярные соединения [31, 32]. В высокосахаренной патоке больше чем в остальных видах патоки содержится редуцирующих сахаров – 60,2 % и меньше полисахаридов – 19,7 %, в низкосахаренной патоке наоборот – меньше всего содержится редуцирующих сахаров – 32,9 % и больше всего полисахаридов – 46,8 %.

Для оценки влагосвязывающей способности вещества использовали методику, разработанную под руководством проф. В. М. Арапова, по определению среднеинтегральной оценки прочности связи влаги с веществом в любом диапазоне влагосодержаний, на основе сравнительной оценки летучести свободной воды (скорости сушки) и среднеинтегральной летучести (среднеинтегральной скорости сушки) влаги исследуемого вещества при равных постоянных термодинамических параметрах сушки образцов вещества [33].

Среднеинтегральную оценку прочности связи влаги в указанных продуктах в диапазоне влагосодержаний U_1 и U_2 проводили в следующей последовательности. Для каждого сахаросодержащего продукта определяли его начальную влажность и соответствующее ей значение влагосодержания $U_{н.}$ (табл. 1). За верхнее значение диапазона влагосодержаний принимали влагосодержание образца исходного продукта, соответствующее концу периода прогрева U_1 на кривой сушки

Таблица 1. Показатели качества и углеводный состав опытных образцов сахаросодержащих высококонцентрированных сиропов и патоки крахмальной различных видов

Table 1. Quality indicators and carbohydrate composition of thick sugar-containing syrups and various starch molasses

Показатели качества, углеводный состав	Сиропы высококонцентрированные						Патока крахмальная		
	Сахарный	Сахаро-паточный	Глюкозный	Фруктозный	Глюкозно-фруктозный	Изомальтный	Низкоосахаренная	Карамельная кислотная	Высокоосахаренная
Массовая доля влаги, %	19,4	19,8	19,3	19,9	22,4	19,2	20,2	19,1	20,0
Влагосодержание, %	24,1	24,7	23,9	24,8	28,9	23,8	25,3	23,6	25,0
Массовая доля редуцирующих сахаров (декстрозный эквивалент (DE)), %	0,8	14,5	80,7	80,1	77,6	–	32,9	42,4	60,2
Содержание углеводов, %, из них:	80,6	80,1	80,7	80,1	77,6	–	79,7	80,7	79,9
сахароза	79,8	50,6	–	–	–	–	–	–	–
глюкоза	0,3	6,3	80,7	–	44,5	–	15,1	22,8	30,9
фруктоза	0,5	2,5	–	80,1	31,7	–	–	–	–
мальтоза	–	5,7	–	–	1,4	–	17,8	19,6	29,3
полисахариды (декстрины)	–	15,0	–	–	–	–	46,8	38,3	19,7
Содержание изомальта, %	–	–	–	–	–	80,8	–	–	–

(рис. 1а–9а). На основании этого приняли $U_1 = 22\%$. За нижнее значение диапазона влагосодержаний принимали $U_2 = 4\%$, что соответствует, как известно, минимальному значению влагосодержания ряда многих видов готовых сахаристых кондитерских изделий. Применение показателя «влагосодержание продукта, U , %», а не показателя «массовая доля влаги (W , %)», как количественной характеристики влаги в продукте, объясняется необходимостью графического изображения сушки в координатах «влагосодержание продукта (U , %) – продолжительность процесса сушки (τ_c , мин)», так как в этих координатах достаточно просто можно определить период удаления свободной (не связанной с продуктом) воды. Влагосодержание продукта определяли как отношение содержащейся в нем воды к массе сухих веществ продукта. Для определения летучести свободной воды и среднеинтегральной летучести влаги исследуемого продукта проводили при равных и одинаковых условиях сушку двух образцов продукта, отличающихся начальным влагосодержанием. В качестве лабораторной сушильной установки использовали термогравиметрический инфракрасный влагомер марки FD-610, позволяющий проводить сушку при постоянных заданных термодинамических параметрах с фиксированием убыли массы навески во времени. Во всех опытах с целью поддержания высокой скорости процесса, температура сушки была на уровне $150 \pm 1^\circ\text{C}$, что значительно ниже температуры карамелизации многих сахаросодержащих продуктов, для которых она составляет от 160 до 180°C [34].

В качестве первых образцов брали исходные сахаросодержащие продукты (табл. 1), в качестве вторых

образцов – эти же продукты, но разбавленные дистиллированной водой из такого расчета, чтобы содержание сухих веществ в сахарном растворе не превышало $40 \pm 1,0\%$. При такой концентрации влаги в продукте коллоидные частицы не оказывают значительного воздействия на периферические молекулы воды, находящиеся на границе раздела фаз продукт – воздух. Поэтому теплота испарения этих молекул практически равна теплоте парообразования свободной влаги. Чтобы обеспечить равную поверхность сушки первых и вторых образцов, их массу помещали в алюминиевые кюветы диаметром 15 мм, а не наносили слоем на фольгу.

Масса, г, и начальное влагосодержание, %, первых образцов в кювете были следующими: 5,060/25,7 (сироп сахарный); 5,045/22,1 (сироп сахаро-паточный); 5,005/25,1 (сироп глюкозный); 5,005/25,6 (сироп фруктозный); 5,090/26,4 (сироп глюкозно-фруктозный); 5,030/25,2 (сироп изомальтный); 5,060/27,8 (патока низкоосахаренная); 5,085/24,9 (патока карамельная кислотная); 5,000/21,9 (патока высокоосахаренная). Вторые образцы разбавленных сиропов и патоки имели следующую массу (г) и влагосодержание (%): 5,260/149,7 (сироп сахарный); 5,390/150,0 (сироп сахаро-паточный); 5,310/150,2 (сироп глюкозный); 5,215/149,2 (сироп фруктозный); 5,370/149,3 (сироп глюкозно-фруктозный); 5,330/150,0 (сироп изомальтный); 5,390/149,5 (патока низкоосахаренная); 5,285/149,9 (патока карамельная); 5,300/149,6 (патока высокоосахаренная). Кювета с образцом устанавливалась на тарелку прибора, дно которой было покрыто огнеупорной тканью из керамического волокна, после чего образец подвергался сушке.

В ходе эксперимента для первых и вторых образцов через небольшие интервалы времени (каждые 60 с) регистрировали изменение массы исследуемых образцов. Длительность процесса сушки первых образцов проводили с таким расчетом, чтобы влага из продукта была удалена в полном объеме в рассматриваемом диапазоне $U_1 \div U_2$ влагосодержаний. Первоначальные результаты экспериментов получали в виде таблиц, в которых отражались изменения массы (удаление влаги) образца во времени. В качестве примеров приведены таблицы 2 и 3. На основании экспериментальных результатов вычисляли влагосодержание вещества в определённые моменты времени и строили графические кривые изменения влагосодержания вещества от времени сушки (рис. 1а–9а). Длительность сушки вторых образцов проводили с таким расчетом, чтобы из образца была полностью удалена свободная влага. Обработку результатов второго эксперимента проводили аналогично первому, после чего отдельно строили вторую кривую зависимости влагосодержания продукта от времени (рис. 1б–9б).

Поскольку энергозатраты на испарение свободной влаги являются самыми минимальными в сравнении с затратами на испарение влаги, содержащейся в исходном продукте, то при сушке вторых образцов из них в начальный момент прогрева и в последующие за прогревом моменты времени удаляется свободная влага. Поэтому на кривой сушки вторых образцов после прогрева

наблюдается прямолинейный участок, соответствующий удалению из вещества свободной влаги. Наличие прямолинейного участка объясняется постоянством энергозатрат на испарение свободной влаги при постоянстве параметров сушки. Тангенс угла наклона этого прямолинейного участка к оси времени определяет скорость сушки свободной влаги при заданных термодинамических параметрах процесса, который рассчитывали как отношение размерных катетов прямоугольного треугольника (рис. 1б–9б) по следующей формуле:

$$N_g = \frac{\Delta U}{\Delta \tau} = \frac{U_{g1} - U_{g2}}{\tau_{g2} - \tau_{g1}} \quad (2)$$

где N_g – скорость сушки свободной влаги, c^{-1} ; U_{g1} , U_{g2} – влагосодержания второго образца, соответствующие началу и окончанию выбранного на кривой сушки прямолинейного участка, кг влаги/кг сухого вещества; τ_{g1} , τ_{g2} – длительности сушки, соответствующие началу и окончанию прямолинейного участка, с.

На кривых сушки первых образцов определяли окончание периода прогрева продукта как небольшой участок кривой, обращенной выпуклостью вверх, и соответствующее ему влагосодержание U_1 (рис. 1а–9а). Поскольку прогрев характеризуется неустановившимся температурным режимом сушки, то его в дальнейшем из расчетов исключали. Также на этих кривых определяли продолжительность сушки исходных продук-

Таблица 2. Результаты эксперимента при сушке исходного (первого) образца сахарного сиропа

Table 2. Initial (first) vs. dried samples of sugar-containing syrups

Время сушки τ_c , мин	Температура сушки T , °C	Изменение массы образца (удаление влаги) m , %	Влагосодержание U , %
0	94	0,00	25,70
5	133	1,30	24,31
10	142	9,00	14,61
15	149	14,80	7,30
20	150	18,30	2,90
25	151	20,00	0,76
30	151	20,50	0,13
33	151	20,60	0,00

Таблица 3. Результаты эксперимента при сушке второго образца сахарного сиропа (с добавлением дистиллированной воды)

Table 3. Second vs. dried samples of sugar-containing syrups with distilled water

Время сушки τ_c , мин	Температура сушки T , °C	Изменение массы образца (удаление влаги) m , %	Влагосодержание U , %
0	93	0,00	149,70
5	128	25,00	87,50
10	141	50,00	25,00
15	150	56,80	8,00
20	150	57,80	5,50
25	151	58,40	4,00
30	151	58,70	3,25
33	151	59,00	2,50

тов (τ_c), соответствующую снижению влагосодержания от U_1 до U_2 (рис. 1а–9а).

Физическая сущность рассматриваемого метода среднеинтегральной оценки прочности связи влаги в сахаросодержащих продуктах заключается в следующем. Если бы в течение времени τ_c из первого образца удалялась свободная, а не реальная связанная влага, то скорость ее удаления равнялась бы свободной влаге N_g , так как условия сушки первого и второго образцов идентичны. Тогда расчетное количество свободной влаги $W_{св}(U_1, U_2)$, которое могло бы испариться со скоростью N_g за время τ_c , равно:

$$W_{св}(U_1, U_2) = N_g \times \tau_c \quad (3)$$

Продолжительность сушки первого образца при снижении его влагосодержания от U_1 до U_2 также можно рассчитать аналитически:

$$\tau_c = \int_{U_1}^{U_2} \frac{dU}{N(U)} = \frac{U_1 - U_2}{N_{ср}} \quad (4)$$

где $N(U)$ – действительная скорость сушки первого образца, как функция влагосодержания, c^{-1} ; $N_{ср}$ – среднеинтегральная скорость сушки первого образца при снижении его влагосодержания от U_1 до U_2 , кг влаги/кг сухих веществ.

Из уравнения (4) следует:

$$U_1 - U_2 = \tau_c \times N_{ср} \quad (5)$$

Величину $W_{св}(U_1, U_2)$ в уравнении (3) профессор В. М. Арапов предложил называть общим эквивалентным влагосодержанием. Общее эквивалентное влагосодержание – это количество свободной воды, отнесенное к сухой массе вещества, для удаления которой требуется такое же время сушки, что и для удаления из вещества действительного полифракционного состава влаги при снижении его влагосодержания от U_1 до U_2 при идентичных условиях процесса. Каждая фракция в веществе характеризуется энергией связи с сухой частью. Поэтому энергозатраты на испарение связанной влаги всегда больше энергозатрат на испарение свободной влаги. Вследствие этого $N_{ср} \leq N_g$. Очевидно, что чем больше энергия связи влаги с продуктом, тем меньше среднеинтегральная скорость удаления из него воды. Следовательно, в инженерной практике среднеинтегральную прочность связи влаги с продуктом можно характеризовать величиной, определяющей отношение скорости сушки свободной воды к среднеинтегральной скорости сушки связанной воды в продукте при одинаковых условиях ведения процесса. Предполагается эту величину называть общим относительным эквивалентом свободной влаги $\omega_{об}(U_1, U_2)$ в диапазоне влагосодержаний $U_1 \div U_2$ и рассчитывать следующим образом:

$$\omega_{об}(U_1, U_2) = \frac{W_{св}(U_1, U_2)}{U_1 - U_2} = \frac{N_g \times \tau_c}{U_1 - U_2} = \frac{N_g \times \tau_c}{N_{ср} \times \tau_c} = \frac{N_g}{N_{ср}} \quad (6)$$

Поскольку по результатам испытаний продукта можно определить величины N_g , τ_c , U_1 и U_2 , то общий относительный эквивалент свободной влаги в диапазоне влагосодержаний $U_1 \div U_2$ следует определять по формуле

$$\omega_{об}(U_1, U_2) = \frac{N_g \times \tau_c}{U_1 - U_2} \quad (7)$$

О прочности связи влаги в материале можно также косвенно судить по показателю A_w , который характеризует «соотношение свободной и связанной влаги» в продукте. Поэтому нами для сравнения результатов, полученных по вышеописанной методике, проведены измерения показателя A_w с помощью гигрометра Rotronic модификации HygroPalm с абсолютной погрешностью $\pm 0,008$. Для этого анализируемый образец продукта помещали в специальный стаканчик и устанавливали в специальную камеру, а сверху камеры размещали измерительный зонд влажности и температуры. При измерении на дисплее прибора отображаются значения показателя A_w и температуры в камере. После стабилизации данных показателей на дисплее прибора по сигналу фиксировали результаты измерений.

Результаты и их обсуждение

Как видно из графиков сушки исходных образцов концентрированных сиропов и патоки различных видов (рис. 1а–9а), вся содержащаяся в исследуемых продуктах влага более или менее прочно связана с их сухой частью, о чем свидетельствует изгиб кривых сушки к оси времени после периода прогрева, об этом свидетельствует также и показатель A_w , который у всех продуктов меньше единицы.

Следует заметить, что у низкосахаренной патоки, сахарного и сахаро-паточного сиропов по мере снижения влагосодержания наблюдается непрерывный рост энергии связи оставшейся в продукте влаги, о чем свидетельствует вогнутый к оси времени характер кривых сушки во всем диапазоне влагосодержаний после периода прогрева. На кривых сушки других сахаросодержащих продуктов можно выделить линейные участки, которые свидетельствуют о наличии в продукте водной фракции, молекулы которой обладают равной энергией связи. В карамельной патоке практически вся влага представлена одной фракцией. Однако определение границ интервалов различных водных фракций, а также их количественного значения на основании кривых сушки затруднительно из-за плавного перехода одного участка кривой сушки к другому. Определенная по кривым сушки (рис. 1а–9а) продолжительность процесса τ_c при снижении влагосодержания продуктов от 22 до 4 %, занесена в таблицу 4.

Для определения скорости сушки свободной воды на всех кривых сушки вторых образцов (рис. 1б–9б) выделили прямолинейный участок, в котором влагосодержание снижается от 120 до 60 %. Соответствующее этим точкам время сушки занесли также в таблицу 4. Расчет

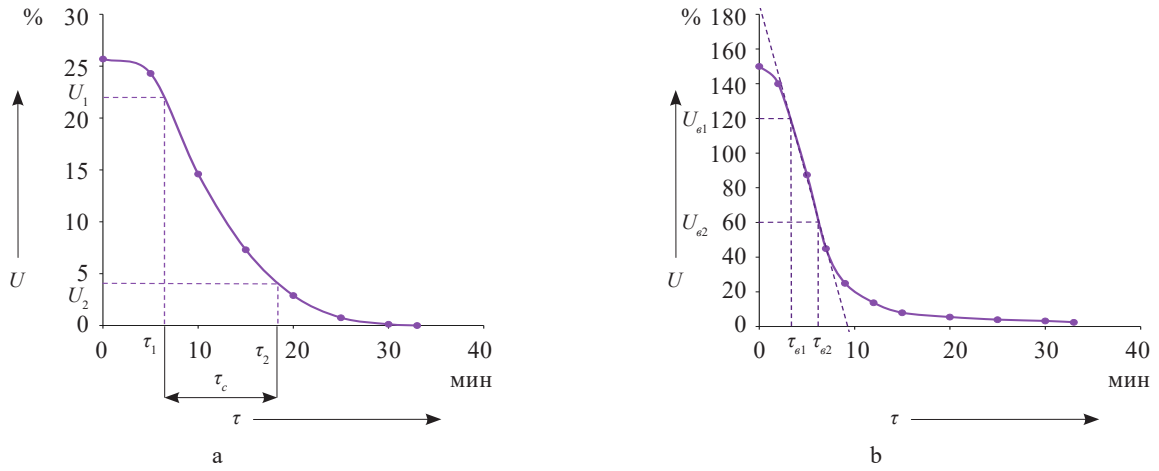


Рисунок 1. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке сахарного сиропа в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды

Figure 1. Effect of drying time on water retaining capacity in sugar syrup samples: a) initial sample; b) sample with distilled water

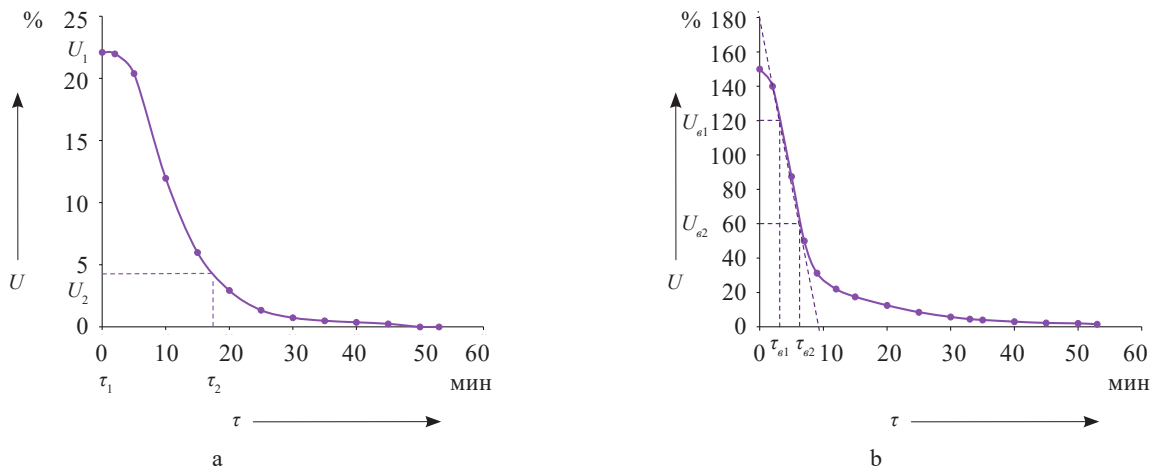


Рисунок 2. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке сахаро-паточного сиропа в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды

Figure 2. Effect of drying time on water retaining capacity in sugar+molasses syrup: a) initial sample; b) sample with distilled water

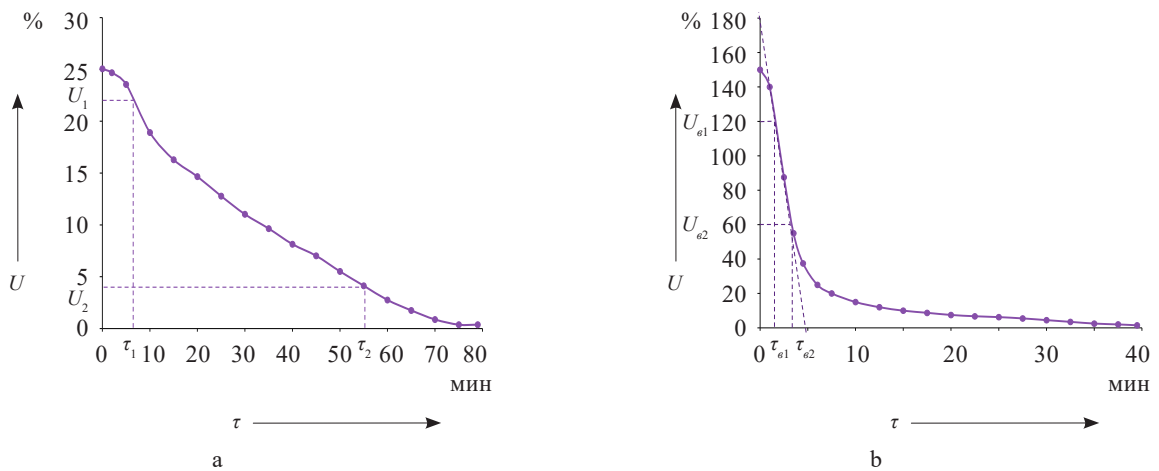


Рисунок 3. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке глюкозного сиропа в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды

Figure 3. Effect of drying time on water retaining capacity in glucose syrup: a) initial sample; b) sample with distilled water

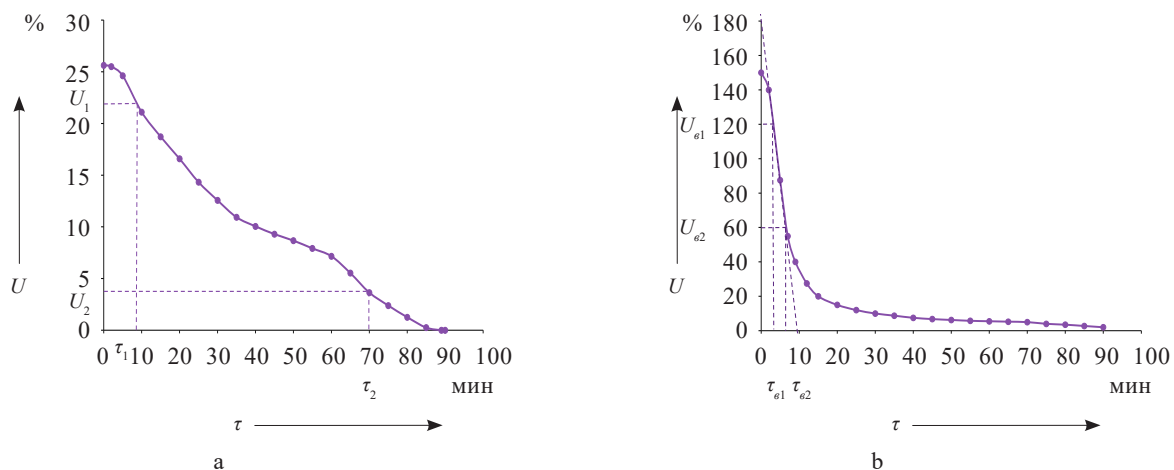


Рисунок 4. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке фруктозного сиропа в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды

Figure 4. Effect of drying time on water retaining capacity in fructose syrup: a) initial sample; b) sample with distilled water

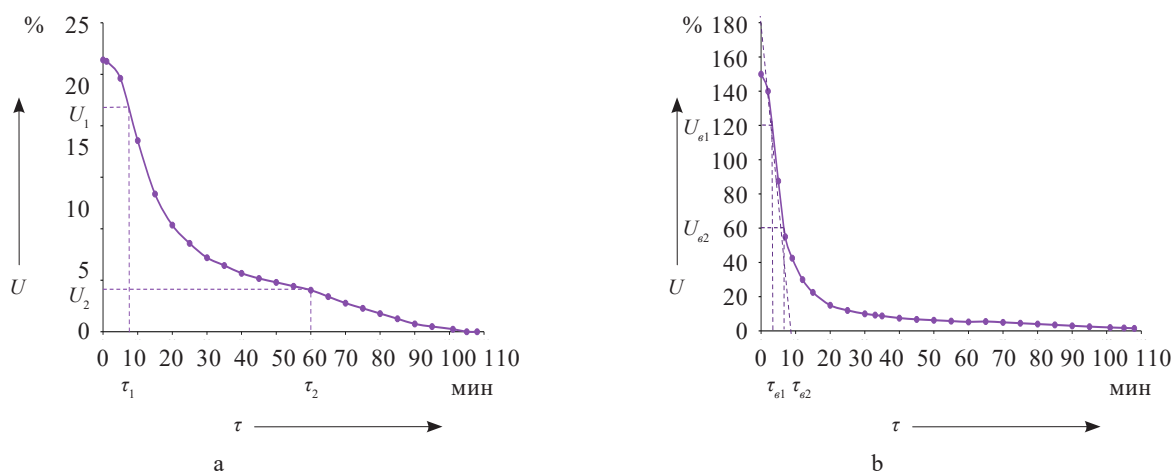


Рисунок 5. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке глюкозно-фруктозного сиропа в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды

Figure 5. Effect of drying time on water retaining capacity in glucose+fructose syrup: a) initial sample; b) sample with distilled water

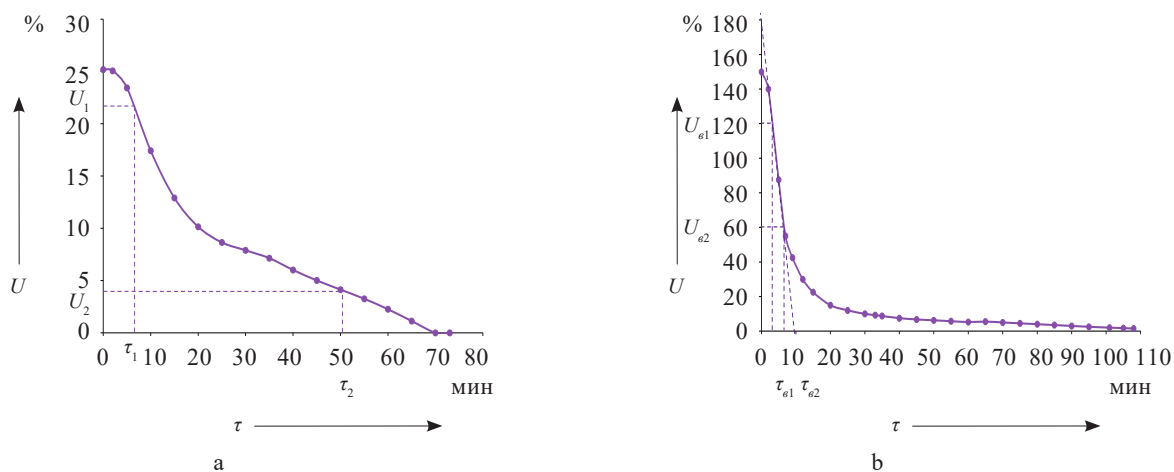


Рисунок 6. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке изомальтового сиропа в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды

Figure 6. Effect of drying time on water retaining capacity in isomalt syrup: a) initial sample; b) sample with distilled water

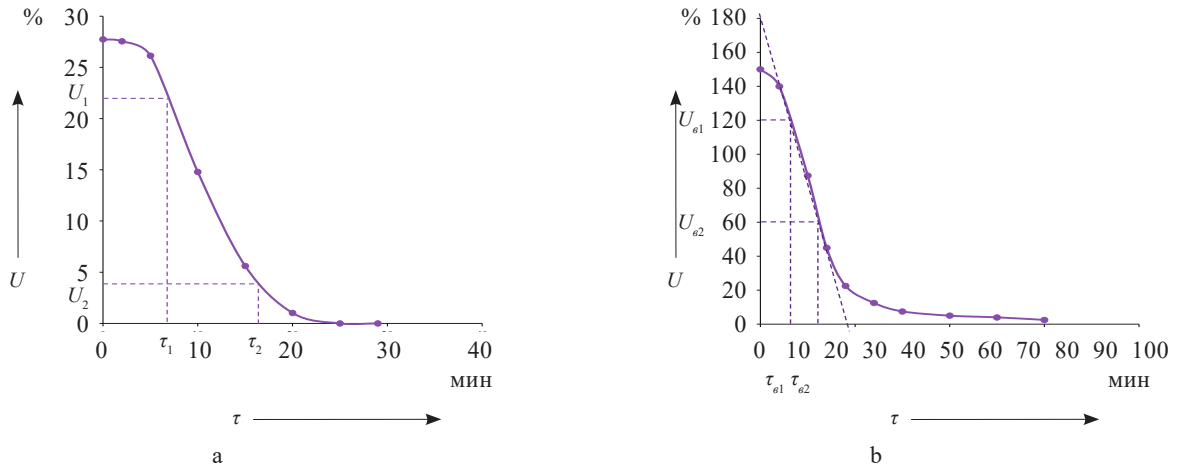


Рисунок 7. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке низкосахаренной патоки в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды
 Figure 7. Effect of drying time on water retaining capacity in low-sugar molasses: a) initial sample; b) sample with distilled water

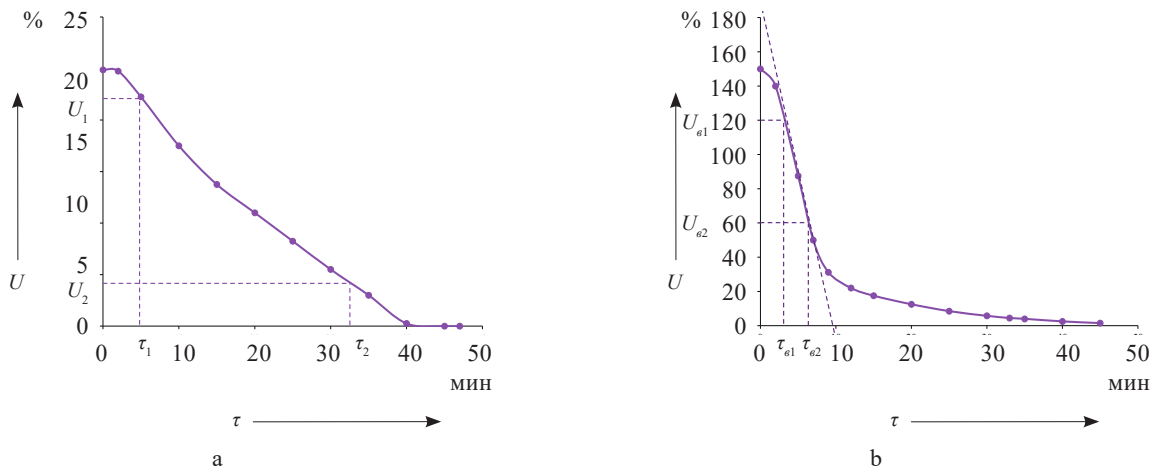


Рисунок 8. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке карамельной патоки в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды
 Figure 8. Effect of drying time on water retaining capacity in caramel molasses: a) initial sample; b) sample with distilled water

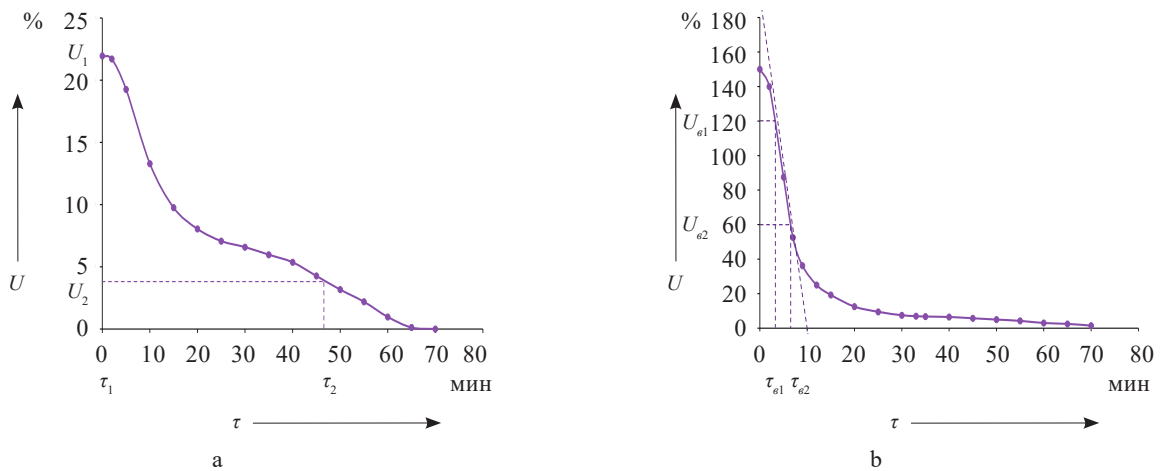


Рисунок 9. Зависимость изменения влагосодержания от времени при сушке высокосахаренной патоки в инфракрасном влагомере: а) исходный образец; б) образец с добавлением дистиллированной воды
 Figure 9. Effect of drying time on water retaining capacity in high-sugar molasses: a) initial sample; b) sample with distilled water

Таблица 4. Результаты сушки опытных образцов сахаросодержащих высококонцентрированных сиропов и патоки крахмальной различных видов на термogrавиметрическом влагомере FD-610

Table 4. Thick sugar-containing syrups and various starch molasses dried on a FD-610 thermogravimetric moisture meter

Название образца	Время сушки 1-го образца τ_c, c	Влагосодержание 2-го образца, %		Время сушки 2-го образца, с		Скорость сушки свободной воды $N_b \cdot 10^3, \%/c$	Общий относительный эквивалент свободной воды $\omega_{об}(U_1, U_2)$
		U_{e1}	U_{e2}	τ_{e1}	τ_{e2}		
Сиропы высококонцентрированные:							
сахарный	780	120	60	190	390	300	13,0
сахаро-патоchnый	870	120	60	190	390	300	14,5
глюкозный	2910	120	60	190	390	300	48,5
фруктозный	3690	120	60	190	390	300	61,5
глюкозно-фруктозный	3180	120	60	190	390	300	53,0
изомальтный	2670	120	60	190	390	300	44,5
Патока крахмальная различных видов:							
низкосахаренная	990	120	60	190	390	300	16,5
карамельная кислотная	1650	120	60	190	390	300	27,5
высокосахаренная	2760	120	60	190	390	300	46,0

Таблица 5. Сравнение прочности связи влаги в высококонцентрированных сиропах и патоки крахмальной различных видов на основе показателя A_w и общего относительного эквивалента свободной влаги

Table 5. Moisture binding capacity in thick syrups and various starch molasses based on A_w index and total relative free moisture

Наименование продукта	Данные показателей при определении $\omega_{об}(U_1, U_2)$		Данные показателей при определении активности воды			
	Влагосодержание $U, \%$	Показатель $\omega_{об}(U_1, U_2)$	Массовая доля влаги $W, \%$	Влагосодержание образца $U, \%$	Показатель A_w	Температура, °C
Сиропы высококонцентрированные:						
сахарный	25,7	13,0	19,4	24,1	$0,830 \pm 0,014$	$24,53 \pm 0,60$
сахаро-патоchnый	22,1	14,5	19,8	24,7	$0,701 \pm 0,017$	$22,82 \pm 0,38$
глюкозный	25,1	48,5	19,3	23,9	$0,548 \pm 0,005$	$22,19 \pm 0,52$
фруктозный	25,6	61,5	19,9	24,8	$0,499 \pm 0,016$	$22,55 \pm 0,94$
глюкозно-фруктозный	26,4	53,0	19,6	24,4	$0,583 \pm 0,008$	$25,06 \pm 0,47$
изомальтный	25,2	44,5	19,2	23,8	$0,623 \pm 0,003$	$21,95 \pm 0,44$
Патока крахмальная:						
низкосахаренная	27,8	16,5	20,2	25,3	$0,745 \pm 0,015$	$26,02 \pm 0,44$
карамельная кислотная	24,9	27,5	19,1	23,6	$0,727 \pm 0,019$	$26,43 \pm 0,42$
высокосахаренная	21,9	46,0	20,0	25,0	$0,680 \pm 0,013$	$26,44 \pm 0,38$

по формуле (2) показал, что для всех вторых образцов скорость сушки свободной воды составляет 0,3 %/с.

Результаты определения среднеинтегральной прочности связи влаги в исследуемых сахаросодержащих продуктах показали, что чем выше показатель $\omega_{об}(U_1, U_2)$, тем выше влагосвязывающая способность продукта. По представленным значениям видно (табл. 4), что наибольшую прочность связи влаги имеет образец фруктозного сиропа ($\omega_{об}(U_1, U_2) = 61,5$), наименьшую – сахарный сироп ($\omega_{об}(U_1, U_2) = 13,0$). В образцах фруктозного, глюкозно-фруктозного и глюкозного сиропов, высокосахаренной патоке прочность связывания влаги высокая (61,5...46,0), в изомальтном сиропе и патоке карамельной несколько меньше (44,5...27,5), в

сахарном и сахаро-патоchnом сиропах, патоке низкосахаренной самая низкая (16,5...13,0).

Следовательно, с целью предотвращения высыхания кондитерских изделий в процессе хранения и продления их срока годности в их рецептуру следует включать фруктозный или глюкозно-фруктозный, или глюкозный сиропы, либо патоку высокосахаренную, которые в сравнении с другими сахаросодержащими продуктами имеют более высокую водосвязывающую способность. Для снижения гигроскопичных свойств изделий и предотвращения их намокания при хранении, а также если необходимо чтобы кондитерский полуфабрикат быстро высыхал в процессе сушки на заключительном этапе производства, то в качестве

сахаросодержащих продуктов лучше использовать сахарный или сахаро-паточный сиропы, либо низкоосахаренную патоку.

Результаты измерения показателя A_w приведены в таблице 5, в которой также для сравнения прочности связи влаги в исследуемых продуктах представлены результаты измерения прочности связи влаги на основе показателя общего относительного эквивалента свободной влаги $\omega_{об}(U_1, U_2)$.

Исследуемые образцы концентрированных сиропов и патоки различных видов относятся к продуктам с промежуточной влажностью 19,1...20,2 %, их значения показателя A_w составляют 0,499...0,830 [35]. Известно, что при A_w 0,4...0,6 развитие и рост микроорганизмов не происходит, в диапазон данных значений попадают фруктозный, глюкозно-фруктозный и глюкозный сиропы. При A_w 0,65...0,87 в результате нарушения условий хранения в патоке или сиропах могут образовываться некоторые виды микроорганизмов – ксерофильные виды плесеней (грибов) (*Asp. chevalieri*; *Asp. candidus*; *Wallemia sebi*; *Saccharomyces bisporus*). Данные значения характерны для всех видов патоки, изомальтного, сахаро-паточного и сахарного сиропов. Самое высокое значение A_w в сахарном сиропе – 0,830, самое низкое – во фруктозном – 0,499.

Полученные результаты значений показателя A_w и прочности связи влаги в исследуемых образцах показали, что чем ниже величина показателя $\omega_{об}(U_1, U_2)$, тем выше показатель A_w . Так, например, в сахарном сиропе ($A_w = 0,830, \omega_{об}(U_1, U_2) = 13,0$), сахаро-паточном сиропе ($A_w = 0,701, \omega_{об}(U_1, U_2) = 14,5$), патоке низкоосахаренной ($A_w = 0,745, \omega_{об}(U_1, U_2) = 16,5$), патоке карамельной кислотной ($A_w = 0,727, \omega_{об}(U_1, U_2) = 27,5$), изомальтном сиропе ($A_w = 0,623, \omega_{об}(U_1, U_2) = 44,5$), патоке высокоосахаренной ($A_w = 0,680, \omega_{об}(U_1, U_2) = 46$), глюкозном сиропе ($A_w = 0,548, \omega_{об}(U_1, U_2) = 48,5$), глюкозно-фруктозном сиропе ($A_w = 0,583, \omega_{об}(U_1, U_2) = 53$), фруктозном сиропе ($A_w = 0,499, \omega_{об}(U_1, U_2) = 61,5$). Причем, значения показателя $\omega_{об}(U_1, U_2)$ фруктозного сиропа в 4,7...1,2 раза выше, чем в остальных исследуемых продуктах.

Как видно из таблицы 5, оба показателя – A_w и $\omega_{об}(U_1, U_2)$, могут быть характеристиками связи влаги с продуктом. Следует отметить, что при проведении измерений по одной и другой методикам значения влагосодержаний продуктов несколько отличаются. С одной стороны, это связано с различием влагосодержания у образцов продукта при определении A_w и $\omega_{об}(U_1, U_2)$, так как образцы были приготовлены из различных партий, что негативно влияет на корректность этих показателей. Например, значения $\omega_{об}(U_1, U_2)$ и показателя A_w соответственно равны у низкоосахаренной патоки – 16,5 ($U = 27,8$ %) и 0,745 ($U = 25,3$ %), а у карамельной кислотной патоки – 27,5 ($U = 24,9$ %) и 0,727 ($U = 23,6$ %). Считаем, что эта некорректность объясняется не только различием влагосодержания у образцов продукта, но различием физических законов, на которых основаны данные пока-

затели. Согласно ГОСТ ISO 21807-2015 под «свободной влагой» в данном случае понимается некоторая часть воды в пищевом продукте, которая пригодна для метаболической активности микроорганизмов. Считается, что эта влага не является прочносвязанной. Показатель A_w определяется как отношение парциального давления водяного пара в системе пищевой продукции к давлению пара чистой воды при одной и той же температуре. Поэтому показатель A_w в большей степени характеризует соотношение свободной для метаболической активности микроорганизмов влаги и связанной влаги. Следовательно, по этому соотношению косвенно можно судить о прочности связи влаги в пищевом продукте. Но он, таким образом, не дает среднеинтегральную оценку связи влаги различным водным фракциям, отличающихся величиной энергии связи. В отличие от показателя A_w показатель $\omega_{об}(U_1, U_2)$ характеризует среднеинтегральную летучесть (способность испаряться) всей содержащейся в продукте влаги. Поэтому для оценки усушки продукта при хранении, по-нашему мнению, показатель $\omega_{об}(U_1, U_2)$ обладает большей надежностью и достоверностью в сравнении с показателем A_w .

Полученные ранее авторами кондитерские изделия длительного срока хранения с использованием рассмотренных сахаросодержащих продуктов, например, карамель без сахара белого на основе патоки низкоосахаренной, зефир без сахара белого на основе патоки высокоосахаренной, мармелад без сахара белого на основе патоки высокоосахаренной или глюкозно-фруктозного сиропа, подтверждают правильность выбора рецептурных компонентов в соответствии с полученными результатами по разработанной методике среднеинтегральной оценки водоудерживающей способности продуктов.

Выводы

Таким образом, на примере исследованных видов сахаросодержащих продуктов показана эффективность нового подхода к определению в них прочности связи влаги, основанного на соотношении скорости сушки свободной воды к среднеинтегральной скорости сушки связанной в продукте воды при одинаковых условиях ведения процесса. Для оценки усушки продукта при хранении показатель $\omega_{об}(U_1, U_2)$ обладает большей надежностью и достоверностью в сравнении с показателем A_w .

Предложенная авторами методика позволяет не только качественно, но и количественно оценить состояние влаги в пищевом продукте. Результаты изучения влагосвязывающей способности сахаросодержащих продуктов показали, что чем больше в них содержится редуцирующих (гигроскопичных) сахаров (в большей степени фруктозы и глюкозы), тем ниже показатель A_w и меньше «свободной влаги» в продукте. Для предотвращения процесса намокания кондитерских изделий лучше использовать сахарный и/или сахаро-паточный сироп, и/или

низкоосахаренную патоку с низким значением показателя $\omega_{об}(U_1, U_2) = 16,5...13,0$. Для продления свежести кондитерских изделий, которые при хранении быстро теряют влагу и высыхают, в рецептуру можно добавлять фруктозный и/или глюкозно-фруктозный, и/или глюкозный сироп, и/или патоку высокоосахаренную с высоким значением показателя $\omega_{об}(U_1, U_2) = 61,5...46,0$.

Разработанная методика определения среднеинтегральной оценки прочности связи влаги с веществом в любом диапазоне влагосодержаний может быть использована в различных пищевых предприятиях и смежных отраслях. По критерию показателя среднеинтегральной влагосвязывающей способности можно создавать новый рецептурный состав изделий длительного срока хранения. Предлагаемый подход позволит также сократить время, затрачиваемое на лабораторные исследования по изучению связи влаги с материалом.

Рекомендации

Результаты проведенных исследований влагосвязывающей способности сахаросодержащих продуктов различного углеводного состава можно использовать в качестве примера при исследовании и внедрении новых видов различных сырьевых ингредиентов с целью разработки новой продукции длительного срока хранения, что на сегодня является актуальным, перспективным и востребованным.

Критерии авторства

В. М. Арапов – предложил методику проведения эксперимента, руководил и консультировал в ходе проведения научного эксперимента. И. В. Плотникова – разработала концепцию исследований, проводила научный эксперимент, корректировала рукопись до ее подачи в редакцию. Д. А. Казарцев – обработал экспериментальные данные, выполнил расчеты, корректировал рукопись до ее подачи в редакцию. К. К. Полянский – организовал производственные испытания, консультировал в ходе научного эксперимента. Г. О. Магомедов – консультировал в ходе научного эксперимента. М. В. Копылов – обработал экспериментальные данные, консультировал в ходе научного эксперимента. В. Е. Плотников – провел обзор литературных источников по исследуемой проблеме, участвовал в проведении научного эксперимента. Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Выражаем благодарность руководству центра коллективного пользования «Контроль и управление энергоэффективных проектов» ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий» за представленную возможность проведения исследований на лабораторной сушильной установке – термогравиметрическом инфракрасном влагомере марки FD-610.

Recommendations

The data obtained on water retaining capacity of sugar-containing products with various carbohydrate compositions can be used to develop and implement new raw ingredients for novel products with a long shelf-life, which is a relevant and promising direction.

Contribution

V.M. Arapov developed the methodology and supervised the research. I.V. Plotnikova developed the research concept, conducted the experiment, and proofread the manuscript. D.A. Kazartsev processed the experimental data, performed the calculations, and proofread the manuscript. K.K. Polyansky arranged the production tests and provided scientific advice. G.O. Magomedov provided scientific advice. M.V. Kopylov processed the experimental data and provided scientific advice. V.E. Plotnikov reviewed scientific publications and performed the research. All authors contributed equally to the writing of the manuscript and are responsible for any potential plagiarism.

Conflict of interest

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

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the management of the Core Facility Center for Monitoring and Management of Energy Efficient Projects, Voronezh State University of Engineering Technologies, for the opportunity to use the FD-610 thermogravimetric infrared moisture meter.

References/Список литературы

1. Kondratiev NB, Rudenko OS, Osipov MV, Bazhenova AE. Forecasting the shelf life of confectionery products under accelerated storage conditions: scoping review. Storage and processing of agricultural raw materials. Storage and Processing of Farm Products. 2022;4:22–39. (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.354>; <https://elibrary.ru/VBCFQB>
2. Kondratiev NB, Osipov MV, Petrova NA. Management of fat and moisture migration processes during confectionery storage. Food Products Commodity Expert. 2022;5:352–354. (In Russ.). <https://doi.org/10.33920/igt-01-2205-17>; <https://elibrary.ru/DEEICV>

3. Plotnikova IV, Zharkova IM, Roslyakov YuF, Fetisova ES. Study of the possibility of application of the indicator water activity for assessing the quality of caramel News of higher educational institutions. *Izvestiya vuzov. Food Technology*. 2023;1(391):89–93. (In Russ.). <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2023.1.14>; <https://elibrary.ru/VWXFVX>
4. Schab D, Zahn S, Rohm H. Development of a Caramel-Based Viscoelastic Reference Material for Cutting Tests at Different Rates. *Materials (Basel)*. 2021;14(14):3798. <https://doi.org/10.3390/ma14143798>
5. Soldatova EA, Misteneva SIu, Savenkova TV. Conditions and criteria for ensuring the storage ability of confectionery. *Food Industry*. 2019;5:82–85. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10078>
6. Dorohovich A, Dorohovich V, Kambulova Ju. The effect of mono- and disaccharides on structural-mechanical properties of pectin gels. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2016;5(11):16–24. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2016.81347>
7. Rubio-Arreaez S, Benavent C, Ortolá M, Castelló ML. Influence of low glycaemic index sweeteners on antioxidant, sensory, mechanical, and physicochemical properties of a watermelon jelly. *Journal of Food Quality*. 2018;2018(1):8412017. <https://doi.org/10.1155/2018/8412017>
8. Belokurova ES, Pankina IA, Sevastianova AD, Asfondiarova IV, Katkova NM. The effect of functional additives on the indicator “water activity” of biscuit semi-finished products. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;2(640). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/2/022022>
9. Barbosa-Cánovas GV, Fontana AJ, Schmidt SJ, Labuza TP. *Water Activity in Foods: Fundamentals and applications*. 2020. 616 p.
10. Plotnikova IV, Zharkova IM, Magomedov GO, Magomedov MG, Khvostov AA, Miroshnichenko EN. Forecasting and quality control of confectionery products with the use of “water activity” indicator. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;640(6):062003. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/6/062003>
11. Plotnikova IV, Magomedov GO, Kazartsev DA, Magomedov MG, Polansky KK, Plotnikov VE. Differential thermal analysis of moisture binding in zephyr with different contents of glucose syrup. *Foods and Raw Materials*. 2024;12(2):207–219. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-600>
12. Caballero-Cerón C, Guerrero-Beltrán JA, Mújica-Paz H, Torres JA, Welti-Chanes J. Moisture Sorption Isotherms of Foods: Experimental Methodology, Mathematical Analysis, and Practical Applications. In: Gutiérrez-López GF, Alamilla-Beltrán L, del Pilar Buera M, Welti-Chanes J, Parada-Arias E, Barbosa-Cánovas GV, editors. *Water Stress in Biological, Chemical, Pharmaceutical and Food Systems*. New York: Springer; 2015. pp. 187–214. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2578-0_15
13. Plotnikova IV, Magomedov GO, Zharkova IM, Miroshnichenko EN, Plotnikov VE. Jelly formulated with different carbohydrate profiles: quality evaluation. *Foods and Raw Materials*. 2022;10(2):262–273. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-535>
14. Danilchenko AS, Siyukhov KhR, Korotkova TG, Siyukhova BB. Determination of the content of free and attached moisture in spent grain. *New technologies*. 2020;15(4):41–52. (In Russ.). <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2020-15-4-41-52>; <https://elibrary.ru/HHDKTD>
15. Ketel EC, de Wijk RA, de Graaf C, Stieger M. Effect of cross-cultural differences on thickness, firmness and sweetness sensitivity. *Food Research International*. 2020;152:109890. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109890>
16. Nirav S. Thermal Methods of Analysis. *Mod Appl Pharm Pharmacol*. MAPP.000509. 2017;1(2):1–8. <https://doi.org/10.31031/MAPP.2017.01.000509>
17. Korotkov EG, Ponomarev AN, Melnikova EI, Kuznetsova IV, Stanislavskaya EB. Study of the moisture links forms in curds with whey proteins microparticulate. *Dairy industry*. 2016;(8):31–33. (In Russ.). [Исследование форм связи влаги в твороге с микропартикулятом сывороточных белков / Е. Г. Коротков [и др.] // Молочная промышленность. 2016. № 8. С. 31–33.]. <https://www.elibrary.ru/WFGGLJ>
18. Rodionova NS, Popov ES, Matveev DI, Pevtsova ES, Sokolova AV, Diakov AA. Vegetable biocorrectors influence on the moisture state in functional purpose flour products. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2019;81(1):190–195. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-190-195>; <https://elibrary.ru/UPMGAP>
19. Rodionova NS, Popov ES, Klimova EA, D'yakov AA. The influence of natural biocorrectors on the forms of communication of moisture and storage of confectionery with honey. *Food Industry*. 2019;(11):16–19. (In Russ.). <https://elibrary.ru/YCUACV>
20. Rodionova NS, Razinkova TA, Popov ES, Polyansky KK, Rodionova NA, Zarubina KYu, et al. Exopolysaccharide activity of probiotic microorganisms under different fermentation conditions. *Dairy industry*. 2020;4:28–30. (In Russ.). <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-04-28-30>; <https://elibrary.ru/ORYXJJ>
21. Pozhidaeva EA, Popov ES, Ilyushina AV, Bolotova NV, Ivanova EV. Study of the forms of moisture binding in curd products by differential scanning calorimetry and thermogravimetry. *Food Industry*. 2018;(11):73–77. (In Russ.). [Исследование форм связи влаги в творожных продуктах методом дифференциально-сканирующей калориметрии и термогравиметрии / Е. А. Пожидаева [и др.] // Пищевая промышленность. 2018. № 11. С. 73–77]. <https://elibrary.ru/YQIENF>
22. Brown ME. Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC). In: Brown ME, editor. *Introduction to Thermal Analysis*. Dordrecht: Springer; 1988. pp. 23–49. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1219-9_4

23. Kazantseva IL. Research of forms of a moisture communication in the raw materials and the finished confectionery by thermal analysis method. *Storage and Processing of Farm Products*. 2015;(7):36–40. (In Russ.). [Исследование форм связывания влаги в сырье и готовой кондитерской продукции методом термического анализа / И. Л. Казанцева [и др.] // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2015. № 7. С. 36–40.]. <https://elibrary.ru/UNXXSH>
24. Rodionova NS, Popov ES, Rodionov AA, Razinkova TA. Assessment of the exopolysaccharide activity of probiotic consortia using differential thermal analysis. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(4):95–105. (In Russ.). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-95-105>; <https://elibrary.ru/VQTQFC>
25. Kaminskii VA, Epshtein SA, Shirochin DL, Timashev SF. The determination of kinetic parameters for the decomposition of complex substances from thermogravimetry data. *Russian Journal Of Physical Chemistry A*. 2011;85(4):637–643. (In Russ.). [Определение параметров кинетики разложения сложных веществ по данным термогравиметрии / В. А. Каминский [и др.] // *Журнал физической химии*. 2011. Т. 85. № 4. С. 637–643.]. <https://elibrary.ru/NSYNHJ>
26. Shakhov SV, Saranov IA, Sadibaev AK, Malibekov AA, Litvinov EV, Gruzlov PV. The research of moisture forms in the rape by the thermogravimetric analysis method. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2019;81(1):27–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-27-31>; <https://elibrary.ru/GDDUJA>
27. Antipov ST, Emelyanov AB, Baturina EV, Kazartsev DA, Babenko DS, Posnova GV. Application of drying acceleration to study the forms of moisture bond in currant fruits. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2023;85(1):17–23. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2023-1-17-23>; <https://elibrary.ru/CNBVUG>
28. Antipov ST, Kazartsev DA, Davydov AM, Emelyanov AB. Study of the forms of moisture bond in coriander seeds based on analysis of drying kinetics. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2020;3(85):24–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-3-24-31>; <https://elibrary.ru/HPKRJQ>
29. Arapov VM, Kazartsev DA, Arapov MV. Procedure establishing strength of bonding between moisture and substance. Russia patent RU 2230311C1 Рос. Федерация. №2003103805/28. 2004. [Способ определения прочности связи влаги с веществом: пат. 2230311C1/ Арапов В. М., Казарцев Д. А., Арапов М.В.; заявл. 10.02.2003; опубл. 10.06.2004. 12 с.].
30. Kuzmina EI, Egorova OS, Akbulatova DR, Sviridov DA, Ganin MYu, Shilkin AA. New types of sugar-containing raw materials for food production. *Food systems*. 2022;5(2):145–156. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-2-145-156>; <https://elibrary.ru/JLQULI>
31. Saiko DS, Titov SA, Saranov IA, Andreev DG, Lobacheva NN. Moisture Transfer During its Evapo-ration from Sugar Solutions. *Eurasian Journal of Chemistry*. 2023;109(1):41–50. <https://doi.org/10.31489/2959-0663/1-23-4>
32. Papakhin AA, Lukin ND, Ananskikh VV, Borodina ZM. Modern trends in starch hydrolysis technology. *Dostizheniya nauki i tekhniki*. 2020;34(12):84–89. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-11214> ; <https://elibrary.ru/RBZPME>
33. Arapov VM, Akenchenko MA, Kazartsev DA, Plotnikova IV, Polyansky KK. A method for the average integral assessment of the bond strength of moisture in a substance in any given range of moisture contents. A patent for an invention 2758198 S1, 26.10.2021. Application No 2021107728: 24.03.2021 [Способ среднеинтегральной оценки прочности связи влаги в веществе в любом заданном диапазоне влагосодержаний / В. М. Арапов [и др.] Патент на изобретение 2758198 С1, 26.10.2021. Заявка № 2021107728 от 24.03.2021.].
34. Cherepanov IS, Krasnoperova OS. To the problem of quantitative estimation of carbohydrate caramelization product's structure using infrared-fourier transform spectroscopy. *Technology and the study of merchandise of innovative food-suffs*. 2019;(3):3–8. (In Russ.). [Черепанов И. С., Красноперова О. С. О возможности количественной оценки структуры продуктов карамелизации сахаров методом ИК-Фурье спектроскопии // *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*. 2019. № 3. С. 3–8.]. <https://elibrary.ru/XNPFDN>
35. Kondratev NB, Fedorko KV, Krylova EN, Pesterev MA, Osipov MV. Gingerbread with fruit filling: preservation factor assessment. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(3):397–405. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-3-397-405>; <https://elibrary.ru/ATZYRT>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2519>
<https://elibrary.ru/QMRYTN>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Анализ компонентного состава масла какао методом дифференциальной сканирующей калориметрии



С. А. Бредихин^{1,*}, В. Н. Андреев¹,
А. П. Назарова¹, И. А. Короткий²

¹ Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева^{ROR}, Москва, Россия

² Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 20.02.2024

Принята после рецензирования: 22.04.2024

Принята к публикации: 07.05.2024

*С. А. Бредихин: Sbredihin_kpia@rgau-msha,

<https://orcid.org/0000-0002-6898-0389>

В. Н. Андреев: <https://orcid.org/0000-0002-4890-379X>

И. А. Короткий: <https://orcid.org/0000-0002-7623-0940>

© С. А. Бредихин, В. Н. Андреев, А. П. Назарова,
И. А. Короткий, 2024



Аннотация.

Оценка качества масел и жиров, используемых в производстве шоколадных масс, играет важную роль в определении потребительских свойств этих продуктов. Особое значение имеют характеристики масла какао, которые существенно влияют на технологические процессы производства шоколадных изделий. Целью работы являлась количественная оценка полиморфных форм масла какао на основе математического моделирования кривых дифференциальной сканирующей калориметрии.

Исследовали образцы масла какао разных производителей методом дифференциальной сканирующей калориметрии. Результаты экспериментальных исследований обработали в виде совокупности распределений по температуре типа Гауссовой кривой.

Предложили подход к разработке метода оценки качества масла какао. Метод основан на обработке экспериментальных данных зависимостей распределения отдельных полиморфных форм масла какао. Определили полиморфные формы образцов масла какао: легкоплавкая составляющая с интервалом температур плавления $\sim 10\text{--}18$ °С; полиморфная форма α , с интервалом температур плавления $\sim 17\text{--}24$ °С; метастабильная форма β' с интервалом температур плавления $27\text{--}29$ °С и полиморфная форма β со средней температурой плавления порядка $28\text{--}30$ °С. Рассчитали долевое содержание полиморфных форм масла какао по степени их плавления.

Предлагаемый подход значительно ускоряет процесс оценки качества масла какао, что является важным преимуществом в производстве шоколадных изделий. Полученные результаты исследований и разрабатываемый метод анализа представляют интерес для предприятий, занимающихся производством шоколадных изделий.

Ключевые слова. Калориметрия, шоколад, полиморфизм, хроматография, нагрев, охлаждение, кристаллизация, плавление, триглицериды, качество

Для цитирования: Анализ компонентного состава масла какао методом дифференциальной сканирующей калориметрии / С. А. Бредихин [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 452–460. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2519>

Composition Analysis of Cocoa Butter by Differential Scanning Calorimetry



Sergey A. Bredikhin^{1,*}, Vladimir N. Andreev¹,
Anastasia P. Nazarova¹, Igor A. Korotkiy²

¹ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy^{ROR}, Moscow, Russia

² Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

Received: 20.02.2024
Revised: 22.04.2024
Accepted: 07.05.2024

*Sergey A. Bredikhin: Sbredihin_kpia@rgau-msha,
<https://orcid.org/0000-0002-6898-0389>
Vladimir N. Andreev: <https://orcid.org/0000-0002-4890-379X>
Igor A. Korotkiy: <https://orcid.org/0000-0002-7623-0940>

© S.A. Bredikhin, V.N. Andreev, A.P. Nazarova, I.A. Korotkiy, 2024



Abstract.

Consumer properties of chocolate depend largely on the quality of cocoa butter, which affects the technological processes of chocolate production. This article introduces a new method of calorimetry-based mathematical modeling applied to polymorphic forms of cocoa butter.

The authors studied various samples of cocoa butter from different manufacturers using the method of differential scanning calorimetry. The results of experimental studies were processed as a Gaussian distribution.

The new method of cocoa butter quality assessment relied on experimental data processed as distribution dependencies of polymorphic cocoa butter forms. The latter were identified as follows: 1) a low-melting form (10–18 °C); 2) polymorphic form α (17–24 °C); 3) metastable form β' (27–29 °C); 4) polymorphic form β (28–30 °C). The authors also calculated the proportion of polymorphic forms of cocoa butter according to their melting point.

The method facilitated the quality assessment of cocoa butter, which renders good prospects for the chocolate industry.

Keywords. Calorimetry, chocolate, polymorphism, chromatography, heating, cooling, crystallization, melting, triglycerides, quality

For citation: Bredikhin SA, Andreev VN, Nazarova AP, Korotkiy IA. Composition Analysis of Cocoa Butter by Differential Scanning Calorimetry. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):452–460. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2519>

Введение

Масло какао является основным сырьем в производстве шоколада. Оно состоит на 98 % из триглицеридов и содержит 2 % других минорных липидов и гидрофобных природных соединений [1].

Качество шоколадных изделий существенно зависит от состава жировых компонентов и, в первую очередь, от природных свойств масла какао. Это какао-продукт, растительное масло, представляющее собой смесь триглицеридов жирных кислот и сопутствующих веществ, извлекаемую из какао тертого или какао-крупки.

Шоколад представляет собой густую взвесь твердых частиц, образующих сложную микроструктуру. Шоколад обычно состоит примерно на 70 % из мелких частиц, таких как сахар, какао-порошок и сухие вещества молока, которые диспергированы в непрерывной жировой фазе, в основном из масла какао, которое является ключевым ингредиентом в производстве шоколада и его структурирующим материалом [2].

В промышленности шоколад перерабатывают на технологических линиях в расплавленном состоянии, при определенных условиях сдвига и охлаждения, с целью затвердевания масла какао в упорядоченной кристаллической структуре [3]. В отличие от многих других жиров, масло какао представляет собой относительно простой триацилглицерин, в основном состоящий из 1,3-дипальмитоил-2-олеоил-глицерина, 1,3-дистеароил-2-олеоил-глицерина и гас-пальмитоил-стеароил-2-олеоил-глицерина [2]. Вследствие такого состава масло какао подвергается затвердеванию в нескольких кристаллических полиморфных формах.

Явление полиморфизма исследовано давно, и его сущность заключается в способности глицеридов образовывать при отвердевании различные кристаллические структуры (полиморфные формы), различающиеся характером построения элементарной кристаллической решетки, формой кристаллов, температурами плавления, другими свойствами. Триглицериды природных жиров,

и в их числе триглицериды какао-масла, способны к монотропным превращениям.

При кристаллизации монотропных веществ стабильная форма получается не сразу, вначале образуется самая неустойчивая форма, обладающая наибольшим запасом свободной энергии. Она переходит через ряд образующихся все менее неустойчивых полиморфных форм с постепенной деградацией энергии в конечную устойчивую форму. Таким образом, процесс монотропного полиморфного превращения протекает, согласно правилу Оствальда, с первоначальным образованием неустойчивых форм, которые Оствальд назвал метастабильными [6].

Физико-химические свойства у полиморфных форм триглицеридов неодинаковы: они различаются по кристаллической структуре, температуре плавления, плотности и другим свойствам. Начиная с низких температур плавления в порядке ее возрастания полиморфные формы обозначают греческими буквами: γ , α , β' и β . Первые три нестабильны. Вполне стабильна только β -форма, она наиболее высокоплавкая из всех. Температура плавления β' -формы триглицерида находится между температурами плавления β - и α -формы.

Вся совокупность потребительских свойств шоколада, таких как консистенция, вкус, аромат, цвет, определяется показателями качества масла какао (ГОСТ Р 70337-2022. Шоколад. Общие технические условия).

Важнейшим моментом в процессе производства шоколада является также обеспечение необходимых режимов тепловой обработки: нагревания шоколадной массы и охлаждения отформованных шоколадных изделий. В сущности, качество масла какао, его состав и свойства определяют режимные параметры технологических процессов переработки [1, 4–6].

Понимание образования различных полиморфных форм, т. е. понимание плавления и кристаллизации масла какао имеет первостепенное значение для производства шоколада, поскольку его состав напрямую влияет на конечные свойства шоколада, например, усадку, хруст, блеск, свойства плавления и устойчивость к поседению.

При приёмке масла какао в производство необходима оперативная и достоверная его идентификация, количественная оценка состава, свойств и соотношения полиморфных форм масла какао.

Контроль качества масла какао в настоящее время осуществляется хроматографией, которая является одним из методов аналитической химии. Указанные методы достаточно продолжительны во времени и требуют значительных затрат, а в случае использования хроматографии требуется «библиотека» чистых веществ.

Температурным переходам и конечной морфологии масла какао посвящено множество работ последних лет. Обычно это исследование проводят с помощью термоаналитических методов, в основном дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), ядерного магнитного резонанса, микроскопии в поляризованном

свете, а также экспериментального метода температурно-модулированной оптической рефрактометрии [7–12].

В течение последних двух десятилетий можно отметить ряд работ по применению методов дифференциальной сканирующей калориметрии, расширяющих возможности приёмочного контроля масла какао и контроля шоколадных полуфабрикатов и готовой шоколадной продукции в целом [11, 12]. Исследователи И. А. Саранов, О. Б. Рудаков, К. К. Полянский выполнили достаточно полный количественный анализ полиморфных форм масла какао и шоколадной глазури с применением специальной программы NETZSCH Peak Separation. Однако представляется, что в указанной работе не в полной мере использованы возможности математико-статистического анализа свойств масла какао.

Известно, что полиморфное состояние жира является важным показателем качества липидной фазы в пищевом продукте. Следовательно, какао-масло в шоколаде следует кристаллизовать в полиморфной форме β (которую обозначают как β') – для получения желаемого хруста, блеска и диапазона плавления, а также во избежание дефектов качества из-за поседения жира на поверхности шоколада [13].

В маргарине, напротив, предпочтение отдается небольшим кристаллам β' , поскольку они позволяют формировать хорошую кристаллическую сеть по всей непрерывной липидной фазе, что связано с хорошими сенсорными и текстурными свойствами [14, 15]. Полиморфизм жировых кристаллов характеризуется способностью молекул триацилглицерина располагаться в различных структурах кристаллической решетки, но при этом иметь идентичный состав триацилглицерина. Три основные структуры упаковки субъчейки ацильных цепей триацилглицерина представляют собой гексагональную, орторомбическую и триклинную субъчейку, известную как α , β' и β -упаковка, соответственно. Термодинамическая стабильность, плотность, температура плавления и энтальпия плавления такой упаковки увеличиваются в последовательном порядке [16]. Впоследствии эти различия в физических свойствах можно использовать для выяснения полиморфной формы с использованием различных аналитических методов, например, дифференциальной сканирующей калориметрии, ядерного магнитного резонанса, рентгеновской дифракции или инфракрасной спектроскопии.

Цель работы заключается в количественной оценке полиморфных форм масла какао на основе математического моделирования кривых дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК-кривых).

Объекты и методы исследования

Комплекс исследований был проведен на базе Технологического института Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К. А. Тимирязева в лаборатории «Аддитивные технологии в пищевой

и перерабатывающей промышленности», созданной в рамках Гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Приоритет-2030».

Исследования проводили с использованием дифференциального сканирующего калориметра DSC 204F1 (NETSCH, Германия) с системой охлаждения и встроенным программным обеспечением для сбора, хранения и расчётов под MS-WINDOWS и встроенным графическим интерфейсом DSC 204 F1.

Прибор был откалиброван по тепловому потоку, температуре и базовой линии с использованием стандартной технологии Tzero. Калибровку по температуре проводили с использованием таких стандартов, как сапфир.

Эксперименты проводили со скоростью охлаждения 10 К/мин. и нагрева – 5 К/мин. в условиях продувки измерительной ячейки инертным газом – азотом.

Образцы жировых компонентов кондитерских изделий (табл. 1) от разных производителей были представлены анонимно, т. е. никакой информации о наименовании, составе и свойствах представлено не было.

Калориметрический анализ указанных образцов масла какао с учётом температурных интервалов фазовых переходов компонентов был проведён, основываясь на известных исследованиях кондитерских жиров [6, 12].

Результаты данного исследования представлены в виде кривых дифференциального калориметрического сканирования (ДСК-кривых) образцов масел какао в процессе нагревания с плавлением. Экспериментальные кривые (рис. 1–5) представляют собой зависимости удельного расхода энергии от температуры. Важной особенностью полученных экспериментальных ДСК-кривых являются точки перегиба, которые характеризуют фазовые изменения, происходящие в исследуемом образце. ДСК-кривые приведены далее. На данных рисунках приведены кривые, аппроксимирующие ДСК-кривые, полученные как результат математического моделирования процесса плавления жиров масла какао. Основные параметры полученных математических моделей представлены далее в таблицах 2–4.

Масло какао, как и все жиры, характеризуется мезотропическим полиморфизмом, когда менее стабильные полиморфные модификации образуются первыми и затем последовательно трансформируются в более устойчивые состояния [13].

Для количественной оценки полиморфных форм (структурных форм) масла какао использовали его свойство полиморфизма. Это свойство масла какао характеризует структуру охлаждённого какао-масла и определяется наличием четырёх полиморфных форм кристаллов [6–13, 17]:

- γ -полиморфная форма масла какао, представляющая собой наименее стабильную низкоплавкую форму (температура плавления ~10–18 °С);
- α -метастабильная форма масла какао, (плавление в интервале 23,5–25,5 °С и 21–24 °С [1, 4, 5]);
- β' -полиморфная форма масла какао, интервал плавления 25–28 °С и 27–29 °С [1, 4, 6], так же, как и

предыдущая форма, служащая переходной формой к наиболее стабильной следующей форме;

- β -форма, которая формируется в процессе длительного охлаждения в диапазоне температур 28–30 °С и 34–35 °С [1, 4, 5].

Кривые дифференциального сканирования (ДСК) плавления всех образцов исследуемого какао-масла приведены на рисунке 1. Данные рисунка свидетельствуют, что все кривые фазовых переходов имеют одинаковый характер и практически полностью укладываются в интервал температур 10–30 °С.

Из рисунка 1 видно, что максимумы всех кривых расположены на интервале 21–22 °С. Это не может служить уверенным критерием различия образцов какао-масла.

Авторы предложили метод математического описания и выделения зависимостей распределения отдельных полиморфных форм масла какао, позволяющий выявить различия и характерные особенности структуры образцов какао-масла. Метод основан на применении предложенных математических зависимостей (1–4) для описания экспериментальных ДСК-кривых.

Параметры этих зависимостей описывают частные распределения полиморфных форм какао-масла таким образом, чтобы сумма ординат всех четырёх распределений равнялась ординате экспериментальной ДСК-кривой данного образца какао-масла.

Опыт аналогичных анализов соотношения различных компонентов в многокомпонентных веществах

Таблица 1. Образцы жировых компонентов кондитерских изделий

Table 1. Samples of fat components of confectionery products

Номер образца	Наименование
Образец № 1	Масло какао
Образец № 2	Масло какао
Образец № 3	Масло какао
Образец № 4	Масло какао

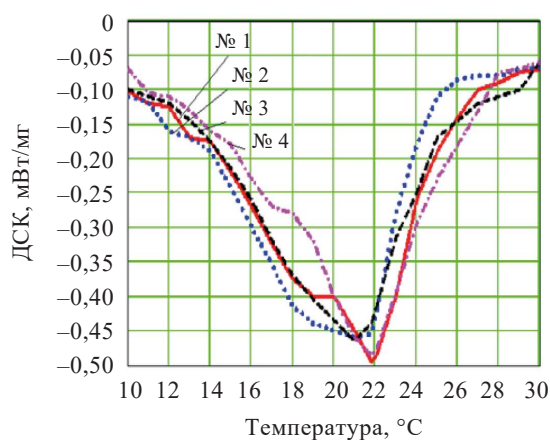


Рисунок 1. ДСК-кривые всех исследуемых образцов
Figure 1. Differential scanning calorimetry of all cocoa butter samples

позволяет полагать, что экспериментальные кривые, полученные в результате ДСК-сигнала при плавлении исследуемого материала, можно представить в виде совокупности распределений по температуре типа Гауссовой кривой.

Четыре полиморфные формы масла какао, указанные выше, обуславливают представление суммарного распределения ДСК-кривых плавления масла какао по функции $F(x)$ при помощи четырёх экспоненциальных функций, аналогов Гауссового распределения вида:

$$F(t) = \sum_{i=1}^4 f_i(t) \quad (1)$$

где $f_i(t)$ – функция распределения по температуре одной из четырёх, т. е. i -полиморфной формы масла какао при $i = 1 \dots 4$:

$$f_i(t) = c_i \times e^{-\left(\frac{t-d_i}{\sigma_i}\right)^2} \quad (2)$$

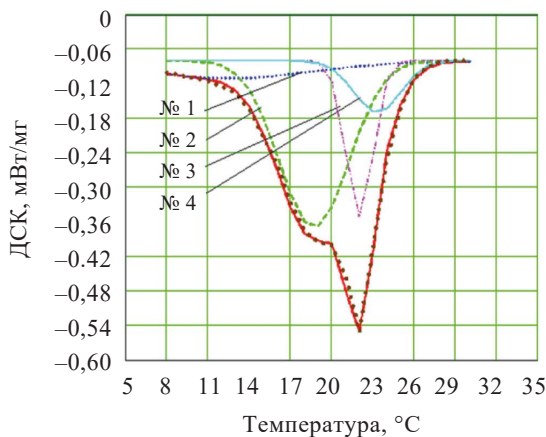
c_i – параметр, определяющий максимальное значение ДСК-сигнала выделенной i -полиморфной фазы ($\gamma, \alpha, \beta', \beta$); $i = 1 \dots 4$;

d_i – параметр, определяющий среднее значение температуры, при которой ДСК-сигнал данной полиморфной формы масла какао принимает максимальное значение; σ_i – параметр, характеризующий температурный диапазон распределения i -полиморфной фазы (табл. 2).

Площадь под ДСК-кривой каждой полиморфной формы масла какао соответствует массе данной полиморфной формы в данном образце.

$$S_i = \int_{10}^{30} f_i dt \quad (3)$$

где S_i – площадь под ДСК-кривой $f_i(t)$ – одной из полиморфных форм.



— Сплайнфункция, описывающая экспериментальные данные
 Математическое описание ДСК-кривой

Рисунок 2. ДСК-кривая образца № 1

Figure 2. Differential scanning calorimetry curve for sample 1

Долевое участие данной полиморфной формы масла какао в общем содержании жиров в масле какао определили как отношение:

$$\varphi_i = \frac{S_i}{\sum S_i} \quad (4)$$

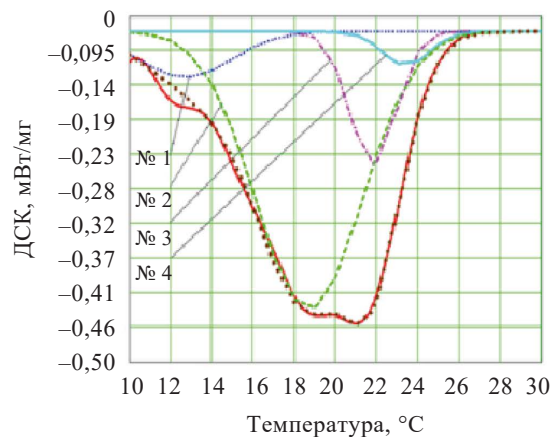
где $\sum S_i$ – сумма всех полиморфных форм.

Результаты и их обсуждение

Экспериментальные ДСК-кривые всех исследуемых образцов масла какао от различных производителей и аппроксимирующие их кривые представлены на рисунках 2–5. Аппроксимирующие кривые представляют собой суммарные функции четырёх экспоненциальных зависимостей, полученных по формуле (1).

Приведенные графики иллюстрируют возможность выделить кривые распределения, полученные на основе ДСК-сигналов и характеризующие каждую отдельную полиморфную форму масел какао, находящуюся в состоянии γ, α, β' или β , и оценить долю каждой из них в общем объеме какао-масла. Кривые распределения получены опираясь на известные свойства полиморфизма жиров и учитывая известные диапазоны плавления отдельных форм структуры. ДСК-кривые полиморфных форм данного образца масла какао: 1 – легкоплавкая составляющая (γ -форма) с интервалом температур плавления $\sim 10\text{--}18\text{ }^\circ\text{C}$; 2 – полиморфная форма α , с интервалом температур плавления $\sim 17\text{--}24\text{ }^\circ\text{C}$; 3 – метастабильная форма β' с интервалом температур плавления $27\text{--}29\text{ }^\circ\text{C}$; 4 – полиморфная форма β со средней температурой плавления порядка $28\text{--}30\text{ }^\circ\text{C}$.

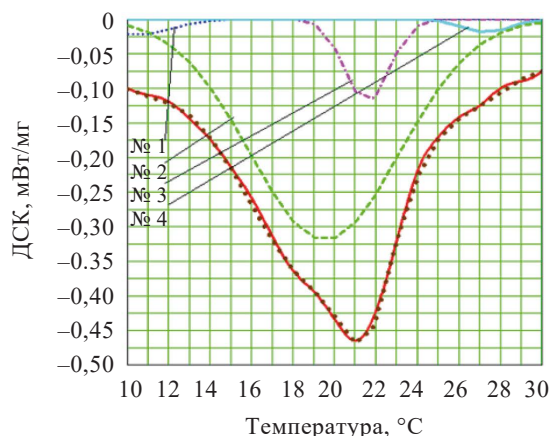
Долевое количество каждой из четырёх полиморфных форм масла какао можно определить путём вычисления отношения площади, находящейся под кривой распределения, данной полиморфной формы масла



— Сплайнфункция, описывающая экспериментальные данные
 Математическое описание ДСК-кривой

Рисунок 3. ДСК-кривая образца № 2

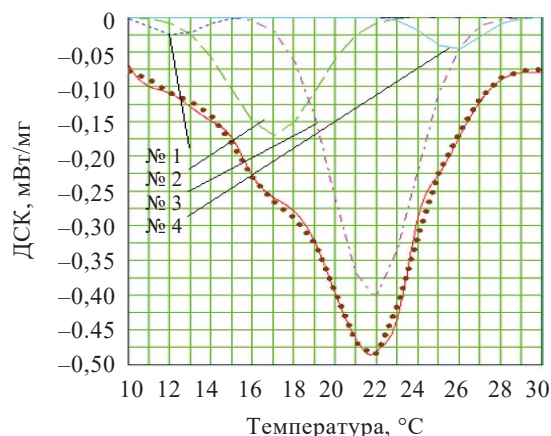
Figure 3. Differential scanning calorimetry curve for sample 2



— Сплайнфункция, описывающая ДСК-кривую
 Математическое описание ДСК-кривой

Рисунок 4. ДСК-кривая образца № 3

Figure 4. Differential scanning calorimetry curve for sample 3



— Сплайнфункция, описывающая ДСК-кривую
 Математическое описание ДСК-кривой

Рисунок 5. ДСК-кривая образца № 4

Figure 5. Differential scanning calorimetry curve for sample 4

к площади, ограниченной суммарной кривой ДСК-сигнала. Приведенные ниже таблицы 2–4 дают представление о проведенном по указанной методике расчете доли полиморфных форм жиров в исследуемых образцах.

В таблице 2 даны параметры « c », « d » и « σ » для всех полиморфных форм жиров, характерных для каждого образца масла какао. Оптимальные значения параметров находятся из условия минимизации выражения:

$$\min \Delta F(t) = F_D(t) - F(t)$$

где $\Delta F(t)$ – разность между значениями экспериментальной ДСК-кривой F_D и значениями функции (1), при тех же значениях температуры.

Далее приведены значения параметров, рекомендуемые как начальные в поиске оптимального значения:
 $1 - d_{i1}$ – среднее значение ДСК-кривой полиморфной формы γ для i -образца масла какао; может быть рекомендовано в первом приближении 12,3–12,7 °C;
 d_{i2} – среднее значение ДСК-кривой полиморфной формы α для i -образца масла какао; может быть рекомендовано 18,7–19,5 °C;

d_{i3} – среднее значение ДСК-кривой полиморфной формы β' для i -образца масла какао; может быть рекомендовано 21,5–22,1 °C;

d_{i4} – среднее значение ДСК-кривой полиморфной формы β для i -образца масла какао; может быть рекомендовано 23,3–27,3 °C.

$2 - \sigma_{i1}$ – среднее квадратическое отклонение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы γ ; может быть рекомендовано 1,2–2,5 °C;

σ_{i2} – среднее квадратическое отклонение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы α ; может быть рекомендовано 1,80–2,55 °C;

σ_{i3} – среднее квадратическое отклонение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы β' ; может быть рекомендовано 0,7–0,8 °C;

σ_{i4} – среднее квадратическое отклонение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы α ; может быть рекомендовано 0,80–1,2 °C.

c_{i1} – параметр, определяющий максимальное значение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы γ ; рекомендуемое значение в первом приближении 0,02–0,03 °C;

Таблица 2. Параметры распределения жировых фракций образцов какао-масел

Table 2. Fat fractions of cocoa butter

Полиморфные формы	γ	α	β'	β	\bar{t}_γ	\bar{t}_α	$\bar{t}_{\beta'}$	\bar{t}_β	Δt_γ	Δt_α	$\Delta t_{\beta'}$	Δt_β
Параметры распределений	c_1	c_2	c_3	c_4	d_1	d_2	d_3	d_4	σ_1	σ_2	σ_3	σ_4
Образец № 1	0,030	0,390	0,255	0,09	12,5	18,9	22,10	23,3	2,60	1,80	0,70	1,2
Образец № 2	0,060	0,362	0,172	0,045	12,7	18,7	21,75	23,4	1,60	1,82	0,80	0,8
Образец № 3	0,023	0,320	0,119	0,020	10,5	19,5	21,54	27,3	1,20	2,55	0,77	0,8
Образец № 4	0,036	0,169	0,400	0,055	12,6	17,0	21,80	25,7	0,75	1,45	1,38	0,9

Примечание. \bar{t} – среднее значение температуры плавления соответствующих полиморфных форм; σ – среднее квадратическое отклонение температуры плавления от среднего значения; S_i – площадь под ДСК-кривой i -образца; x_i – температура; $\gamma, \alpha, \beta', \beta$ – обозначения полиморфных форм жиров; c, d, σ – параметры распределений полиморфных форм по формуле (3).

Таблица 3. Значения площадей, ограниченных кривыми распределений фракций полиморфных форм

Table 3. Areas limited by distribution curves of fat fractions

Наименование образца	Сумма площадей, $\sum S$ (под кривой ДСК), мВт/мг	Площади, ограниченные фракциями полиморфных форм γ , α , β' , β			
		S_γ	S_α	$S_{\beta'}$	S_β
Образец № 1	3,193	0,311	1,829	0,67	0,383
Образец № 2	3,251	0,301	2,335	0,488	0,128
Образец № 3	3,31	0,06	2,875	0,325	0,056
Образец № 4	3,08	0,072	0,874	1,985	0,15

Таблица 4. Долевое содержание фракций масел по степени их плавления

Table 4. Fat shares by melting

Наименование образца	Площадь, ограниченная ДСК-кривой, $\sum S_p$, мВт/мг	Интервалы температур по степени плавления масла какао, °С			
		Легкоплавкие формы (γ), ΔT , 10–18	Среднеплавкие формы (α), ΔT , 21–25	Быстроплавкие формы (β'), ΔT , 25–29	Стабильные формы (β), ΔT , 28–30
Образец № 1	3,193	0,097	0,573	0,21	0,12
Образец № 2	3,251	0,093	0,718	0,15	0,039
Образец № 3	3,31	0,018	0,867	0,098	0,017
Образец № 4	3,08	0,023	0,284	0,644	0,049

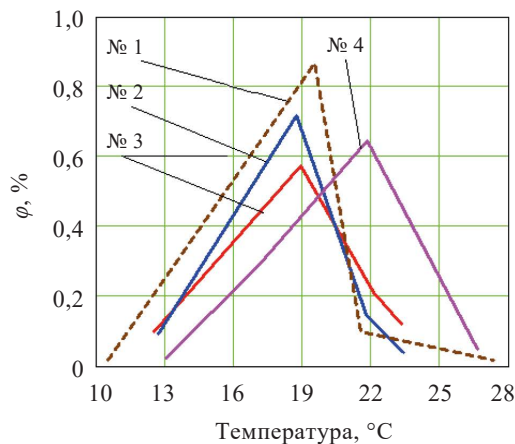


Рисунок 6. Зависимость доли полиморфных форм в общем объеме жиров масла какао от температуры

Figure 6. Effect of temperature on proportion of polymorphic forms in total cocoa butter volume

c_{i2} – параметр, определяющий максимальное значение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы α ; рекомендуемое значение в первом приближении 0,29–0,36 °С; c_{i3} – параметр, определяющий максимальное значение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы β ; рекомендуемое значение в первом приближении 0,20–0,27 °С; c_{i4} – параметр, определяющий максимальное значение ДСК-кривой i -образца полиморфной формы α ; рекомендуемое значение в первом приближении 0,020–0,090 °С.

В таблице 3 даны значения площадей, ограниченных кривыми ДСК-сигналов, рассчитанные по приведенной выше формуле (3) для каждого из распределений полиморфных форм исследуемых жиров.

В таблице 4 даны результаты расчётов отношения площадей под кривыми отдельных полиморфных форм к площади, ограниченной суммарной кривой ДСК-сигнала для каждого из жиров.

По данным таблиц 3 и 4 на рисунке 6 в виде ломаных линий представлены последовательности фазовых переходов $\gamma - \alpha - \beta' - \beta$, где вершины ломаных линий соответствуют значениям доли ϕ , определяемой по формуле (4) в общей массе масла какао при соответствующей температуре.

Оценка соответствия масла какао требованиям потребителя, может быть, проведена при наличии эталона. В рассматриваемом варианте в качестве такового можно принять по рекомендации потребителя образец № 1. Визуально по рисунку 6 очевидно выделение образца № 4, который подлежит более тщательному анализу.

Долевое содержание фракций масел по степени их плавления рассчитали по формуле (4), где значение S_i берётся из таблицы 3.

Выводы

Полученные результаты анализа кривых дифференциального сканирования температур плавления жиров (ДСК-кривых) путём выделения кривых плавления полиморфных форм масла какао и определения количественного соотношения указанных форм могут служить основой для идентификации масел, т. е. определению их принадлежности к тому или иному виду, а также определению соответствия требованиям по качеству. Полученные оценки компонентного состава представленных материалов могут служить данными для расчётов режимов их технологической термической обработки.

Следует отметить, что анализ кривых ДСК может помочь в определении степени стабильности и сохран-

ности жировых продуктов, а также служить для выявления возможных изменений в химическом составе в процессе хранения. Кривые плавления полиморфных форм жиров отображают различные переходы между кристаллическими структурами, что может быть полезным для изучения и исследования характеристик и свойств масла какао.

Анализ кривых ДСК может предоставить информацию о термической стабильности жировой матрицы. Полученные данные могут быть использованы для определения наиболее эффективных способов хранения масла какао и жиров в целом, а также продления их срока годности. Анализ кривых ДСК представляет собой инструмент для исследования и оценки теплофизических свойств жировых материалов, позволяя определить полиморфные формы жиров, количественное соотношение компонентов и их термическую стабильность. Такой подход может быть использован для разработки способа оценки стабильности жировых компонентов в различных отраслях промышленности, таких как пищевая, фармацевтика, косметология и другие. Полученные резуль-

таты анализа кривых ДСК могут помочь повысить качество вырабатываемых продуктов, улучшить технологические процессы и обеспечить безопасность потребителей.

Критерии авторства

В. Н. Андреев руководил работой. Все авторы принимали участие в исследованиях, обработке данных и написании текста.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.N. Andreev supervised the research. All the authors performed the experiments, processed the data, and wrote the manuscript.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Dos Santos DJ, Gouveia JR, Philipp M, Augusto AC, Ito NM, Krüger JK. Temperature modulated optical refractometry: A novel and practical approach on curing and thermal transitions characterizations of epoxy resins. *Polymer Testing*. 2019;77:105915.
2. Gouveia JR, Lixandrão KC, Tavares LB, Fernando PH, Saltarelli Garcia GE, Dos Santos DJ. Thermal transitions of cocoa butter: a novel characterization method by temperature modulation. *Foods*. 2019;8(10):449. <https://doi.org/10.3390/foods8100449>
3. Antipov ST, Bredikhin SA, Ovsyannikov VYu, Panfilov VA. Industrial technological complexes of food production. St. Petersburg: Lan Publishing House; 2020. 440 p. (In Russ.). [Индустриальные технологические комплексы пищевых производств / Антипов С. Т., Бредихин С. А., Овсянников В. Ю. [и др.]. СПб.: Лань, 2020. 440 с.].
4. Minifay B. Chocolate, candy, caramel, and other confectionery products. St. Petersburg: Professiya; 2005. 808 p. (In Russ.). [Минифай Б. Шоколад, конфеты, карамель и другие кондитерские изделия. Санкт-Петербург: Профессия, 2005. 808 с.].
5. O'Brien R. Fats and oils: Formulating and processing for applications. Boca Raton, FL: CRC Press; 2004. 616 p. [Р. О'Брайен. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение / пер. с англ. В. Широкова, Д. Бабеиной, Н. Селивановой, Н. Магда. М.: Профессия, 2007. 762 с.].
6. Vereshchagin AL, Reznichenko IYu, Bychin NV. Thermal analysis in the quality study of chocolate and confectionery products. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(2):289–300. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-289-300>; <https://www.elibrary.ru/PRT00H>
7. Chen J, Ghazani SM, Stobbs JA, Marangoni AG. Tempering of cocoa butter and chocolate using minor lipidic components. *Nature communications*. 2021;12:5018. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25206-1>
8. Fanning E, Eyres G, Frew R, Kebede B. Linking cocoa quality attributes to its origin using geographical indications. *Food Control*. 2023;151:109825.
9. Bagnulo E, Scavarda C, Bortolini C, Cordero C, Bicchi C, Liberto E. Cocoa quality: Chemical relationship of cocoa beans and liquors in origin identification. *Food Research International*. 2023;172:113199. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113199>
10. Quispe-Sanchez L, Mestanza M, Oliva-Cruz M, Rimarachin N, Caetano A, Chuquizuta T, *et al.* Oxidative stability and physicochemical changes of dark chocolates with essential oils addition. *Heliyon*. 2023;9(7):e18139. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18139>
11. Joshi BL, Zielbauer BI, Vilgis TA. Comparative study on mixing behavior of binary mixtures of cocoa butter/tristearin (CB/TS) and cocoa butter/coconut oil (CB/CO). *Foods*. 2020;9(3):327. <https://doi.org/10.3390/foods9030327>

12. Mutovkina EA, Bredikhin SA. Analysis of coffee thermophysical changes during roasting using differential scanning calorimetry. *Food Science and Technology*. 2023;43:e119722. <https://doi.org/10.1590/fst.119722>
13. Saranov IA, Rudakov OB, Polansky KK. Differential scanning calorimetry of cocoa butter and chocolate glaze. *Proceedings of VSUET*. 2020;82(2):154–160. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-2-154-160>; <https://www.elibrary.ru/TNENKG>
14. Detry R, Van Hoed V, Sterckx J, Deledicque C, Sato K, Blecker C, *et al.* Physicochemical properties of palm oil-based puff pastry model margarines related to their baking performance in long-term storage. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2020;123(1):2000155. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000155>
15. Andreev VN, Bredikhin SA, Zhuravlev AV, Mutovkina EA, Makarova AA. The influence of the fat content of margarines on the temperature of phase transitions during freezing and heating. *Achievements of science and technology in agribusiness*. 2023;37(12):72–76. (In Russ.). https://doi.org/10.53859/02352451_2023_37_12_72; <https://www.elibrary.ru/CFGYPI>
16. Declerck A, Nelis V, Danthine S, Dewettinck K, Van der Meeren P. Characterisation of fat crystal polymorphism in cocoa butter by time-domain NMR and DSC deconvolution. *Foods*. 2021;10(3):520. <https://doi.org/10.3390/foods10030520>
17. Linovskaya NV, Mazukabzova EV, Kondratiev NB, Krylova EN. The study of the technological adequacy of raw materials used in the production of chocolate semi-finished product. *Vestnik of MSTU*. 2019;22(3):404–412. (In Russ.). <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2019-22-3-404-412>; <https://www.elibrary.ru/VQYHBE>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2521>
<https://elibrary.ru/RCPBYJ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Биологически активные гидролизаты белков молока и их комплексы включения с циклодекстринами

Т. Н. Головач^{1,*}, З. В. Ловкис², В. П. Курченко¹,
А. В. Янцевич³, Е. И. Тарун⁴, Н. В. Дудчик⁵,
И. В. Ржепаковский⁶, А. Д. Лодыгин⁶

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

² Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию, Минск, Беларусь

³ Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

⁴ Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова, Минск, Беларусь

⁵ Научно-практический центр гигиены, Минск, Беларусь

⁶ Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

Поступила в редакцию: 19.03.2024

Принята после рецензирования: 25.04.2024

Принята к публикации: 07.05.2024

*Т. Н. Головач: halavachtn@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0002-2096-8030>

З. В. Ловкис: <https://orcid.org/0000-0002-2641-3888>

В. П. Курченко: <https://orcid.org/0000-0002-4859-2389>

А. В. Янцевич: <https://orcid.org/0000-0001-6786-3589>

Е. И. Тарун: <https://orcid.org/0000-0001-5711-6037>

Н. В. Дудчик: <https://orcid.org/0000-0002-5877-9307>

И. В. Ржепаковский: <https://orcid.org/0000-0002-2632-8923>

А. Д. Лодыгин: <https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>

© Т. Н. Головач, З. В. Ловкис, В. П. Курченко, А. В. Янцевич, Е. И. Тарун, Н. В. Дудчик, И. В. Ржепаковский, А. Д. Лодыгин, 2024



Аннотация.

Ферментативный гидролиз белков молока – эффективный технологический прием для повышения их пищевой и биологической ценности, а также снижения аллергенного потенциала. Последующее комплексообразование пептидов с циклодекстринами (ЦД) направлено на снижение горечи гидролизованных белков. Цель работы – получение гидролизатов сывороточных белков молока и комплексов включения пептидов с ЦД, определение пептидного состава расщепленных белков молока, оценка биоактивных и органолептических свойств гидролизатов и комплексов включения.

Объектами исследования являлись ферментативные гидролизаты сывороточных белков молока с глубокой степенью гидролиза и их комплексы включения с β - и γ -ЦД. Для расщепления белков применяли протеазу алкалазу (Alcalase®2.4L FG), гидролизаты подвергали микро- и ультрафильтрации (отсечка 10 кДа). Пептидный состав гидролизованных белков определяли высокоэффективной жидкостной хроматографией и хромато-масс-спектрометрией, антимуtagenную активность – в тесте Эймса, антибактериальное действие – импедиметрическим методом. Антиоксидантный эффект оценивали с использованием флуориметрического и спектрофотометрического подходов, антигенные свойства – по данным конкурентного иммуноферментного анализа. Уровень горечи опытных образцов устанавливали органолептически.

Подобраны режимы расщепления сывороточных белков молока алкалазой для достижения эффективной микро- и ультрафильтрации гидролизата. Получены гипоаллергенные пептидные фракции и их комплексы включения с β - и γ -ЦД. В результате протеолиза молочной сыворотки и последующей фильтрации с/без тиндализации установлено снижение остаточной антигенности в 265/589 раз соответственно. По данным флуориметрического метода показано увеличение антиоксидантной активности гидролизата в составе комплексов с β/γ -ЦД в 1,79/1,90 раза соответственно. Связывание β -ЦД с пептидами обусловило возрастание их антимикробного действия в отношении *Escherichia coli* ATCC 8739 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Эффективное снижение горечи установлено после взаимодействия гидролизата с β -ЦД.

Ферментативные гидролизаты белков молока и их комплексы включения с ЦД являются перспективными заменителями нативного белкового компонента для продуктов питания функционального назначения, что обусловлено их низким аллергенным потенциалом, приемлемым вкусом и подтвержденными биоактивными свойствами.

Ключевые слова. Сывороточные белки, ферментативный гидролиз, ультрафильтрация, степень гидролиза, пептиды, циклодекстрин, биологическая активность

Финансирование. Работа выполнена в рамках гранта Министерства образования Республики Беларусь «Наноконструкции циклодекстринов с биологически активными гидролизатами белков молока для специализированных продуктов питания» (договор № 002/2023–БГУ от 20.03.2023) и «Биологически активные фракции гидролизатов белков молока для продуктов функционального назначения» (договор № 002/2024–БГУ от 13.03.2024).

Для цитирования: Биологически активные гидролизаты белков молока и их комплексы включения с циклодекстринами / Т. Н. Головач [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 461–482. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2521>

Biologically Active Dairy Protein Hydrolysates and Their Cyclodextrin Inclusion Complexes: Biotechnological Aspects of Production

Tatsiana M. Halavach^{1,*}, Zenon V. Lovkis², Vladimir P. Kurchenko¹,
Aleksei V. Yantsevich³, Ekaterina I. Tarun⁴, Natalia V. Dudchik⁵,
Igor V. Rzhepakovsky⁶, Aleksei D. Lodygin⁶



¹ Belarusian State University^{ROR}, Minsk, Belarus

² Scientific and Practical Centre for Foodstuffs of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

³ Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus^{ROR}, Minsk, Belarus

⁴ International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Minsk, Belarus

⁵ Scientific and Practical Centre of Hygiene, Minsk, Belarus

⁶ North-Caucasus Federal University^{ROR}, Stavropol, Russia

Received: 19.03.2024

Revised: 25.04.2024

Accepted: 07.05.2024

*Tatsiana M. Halavach: halavachtn@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0002-2096-8030>

Zenon V. Lovkis: <https://orcid.org/0000-0002-2641-3888>

Vladimir P. Kurchenko: <https://orcid.org/0000-0002-4859-2389>

Aleksei V. Yantsevich: <https://orcid.org/0000-0001-6786-3589>

Ekaterina I. Tarun: <https://orcid.org/0000-0001-5711-6037>

Natalia V. Dudchik: <https://orcid.org/0000-0002-5877-9307>

Igor V. Rzhepakovsky: <https://orcid.org/0000-0002-2632-8923>

Aleksei D. Lodygin: <https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>

© T.M. Halavach, Z.V. Lovkis, V.P. Kurchenko, A.V. Yantsevich, E.I. Tarun, N.V. Dudchik, I.V. Rzhepakovsky, A.D. Lodygin, 2024



Abstract.

Enzymatic hydrolysis of dairy proteins increases their nutritional and biological value while reducing their allergenic potential. The subsequent complexation of peptides with cyclodextrins (CDs) reduces the bitterness of the hydrolyzed proteins. The research objective was to obtain hydrolysates of whey proteins and their cyclodextrin inclusion complexes with peptides, as well as to describe the peptide composition of the cleaved dairy proteins, biological activity, and sensory profile of the hydrolysates and inclusion complexes.

The research featured enzymatic whey protein hydrolysates with an extensive hydrolysis degree and their inclusion complexes with β - and γ -CDs. Dairy proteins were hydrolyzed with alcalase, and the hydrolysates obtained were subjected to micro- and ultrafiltration (cut-off limit – 10 kDa). The peptide composition of the hydrolyzed proteins was determined by the methods of high-performance liquid chromatography and chromatography-mass spectrometry. The antimutagenic activity was evaluated using the Ames test whereas the antibacterial effect was studied with the impedimetric method. The antioxidant activity was detected with fluorimetry and spectrophotometry. The method of competitive enzyme immunoassay was applied to reveal the antigenic properties. The bitterness of the experimental samples was determined by a sensory evaluation.

The research delivered the optimal modes for whey protein cleavage with alcalase that made it possible to achieve efficient micro- and ultrafiltration. The resulting hypoallergenic peptide fractions and their inclusion complexes with β - and γ -CDs possessed antioxidant, antibacterial, and antimutagenic properties. The whey proteolysis and subsequent filtration with/without tindalization demonstrated a 265/589-fold decrease in the residual antigenicity. The fluorimetric method showed a 1.79/1.90-fold increase in the antioxidant activity of the hydrolysate in complexes with β - and γ -CDs. Binding of β -CDs to peptides enhanced their antimicrobial activity against *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. The hydrolysate samples with β -CDs showed less bitterness.

Whey proteolysis with alcalase under optimized conditions and subsequent fractionation resulted in a product with high consumer qualities. Enzymatic hydrolysates of dairy proteins and their CD inclusion complexes were able to substitute native protein components. Their bioactive properties, good taste, and low allergenic potential mean good prospects for the functional food industry.

Keywords. Whey proteins, enzymatic hydrolysis, ultrafiltration, hydrolysis degree, peptide, cyclodextrin, biological activity

Funding. The research was supported by the Ministry of Education of Belarus as part of grant no. 002/2023-BSU: Nanocomplexes of cyclodextrins with biologically active hydrolysates of dairy proteins for specialty foods (20.03.2023) and no. 002/2024-BSU: Biologically active fractions of dairy protein hydrolysates for functional products (13.03.2024).

For citation: Halavach TM, Lovkis ZV, Kurchenko VP, Yantsevich AV, Tarun EI, Dudchik NV, et al. Biologically Active Dairy Protein Hydrolysates and Their Cyclodextrin Inclusion Complexes: Biotechnological Aspects of Production. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):461–482. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2521>

Введение

Молочная промышленность является одним из наиболее важных направлений применения протеолитических ферментов (эндопептидаз), расщепляющих внутренние пептидные связи белковых макромолекул [1]. Щелочная эндопептидаза алкалаза, продуцируемая *Bacillus licheniformis*, является одной из самых эффективных протеаз в условиях применения различных источников белка, в частности отходов пищевой промышленности. В связи с широким спектром потенциальных сайтов гидролиза применение алкалазы обуславливает получение гидролизата с преобладанием низкомолекулярных пептидов [2]. Среди продуктов гидролиза алкалазой обнаружены пептиды с противовоспалительной, антиоксидантной, гипотензивной, антимикробной, антидиабетической активностью [3, 4]. Аллергические реакции обусловлены связыванием антител с антигенными эпитопами на поверхности белковых макромолекул. В результате гидролиза расщепляются потенциальные сайты связывания антител, что предотвращает реакции гиперчувствительности [5, 6].

В ферментативных гидролизатах содержится широкий спектр пептидов, различающихся по длине аминокислотной цепи (или молекулярной массе), гидрофобности и заряду. В частности, классификация гипоаллергенных молочных смесей для детского питания основана на молекулярно-массовом распределении пептидов. Частично гидролизованные смеси (предназначены для профилактики аллергии), главным образом, включают пептиды с молекулярной массой 3–10 кДа, тогда как смеси на основе глубоких гидролизатов (лечебное питание) представлены фракцией с молекулярной массой 3–5 кДа и менее [7, 8]. Методы фракционирования гидролизатов направлены на получение пептидов с целевым диапазоном физико-химических и функциональных свойств. Мембраны для лабораторного и промышленного применения выпускают с различными значениями отсеки по молекулярной массе (M_w , 0,5–100 кДа). Микрофильтрация ($M_w > 100$ кДа) предшествует ультрафильтрации и направлена на отделение микроорганизмов и взвешенных частиц [9, 10]. Актуальным является изучение влияния мембранной фильтрации ферментативных гидролизатов белков молока на спектр биоактивных свойств полученных пептидных фракций [11].

Наряду с высокой пищевой и биологической ценностью гидролизаты обладают выраженным горьким вкусом, что удается преодолеть путем образования комплексов включения циклодекстринов (ЦДв) с «горькими» пептидами [12]. Наиболее распространены природные циклодекстрины $\alpha/\beta/\gamma$ -ЦД, включающие 6/7/8 единиц глюкозы соответственно, что определяет размер гидрофобной полости и, следовательно, спектр потенциальных гостевых молекул. Циклодекстрины нетоксичны, относятся к соединениям с низким гликемическим индексом. β -ЦД зарегистрирован в качестве пищевой добавки E459, отличается доступной ценой

и активным промышленным применением [13, 14]. При изучении научных публикаций обнаружены способы снижения горечи аминокислот и ферментативных гидролизатов белков растительного (*Pisum sativum* L.) и животного (*Salmo salar*) происхождения в результате внесения β -ЦД [15, 16]. Целесообразным является детальное изучение сенсорных и биологически активных характеристик пептидов молока в составе комплексов включения с природными циклодекстринами.

В настоящее время известны способы получения частичных гидролизатов сывороточных белков коровьего молока с использованием различных протеолитических ферментов и последующей ультрафильтрации (отсека 2–20 кДа) [17–19]. Определены закономерности гидролиза казеина и сывороточных белков протеазами животного, растительного, грибного и бактериального происхождения, а также при совместном их внесении [20, 21]. Изучены физико-химические свойства, уровень остаточной антигенности, биологически активное действие (антирадикальный, антибактериальный и антимуtagenный эффект) гидролизованных белков молока [17–19, 22, 23]. Получены комплексы включения β - и γ -ЦД с пептидами молочной сыворотки и молозива, что подтверждено с применением различных методических подходов. Выявлено снижение горечи, возрастание антирадикальных свойств, сохранение антимуtagenной и антимикробной активности наноконкомплексов циклодекстринов с гидролизатами по сравнению с исходными пептидами [24, 25].

Наряду с этим требуются дополнительные исследования, связанные с влиянием фракционирования продуктов протеолиза и комплексообразования с ЦД на их биоактивный потенциал. Оптимизация процесса гидролиза алкалазой и последующего фракционирования (микро- и ультрафильтрации) направлена на эффективное снижение антигенных свойств продуктов протеолиза и повышение их биологической ценности.

Актуальность исследования определяется разработкой гипоаллергенных продуктов питания на основе гидролизованных белков коровьего молока с высокой пищевой и биологической ценностью, необходимостью применения мембранной ультрафильтрации и комплексообразования с ЦД в технологическом процессе получения биоактивных гидролизатов с приемлемыми органолептическими свойствами, использованием комплексного анализа пептидных фракций молока с применением современных методических подходов. Ферментативно расщепленные белки молока и комплексы включения ЦД с пептидами, обладающие высокой пищевой и биологической ценностью, являются потенциальным ингредиентом для функциональных продуктов.

Цель работы – получение гидролизатов сывороточных белков молока и комплексов включения пептидов с ЦД, определение пептидного состава расщепленных белков молока, оценка биоактивных и органолептических свойств гидролизатов и комплексов включения.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись ферментативные гидролизаты сывороточных белков молока с глубокой степенью гидролиза и их комплексы включения с β - и γ -циклодекстрином.

Получение частичного ферментативного гидролизата сывороточных белков молока с глубокой степенью гидролиза. В исследовании применяли концентрат сывороточных белков (КСБ–УФ–80, ТУ ВУ 100377914.550–2008, массовая доля белка 80 %; ОАО «Щучинский маслосырзавод», Беларусь), фермент алкалазу (Alcalase®2.4L FG, активность 2,4 ЕА/г; Novozymes A/S, Дания), КОН и NaOH (хч).

При фракционировании гидролизатов применяли фильтрующую установку Vivaflow 50 с фильтрами для микрофильтрации (VF05P7 Sartorius VIVAFLOW 50, PES 0,2 μm , разъем luer с отсечкой по размеру пор 0,2 мкм) и ультрафильтрации (VF05P0 Sartorius VIVAFLOW 50, PES 10000 MWCO, разъем luer с отсечкой по M_w 10 кДа) производства Sartorius (Германия).

В ходе технологического процесса органолептические показатели определяли по ГОСТ 15113.3–77, контроль активной кислотности осуществляли по ГОСТ 26781–85, массовую долю сухого вещества устанавливали по ГОСТ 3626–73 (весовой метод), массовую долю общего белка определяли согласно методике Варбурга и Кристиана и с применением биуретового метода [26, 27].

С целью приготовления раствора сывороточных белков молока в колбу вносили 500 мл дистиллированной воды, затем добавляли 30 г КСБ–УФ–80 для получения раствора с массовой долей белка 4,5 %, тщательно перемешивали и нагревали до 50 °С при 120 мин.⁻¹ в течение 30 мин. Согласно различным вариантам технологического процесса, раствор сывороточных белков охлаждали до температуры 4 °С, дополнительно центрифугировали при 4700 мин.⁻¹ в течение 2 ч при температуре 4 °С. Затем раствор КСБ–УФ–80 нагревали до температуры 60 °С. Последующие стадии технологического процесса проводили в условиях постоянного перемешивания при 120 мин.⁻¹. Раствором натрия : калия гидроокиси (50 : 50, 33,3 %) титровали раствор сывороточных белков до установления значения рН 8,0 или 8,5. В колбу вносили 1,2 г ферментного препарата алкалазы для получения соотношения белок : ферментный препарат, равного 100 : 5 (содержание алкалазы 0,12 ЕА/г белка). Ферментативный гидролиз проводили при постоянной температуре 60 °С в течение 4 или 6 ч. Полученный гидролизат охлаждали до температуры 4 °С, контролировали активную кислотность опытного образца. Согласно различным вариантам технологического процесса, гидролизат дополнительно центрифугировали при 4700 мин.⁻¹ в течение 2 ч при температуре 4 °С. Промежуточное хранение гидролизата осуществляли в холодильных камерах при температуре 4 °С.

Гидролизат подвергали микрофильтрации с применением касетных фильтров с отсечкой по размеру

пор 0,2 мкм. Микрофильтрацию проводили в течение 3–12 ч при скорости потока 86 мл/мин. Промежуточное хранение микрофильтрата гидролизата осуществляли в холодильнике при температуре 4 °С.

Микрофильтрат гидролизата направляли на ультрафильтрацию с применением касетных фильтров с отсечкой по M_w 10 кДа. Ультрафильтрацию проводили в течение 4–12 ч при скорости потока 10 мл/мин. Определяли активную кислотность опытного образца жидкого гидролизата, содержание в нем сухого вещества и белка. Согласно различным вариантам технологического процесса, проводили тиндализацию: ультрафильтрат гидролизата в количестве 300 мл нагревали до 60 °С в течение 1 ч, далее выдерживали при 37 °С в течение 24 ч, обработку проводили трехкратно. На следующем этапе ультрафильтрат гидролизата быстро охлаждали до –40 °С. Гидролизат лиофильно высушивали с использованием лиофильной сушилки ЛС–500 (Проинтех, Пушкино, Россия) в течение 35 ч при температуре конденсора –35° С и давлении до 10 Па. Детальное описание различных вариантов технологического процесса представлено в таблице 1.

Массовую долю общего азота (ТN) и белка в лиофильно высушенных образцах гидролизатов определяли по ГОСТ 30648.2–99, массовую долю α -аминного азота (AN) – по ГОСТ Р 55479–2013, массовую долю влаги – по ГОСТ 29246–91. Степень гидролиза определяли как соотношение AN/TN, выраженное в %.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) гидролизатов и фильтратов. Для ВЭЖХ-исследований применяли ацетонитрил (осч, для ВЭЖХ; Sigma Aldrich, США) и трифторуксусную кислоту (осч, для масс-спектрометрии; Fisher Scientific International, США). В качестве стандартов белков молока использовали β -лактоглобулин (β -лг, варианты А и В, массовая доля белка 90 %), α -лактальбумин (α -ла, массовая доля белка 85 %), бычий сывороточный альбумин (БСА, массовая доля белка 90 %), казеин (массовая доля белка 88 %), лактоферрин (ЛФ, массовая доля белка 85 %) и иммуноглобулин G (Ig G, массовая доля белка 90 %) из коровьего молока производства Sigma (США).

Хроматографическое разделение осуществляли на приборе Agilent 1100 (колонка Zorbax–300SB C8; Agilent Technologies, США) в соответствии с представленной программой (табл. 2) при комнатной температуре в потоке 1,0 мл/мин. в течение 33 мин., детекцию проводили при 214 нм. ВЭЖХ-профили анализировали с применением ПО ChemStation for LC 3D systems Rev.В.04.01 (Agilent Technologies, США).

Хромато-масс-спектрометрический (МС) анализ гидролизатов и пептидных фракций. Для МС-анализа использовали трифторуксусную кислоту (осч, для масс-спектрометрии; Fisher Scientific International, США), калибровочные стандарты Protein Calibration Standard I/Standard II (Bruker Daltonik, Германия), матрицу для ионизации α -циано-4-гидроксикоричную кислоту

Таблица 1. Описание вариантов технологического процесса получения гидролизатов

Table 1. Technological options for hydrolysate production

Стадия технологического процесса	Вариант технологического процесса				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Центрифугирование раствора концентрата сывороточного белка	–	+	–	+	+
pH раствора концентрата сывороточного белка до гидролиза	8,0	8,0	8,0	8,5	8,5
Продолжительность гидролиза, ч	4	4	6	4	4
Центрифугирование после гидролиза	+	–	–	–	–
Корректировка pH после гидролиза	–	+	–	–	–
Микрофльтрация	+	+	+	+	+
Ультрафльтрация	+	+	+	+	+
Тиндализация	–	–	–	+	–
Лиофильная сушка	+	+	+	+	+

Таблица 2. Условия разделения сывороточных белков и их гидролизатов методом высокоэффективной жидкостной хроматографией

Table 2. Separation of whey proteins and their hydrolysates by high performance liquid chromatography

№ стадии	Время, мин.	Раствор А, % (v/v)	Раствор В, % (v/v)
1	5,0	95,0	5,0
2	10,0	90,0	10,0
3	30,0	60,0	40,0
4	32,0	60,0	40,0
5	40,0	50,0	50,0
6	45,0	50,0	50,0
7	50,0	90,0	10,0

Примечание: раствор А – 0,1 % раствор ТФУ, раствор В – АЦН.

Note. Solution A is 0.1% trifluoroacetic solution; solution B is acetonitrile.

(Bruker Daltonik, Германия), воду (осч. для масс-спектрометрии; Honeywell Burdick & Jackson, США).

Готовили 0,1 % раствор гидролизата (вариант технологического процесса № 5) в 0,5 % растворе ТФУ. Далее образец подвергали обессоливанию методом твердофазной экстракции на картридже с C18-силикагелем (Macherey-Nagel, Германия). Картридж устанавливали в вакуумный коллектор для ТФЭ на 12 картриджах Chromabond (Macherey-Nagel, Германия). Обессоливание проводили согласно рекомендациям производителя. Готовили серию разведений опытного образца с содержанием белка 0,2, 0,1 и 0,05 мг/мл.

На пластину для MALDI наносили матрицу и элюат образцов при объемном соотношении, равном 1 : 1, и высушивали на воздухе, после чего помещали мишень в масс-спектрометр.

В работе использовали масс-спектрометр высокого разрешения с источником ионизации MALDI (матрично-активированная лазерная десорбция ионизация) в сочетании с времяпролетным масс-анализатором (TOF) – microflex LRFMALDI-TOF (Bruker Daltonics, Германия). Разрешение составляло >15 000 FWHM при m/z 500–5000 Да в рефлектор-режиме, погрешность достигала 500 ppm в линейном режиме при m/z 5–100 кДа, 30 ppm в рефлектор режиме при m/z 500–5000 Да.

В процессе записи и первичной обработки масс-спектров применяли программное обеспечение Compass for flexSeries 1.4 и flexControl Version 3.4 (Build 57), а для обработки масс-спектров – Compass for flexSeries 1.4 и flexAnalysis Version 3.4 (Bruker Daltonik, Германия).

Для калибровки прибора и записи масс-спектров в различных диапазонах m/z использовали следующие режимы работы масс-спектрометра. Для пептидов (m/z – 500–5000 Да) – положительная ионизация с рефлектоном, метод RP_PerMix. В случае низкомолекулярных белков (m/z – 4000–20000 Да) – линейный режим с положительной ионизацией, метод LP_ProtMix.

Для записи масс-спектров и первичной обработки данных (суммирование и сглаживание суммарного спектра) использовали программу FlexControl, для последующей обработки данных (вычитание базовой линии, сглаживание) и для определения m/z пиков применяли программу FlexAnalysis. Спектры записывали в автоматизированном режиме, суммируя 50 лазерных импульсов с различных позиций в пятне, соответствующем калибранту или образцу. Подбирали условия для достижения интенсивности сигнала порядка 1×10^5 .

Получение комплексов β- и γ-ЦД с гидролизатами сывороточных белков молока (оценка антигенности и биоактивностей). В экспериментальной работе применяли фильтраты гидролизатов сыворотки

(согласно вариантам технологического процесса № 4 и 5), β-ЦД (массовая доля ЦД 85 %, Roquette, Франция), γ-ЦД (массовая доля ЦД 90 %, Chem-Impex International Inc., Китай), 50 мМ натрий-фосфатный буфер (pH 7,4) производства Sigma (США), дистиллированную воду.

Готовили растворы в 50 мМ натрий-фосфатном буфере, содержащие β/γ-ЦД и гидролизаты (пептидные фракции с массовой долей белка 0,5 %) при массовом соотношении ЦД : белок, равном 1 : 1. Полученные растворы инкубировали при комнатной температуре в условиях постоянного перемешивания (120 мин.⁻¹) в течение 30 мин. Экспериментальные пробы хранили при –20 °С для последующего анализа.

Получение гидролизатов сывороточных белков молока и комплексов β-ЦД с пептидами для проведения сенсорной оценки. В исследовании применяли концентрат сывороточных белков молока (КСБ–УФ–80, ТУ ВУ 100377914.550–2008, массовая доля белка 80 %; ОАО «Щучинский маслосырзавод», Беларусь), фермент алкалазу (Alcalase® 2.4L FG, КФ 3.4.21.62, протеазу из *Bacillus licheniformis*, активность 2,4 ЕА/г) производства Novozymes A/S (Дания), гидролизат сывороточных белков молока (вариант технологического процесса № 5), β-ЦД (массовая доля ЦД 85 %) производства Henan Naoyuhang Economic & Trade Co. Ltd. (Китай), NaOH (хч), дистиллированную воду.

Готовили 5,0 % белковый раствор гидролизата сывороточных белков молока (вариант технологического процесса № 5) в дистиллированной воде, подогретой до 45 °С. В раствор гидролизата вносили навески β-ЦД (Henan Naoyuhang Economic & Trade Co. Ltd., Китай) для достижения массового соотношения ЦД : белок, равного 1/50/51/52/55 : 50, инкубировали в течение 30 мин. при 45 °С и постоянном перемешивании (120 мин.⁻¹). Пробы гидролизата и комплекса не подлежали хранению, их немедленно направляли на оценку органолептических свойств.

Анализ антигенных свойств пептидов молока и их комплексов с циклодекстринами (конкурентный иммуноферментный анализ, ИФА). Для оценки антигенных свойств опытных образцов, полученных согласно вариантам технологического процесса № 4 и 5, использовали набор для количественного определения β-лактоглобулина (β-лг) методом конкурентного иммуноферментного анализа (RIDASCREEN® β-Lactoglobulin, R4901) производства R-Biopharm AG (Германия). Набор предназначен для анализа содержания β-лг в гидролизованных молочных продуктах, в том числе в гипоаллергенном детском питании. Калибровка набора проведена на контрольных образцах гидролизованного β-лг; стандарты состояли из нативного белка-аллергена. Тест-система позволяет выявлять нативный и обработанный белок, а также его фрагменты. Предел обнаружения – 2,1 мг/кг (2,1 мкг/г) β-лг, предел количественного определения – 5 мг/кг (5 мкг/г) β-лг.

По данным инструкции производителя, в основе работы теста – реакция антиген–антитела. Лунки микро-

планшета покрыты β-лг. В состав набора входят стандарты, необходимые растворы и антитела к β-лг. Свободный и иммобилизованный β-лг конкурируют за сайты связывания с антителами. После промывки добавляют вторичные антитела, меченные пероксидазой (конъюгат). Они связываются с комплексом антитело–β-лг. Несвязанный конъюгат впоследствии удаляют на этапе промывки. Ферментный субстрат и хромоген вносят в лунки и инкубируют. Связанный конъюгат превращает бесцветный хромоген в синий продукт. Добавление стоп-раствора вызывает изменение цвета с синего на желтый. Измерение оптической плотности раствора проводят фотометрически. Оптическая плотность раствора обратно пропорциональна концентрации β-лг в образце.

Согласно рекомендациям производителя тест-системы, готовили разведения образцов β/γ-ЦД, нативных и гидролизованных белков сыворотки молока, комплексов включения пептидов с ЦД. Оптическую плотность целевых растворов определяли при длине волны 450 нм с применением микропланшетного спектрофотометра Multiskan Ascent (Thermo Labsystems, США). На заключительной стадии эксперимента применяли специализированное ПО RIDA®SOFT Win.net (R-Biopharm AG, Германия), в частности, функцию кубического сплайна. Остаточную антигенность рассчитывали как соотношение количества β-лг в образце гидролизата к его содержанию в нативной молочной сыворотке, выраженное в %.

Оценка антиоксидантной активности белков и пептидов молока, их комплексов включения с циклодекстринами. Флуориметрический метод. Согласно предложенной методике снижение флуоресценции (*A*, %) флуоресцеина (ФЛ) обусловлено его окислительной деградацией при генерировании свободных радикалов в системе Фентона. Защитная роль антиоксидантов (пептидов молока) состоит в ингибировании окисления флуорофора, что приводит к восстановлению его флуоресценции. Способ предполагает измерение способности тестируемых образцов поглощать кислородные радикалы (oxygen radical absorbance capacity, ORAC assay) [28]. Развернутая методика эксперимента представлена в статье [25].

Степень интенсивности флуоресценции (*A*, %) рассчитывали по формуле (1):

$$A = \frac{Fl}{Fl_0} \times 100 \quad (1)$$

где Fl_0 – интенсивность флуоресценции контрольного образца ФЛ, Fl – интенсивность флуоресценции раствора после добавления антиоксиданта. Строили графики зависимости интенсивности флуоресценции (*A*, %) от содержания белка в анализируемых образцах. Согласно полученному уравнению рассчитывали концентрацию пробы IC_{50} , соответствующую 50 % ингибированию флуоресценции.

ABTS-метод. Измерение АОО предполагало применение катион-радикала на основе диаммониевой соли

2,2'-азино-бис[3-этилбензтиазолин-6-сульфоново́й кислоты] (ABTS) согласно модифицированной методике, описанной в статье В. Hernández-Ledesma и др. и в предшествующих собственных исследованиях [25, 29].

Степень восстановления катион-радикала, или ингибирование поглощения (I , %), рассчитывали по формуле (2):

$$I = \frac{D_0 - D}{D_0} \times 100 \quad (2)$$

где D_0 – оптическая плотность исходного раствора ABTS⁺, D – оптическая плотность раствора ABTS⁺ после внесения тестируемых образцов. Строили графики зависимости ингибирования поглощения (I , %) от концентрации тролокса и содержания белка в анализируемых образцах (мкг/мл). Согласно полученным уравнениям, рассчитывали концентрацию пробы IC_{50} , соответствующую 50 % ингибированию поглощения.

Trolox Equivalent Antioxidant Capacity ($TEAC$ – показатель антиоксидантной активности, выраженный в мкмоль тролокса/мкг белка) исследуемых образцов определяли по формуле (3):

$$TEAC = \frac{IC_{50}(ст)}{IC_{50}(пр)} \quad (3)$$

где $IC_{50}(ст)$ – концентрация 50 % ингибирования поглощения при внесении стандарта (тролокса), $IC_{50}(пр)$ – концентрация 50 % ингибирования поглощения при внесении образцов нативных белков, их гидролизатов и комплексов включения циклодекстринов с пептидами.

Оценка антимуtagenного эффекта гидролизатов и комплексов циклодекстринов с пептидами молока. Атимутагенную активность гидролизатов и их комплексов с ЦД оценивали в модифицированном тесте Эймса согласно методике, представленной в статье [23]. В краткосрочном тесте для изучения антимуtagenных свойств в качестве тест-моделей использовали индикаторные штаммы *Salmonella typhimurium* TA 98 и TA 100 из коллекции РУП «НИЦ гигиены» (г. Минск, Беларусь). В качестве прямых мутагенов применяли этидиум бромид для штамма *S. typhimurium* TA 98 и азид натрия в случае *S. typhimurium* TA 100 производства Sigma (США). Уровень снижения мутирования (I_{mut} , %) рассчитывали по формуле (4):

$$I_{mut} = 100 - \frac{N_1}{N_2} \times 100 \quad (4)$$

где N_1 – число ревертантов в опыте (добавление образцов гидролизатов), N_2 – число ревертантов в контроле.

Определение антимикробного действия гидролизатов и комплексов циклодекстринов с пептидами. Антимикробную активность гидролизатов белков молока и их комплексов включения с ЦД устанавливали импедиметрическим методом, как описано в предшествующем исследовании [24]. В эксперименте оценивали задержку роста тест-культур после внесения в среду культивирования опытных образцов гидролизатов /

комплексов на стадии лаг-фазы, когда клетки адаптируются к окружающей среде, что позволяет наиболее адекватно оценить ингибирующий эффект изучаемого соединения. В качестве испытуемых образцов использовали гидролизат, полученный согласно варианту технологического процесса № 5, а также гидролизаты сывороточных белков молока / молозива и их комплексов с ЦД, которые были приготовлены в соответствии с методикой, представленной в статье [25]. В качестве тест-объектов использовали музейные штаммы *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 из Национального Биоресурсного Центра «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» (НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва, Россия).

В качестве количественного критерия оценки антимикробного действия (АМД) применяли показатель степени ингибирования I_{mic} , %, рассчитываемый по формуле (5):

$$I_{mic} = \frac{IDT_2 - IDT_1}{IDT_2} \times 100 \quad (5)$$

где IDT_1 – время детекции роста тест-объекта в контроле, ч; IDT_2 – время детекции в опыте, ч. При значении $I_{mic} > 0$ исследуемое соединение обладает антимикробным действием: при $I_{mic} < 15$ % оказывает на тест-культуру слабое антимикробное действие, $15 < I_{mic} < 50$ % – умеренно выраженное антимикробное действие, $I_{mic} > 50$ % – выраженное антимикробное действие.

Органолептический анализ комплексов включения β -ЦД с пептидами сыворотки молока. В условиях Республиканского контрольно-испытательного комплекса по качеству и безопасности продуктов питания РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию» проведена сенсорная оценка гидролизата сывороточных белков молока (вариант технологического процесса № 5) и его комплексов с β -ЦД. Сенсорную оценку опытных образцов осуществляли в несколько этапов: ранжирование (согласно ГОСТ ISO 8586–2015 и ГОСТ ISO 8587–2015), испытания «А» – «Не А» (ГОСТ ISO 8588–2011) и испытание «дуо-трио» (ГОСТ ISO 10399–2015).

На этапе ранжирования (тест 1) готовили эталонные растворы кофеина (чистота 98,5 %; Acros Organics, Китай) в дистиллированной воде с концентрацией, указанной в таблице 3. Далее готовили растворы гидролизата сывороточных белков молока и соответствующих комплексов с массовой долей белка 5 % и содержанием β -ЦД 0,1 и 5 % в дистиллированной воде. Массовое соотношение гидролизата сывороточных белков молока : β -ЦД составляло 50 : 1 и 50 : 50. В эксперименте использовали свежеприготовленные образцы при температуре 45 °С.

Дегустационная комиссия осуществляла органолептическую оценку образцов. Экспертам предлагали растворы образцов в пластиковых стаканах в количестве 50 мл. Перед дегустацией рот тщательно прополаски-

Таблица 3. Приготовление эталонных растворов кофеина

Table 3. Caffeine standard solutions

Концентрация кофеина в эталонном растворе		Уровень горечи, балл	Описание уровня горечи
мМ	%		
10,0	0,20	5	Очень сильная горечь
7,3	0,15	4	Выраженная горечь
5,0	0,10	3	Умеренная горечь
3,0	0,06	2	Слабая горечь
1,3	0,03	1	Очень слабая горечь
0	0	0	Отсутствие горечи

вали дистиллированной водой. Раствор образца держали во рту в течение 10 с, затем удаляли и определяли уровень горечи. Горький вкус каждого образца сравнивали со стандартными растворами кофеина, которые оценивали по 5-балльной шкале, где оценку 5 баллов считали эквивалентной по горькому вкусу эталонному 10 мМ раствору кофеина (очень сильная горечь). Баллы 4, 3, 2 и 1 указывали на убывающую степень горечи по сравнению с эталонными растворами. Оценка 3 означала горечь, равнозначную 5 мМ раствору кофеина (умеренная горечь), а оценка 0 – отсутствие горького вкуса. После повторной оценки рассчитывали среднее значение уровня горечи для опытных образцов.

На следующем этапе осуществляли сенсорную оценку образцов с применением метода «А» – «Не А» (тест 2). Определяли пороговый уровень горечи в образцах с увеличением дозировки β -ЦД на 1–5 % в комплексе включения. Идентифицировали образцы вкусов, эквивалентные эталону «А» (горький) и отличные от эталона – образцы «Не А» (негорький). Набор для определения порога горького вкуса состоял из 5 закодированных проб. Набор для определения порога горького вкуса состоял из 5 закодированных проб. Набор содержал одну пробу (эталон «А») с горьким вкусом, а именно образец комплекса гидролизата сывороточных белков молока : β -ЦД при массовом соотношении 50 : 50, две пробы с горьким вкусом, идентичные эталону «А», и две пробы, отличные от эталона «А» («Не А1», «Не А2»). «Не А1» образец комплекса был приготовлен при массовом соотношении гидролизата сывороточных белков молока : β -ЦД, равном 50 : 51, «Не А2» – 50 : 55. При проведении испытаний представлены 10 комплектов по методу «А» – «Не А» для 5 испытателей. Каждому испытателю предоставляли по 2 комплекта образцов, маркированных трехзначным случайным кодом. В рамках определения критерия Хи-квадрата (X^2) без поправки Йейтса суммарное число ответов, согласно анкетам, составляло не менее 40.

На заключительном этапе (тест 3) образцы тестировали с применением метода «дуо-трио» и в каждой триаде определяли образцы, идентичные эталонам каждой триады. Выявляли минимальную достаточную концентрацию β -ЦД в составе комплексов для устранения горького вкуса. Подготовлены образцы комплексов

гидролизата сывороточных белков молока : β -ЦД при массовом соотношении 50 : 51 и 50 : 52. Пробы кодируют неповторяющимися случайными трехзначными числами. Испытателям в количестве 5 человек в произвольном порядке предоставлены 10 комплектов (по 2 триады). Испытатели оценивали образцы триадами и выделяли вариант, идентичный эталону. Для заключения об отсутствии заметного различия между сравниваемыми объектами согласно методу «дуо-трио» при использовании одностороннего критерия при α -риске, равном 0,05, необходимо было получить не менее 9 правильных результатов из 10 тестов.

Статистическая обработка данных. Для сравнения средних значений при различных уровнях факторов использовали одно-, двух- или трехфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим применением теста Даннетта, t -теста Стьюдента или теста Тьюки (Tukey's Honest Significant Difference, HSD) [30–33]. В случае сравнения нескольких выборок данных с контролем применяли тест Даннетта, при доверительной вероятности 0,95. Двухвыборочный t -тест Стьюдента использовали для сопоставления средних значений двух независимых выборок. С помощью теста Тьюки (для множественных сравнений) вычисляли различия между средними значениями уровней фактора при заданном уровне групповой доверительной вероятности (0,95). Для анализа экспериментальных данных применяли R функции *aov*, *DunnnettTest*, *t.test* и *TukeyHSD* из пакетов *stats* и *DescTools* [34, 35]. Статистические различия между группами считали значимыми при уровне $p < 0,05$ с поправкой на множественные попарные сравнения.

Результаты и их обсуждение

Подбор параметров ферментативного гидролиза сывороточных белков молока и фракционирования гидролизатов. Получены опытные образцы ферментативных гидролизатов сывороточных белков молока с глубокой степенью гидролиза. Технологическая схема включала приготовление раствора сывороточных белков молока (на основе концентрата сывороточных белков, КСБ) и его центрифугирование для удаления нерастворимой фракции, внесение фермента, ферментативный гидролиз, микрофильтрацию с отсечкой по M_w

0,2 мкм, ультрафильтрацию с отсечкой по M_w 10 кДа, тиндализацию, заморозку, лиофильную сушку. В таблице 4 представлено полное описание стадий для пяти различных вариантов получения гидролизатов.

Определены основные физико-химические показатели опытных образцов. Сравнительная характеристика параметров жидких образцов гидролизатов в ходе технологического процесса представлена в таблице 5. Согласно варианту 1 предполагалась потеря белковой фракции на стадии центрифугирования гидролизата и его микро/ультрафильтрации, а в случае варианта 2 – на этапе центрифугирования раствора концентрата сывороточных белков. Вместе с тем в отличие от варианта 1 микро/ультрафильтрация гидролизата не была затруднена (таблица 4).

В соответствии с вариантом 3 предполагалась потеря белковой фракции на стадии фильтрации гидролизата. Увеличение продолжительности гидролиза с 4 до 6 ч не привело к существенному возрастанию выхода пептидной фракции. В целом показана необходимость включения стадии центрифугирования раствора КСБ, что впоследствии обеспечивало эффективную микро/ультрафильтрацию гидролизата. Наряду с этим отличием варианта 4 от вариантов 1–3 является повышение исходного значения активной кислотности КСБ до 8,5 ед. рН (табл. 1).

По итогам выработок № 4–8 (варианты 4 и 5) следует отметить, что исходный объем гидролизата согласно методике составляет 530 мл, тогда как после микрофильтрации и ультрафильтрации – 400–450 и 300–350 мл соответственно, где 100 мл является слепым объемом для запуска систем микро- и ультрафильтрации (по 50 мл на каждый этап фильтрации). Помимо этого, 50 мл ультрафильтрата использовали для анализа физико-химических показателей образцов гидролизата.

Так, на стадии центрифугирования раствора концентрата сывороточных белков и микрофильтрации гидролизата потери составили 30–80 мл белкового раствора, или 5,7–15,1 %. Впоследствии 300–350 мл ультрафильтрата направляли на лиофильную сушку. Установлено активное вспенивание гидролизата в процессе сушки, что потенциально может привести к потере конечного продукта.

По итогам испытаний, предполагающим центрифугирование исходного раствора концентрата сывороточных белков, м.д. белка в сухом веществе жидких образцов гидролизатов составила 74,1 и 75,5–86,0 % согласно вариантам 2 и 4/5 соответственно. Центрифугирование обусловило удаление нерастворенных частиц, забивающих фильтры, что обеспечило сокращение времени микро/ультрафильтрации с >12 ч до 3–5 ч (таблица 4). Показатели опытных

Таблица 4. Органолептические и физико-химические показатели образцов жидких гидролизатов, полученных согласно вариантам 1–5

Table 4. Sensory and physicochemical parameters of liquid hydrolysates obtained using options 1–5

Наименование этапа техпроцесса	Значение показателя для выработки № / согласно варианту №							
	1 / 1	2 / 2	3 / 3	4 / 4	5 / 4	6 / 5	7 / 5	8 / 5
Центрифугирование раствора КСБ	не исп.	исп.	не исп.	исп.	исп.	исп.	исп.	исп.
Условия гидролиза (рН/ время, ч)	8,0 ± 0,1/ 4	8,0 ± 0,1/ 4	8,0 ± 0,1/ 6	8,5 ± 0,1/ 4	8,5 ± 0,1/ 4	8,5 ± 0,1/ 4	8,5 ± 0,1/ 4	8,5 ± 0,1/ 4
Эффективность микрофильтрации / время (ч)	низкая/ >12	высокая/ 3	низкая/ >12	высокая/ 4–5	высокая/ 4–5	высокая/ 4–5	высокая/ 4–5	высокая/ 4–5
Эффективность ультрафильтрации / время (ч)	низкая/ >12	высокая/ 4	низкая/ >12	высокая/ 4	высокая/ 4	высокая/ 4	высокая/ 4	высокая/ 4
Внешний вид и цвет	Жидкость светло-желтого цвета							
Тиндализация	не исп.	не исп.	не исп.	исп.	исп.	не исп.	не исп.	не исп.
Объем ультрафильтрата, мл	~250	~350	~300	~300	~300	~300	~330	~350
Массовая доля сухого вещества, %	4,2	4,3	4,0	5,3	4,1	4,2	4,2	3,9
рН до фильтрации	–	7,0	–	6,3	6,3	6,3	6,2	6,2
рН после фильтрации	7,4	8,1	7,2	7,2	6,8	7,1	7,2	7,2
Массовая доля общего белка, %	3,1	3,2	3,2	4,0	3,6	3,4	3,4	3,2
Массовая доля белка в сухом веществе, %	72,6	74,1	79,2	75,5	86,0	81,0	79,4	83,7
Количество сухого вещества после сушки, г	10,8	15,0	11,6	14,9	12,9	12,3	14,4	14,6

Таблица 5. Характеристика лиофильно высушенных образцов гидролизатов сывороточных белков молока

Table 5. Freeze-dried samples of whey protein hydrolysates

Наименование показателя	Значение показателя для выработки № / согласно варианту №							
	1 / 1	2 / 2	3 / 3	4 / 4	5 / 4	6 / 5	7 / 5	8 / 5
Массовая доля влаги, %	3,9	5,1	5,8	5,4	5,2	5,1	3,8	4,0
	4,9 ± 1,1 ^A				4,7 ± 0,7 ^A			
Массовая доля общего азота (TN, %)	12,4	11,8	11,9	11,9	12,1	12,0	12,7	12,4
	12,0 ± 0,4 ^A				12,2 ± 0,3 ^A			
Степень гидролиза (AN/TN, %)	25,7	23,3	24,5	29,4	34,6	30,6	34,3	27,0
	24,5 ± 1,4 ^A				31,2 ± 2,8 ^B			
Массовая доля белка, %	79,4	75,3	75,8	76,1	77,5	76,6	80,8	78,9
	76,8 ± 2,5 ^A				78,0 ± 1,7 ^A			
Массовая доля белка в сухом веществе, %	82,6	79,3	80,5	80,4	81,7	80,7	84,0	82,2
	80,8 ± 1,9 ^A				81,8 ± 1,3 ^A			

Примечание: результаты расчетов отражены как среднее значение ± половина ширины 95 % доверительного интервала (n = 3). Значения без общего буквенного индекса в пределах одной строки (^{A,B}) указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Note. All calculations in the table are mean values ± half the width of 95% confidence interval (n = 3). Values that do not share the same letter index (^{A,B}) in the line indicate significant differences at $p < 0.05$

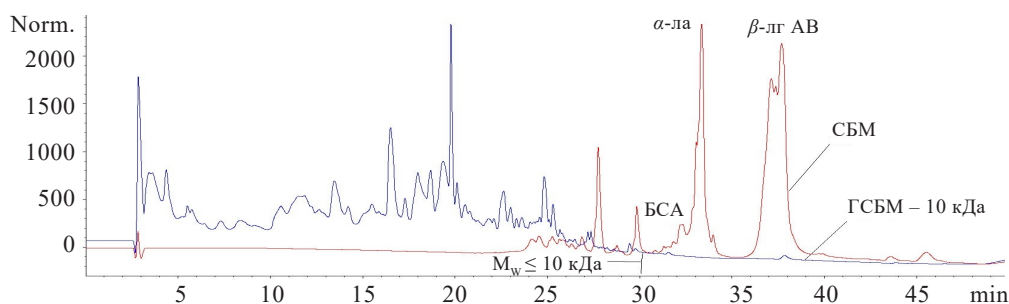


Рисунок 1. ВЭЖХ-профили нативных белков сыворотки молока, гидролизованных белков сыворотки молока, подвергнутых последующей ультрафильтрации с отсечкой по M_w 10 кДа (ГСБМ – 10 кДа)

Figure 1. High performance liquid chromatography profiles of native hydrolyzed whey proteins subjected to subsequent ultrafiltration, M_w cut-off limit = 10 kDa

образцов лиофильно высушенных гидролизатов отражены в таблице 6.

Технологический процесс в соответствии с вариантом 4/5 обеспечивает возрастание выхода пептидной фракции по сравнению с вариантом 2 (массовая доля белка в сухом веществе достигает 80,4–84,0 и 79,3 % соответственно), как показано в таблице 5. Данный эффект обусловлен повышением степени гидролиза сывороточных белков алкалазой с 23,3 до 27,0–34,6 % вследствие увеличения исходного значения активной кислотности раствора КСБ с 8,0 до 8,5 ед. рН.

В целом по итогам проведения опытных выработок подобраны условия подготовки белкового субстрата и ферментативного гидролиза сывороточных белков молока алкалазой, что позволило повысить выход пептидной фракции и эффективность микро- и ультрафильтрации гидролизата.

Технологический процесс получения гидролизата сывороточных белков молока с глубокой степенью гидролиза согласно оптимизированному (усовершенствованному) варианту состоит из следующих стадий:

- приготовление раствора сывороточных белков молока и его центрифугирование для удаления нерастворимой фракции;
- внесение фермента;
- ферментативный гидролиз;
- микрофильтрация с отсечкой по размеру пор 0,2 мкм;
- ультрафильтрация с отсечкой по молекулярной массе 10 кДа;
- тиндализация / отсутствие тиндализации;
- заморозка;
- лиофильная сушка.

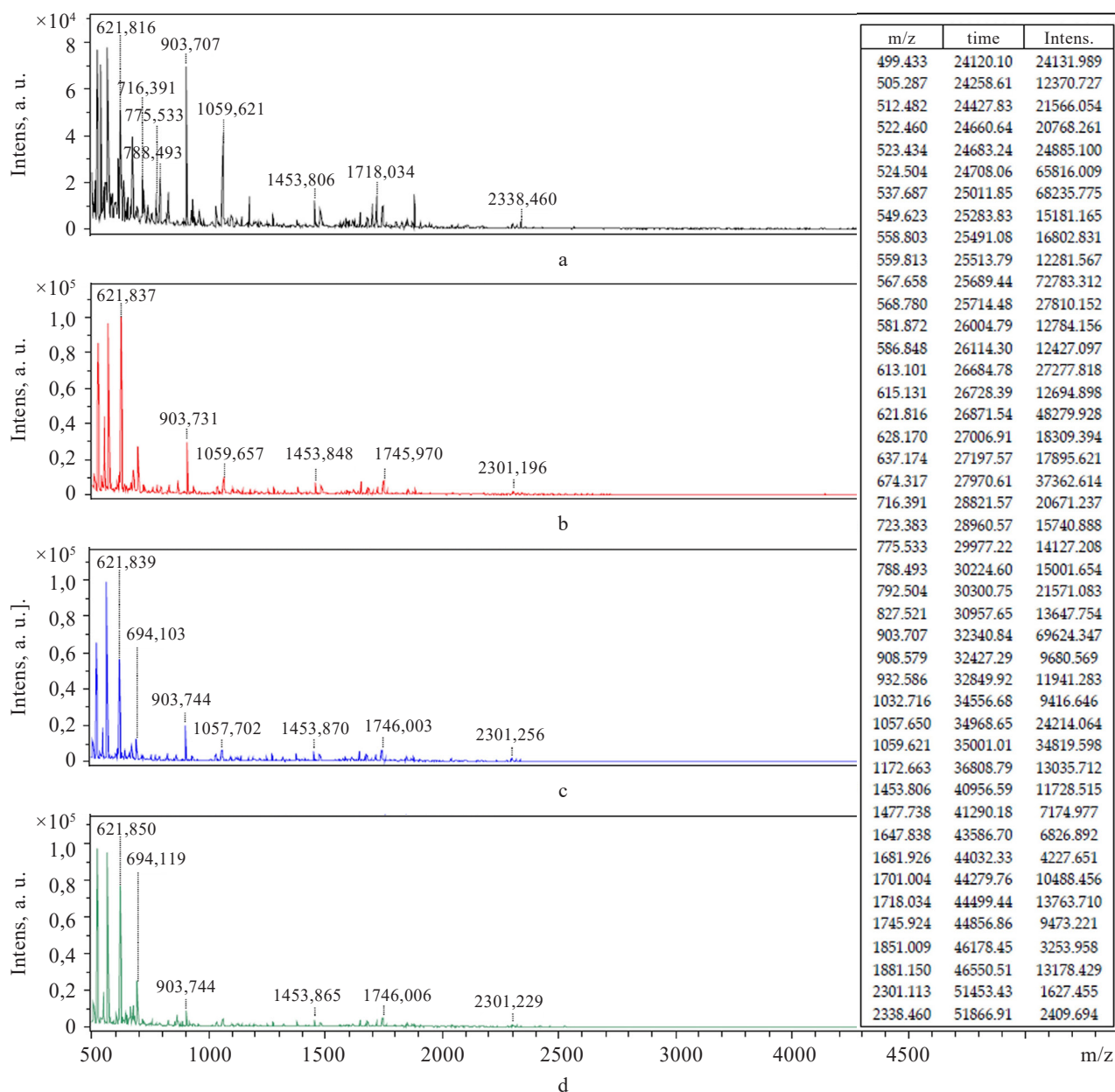
Оптимизированный вариант обеспечивает получение сухих ферментативных гидролизатов сывороточных белков молока с глубокой степенью гидролиза, в частности, с содержанием пептидной фракции в сухом веществе 81,8 ± 1,3 % и степенью гидролиза 31,2 ± 2,8 %. Так, микрофильтрация и ультрафильтрация являются необходимыми условиями получения фракций с заданными характеристиками (пептидным профилем), что отражено в ряде современных источников, посвященных получению биоактивных гидролизатов [9, 10].

ВЭЖХ-анализ гидролизованных белков сыворотки молока. Проведен анализ опытных образцов нативной сыворотки молока и ее ферментативного гидролизата (пептидной фракции с $M_w \leq 10$ кДа) с применением ВЭЖХ-анализа для установления их белково-пептидного состава. На рисунке 1 представлены ВЭЖХ-профили белков сыворотки молока и продуктов ее протеолиза алкалазой, подвергнутых последующей ультрафильтрации с отсечкой по M_w 10 кДа.

По данным предыдущих исследований, при фракционировании с осечкой по M_w 5/10 кДа продукты протео-

лиза элюируются с колонки вплоть до 25/30 мин разделения соответственно. Полученный образец гидролизата сывороточных белков молока представлен смесью пептидов с $M_w \leq 10$ кДа, причем преобладают продукты протеолиза с $M_w \leq 5$ кДа. В результате фракционирования достигается удаление из гидролизата остаточного количества нативных белков молока и полипептидов.

Пептидный профиль гидролизованной молочной сыворотки согласно данным хромато-масс-спектрометрии. Проведен анализ ферментативного гидролизата сывороточных белков, подвергнутого ультрафильтрации



Примечание: в таблице представлен список обнаруженных масс ионов для масс-спектрометрического профиля с концентрацией белка 1,9 мг/мл

Рисунок 2. Масс-спектры гидролизата и его разведений, содержащих 1,9 (а), 0,2 (б), 0,1 (с) и 0,05 (д) мг/мл белка, в пептидном диапазоне (m/z – 500–5000 Да)

Figure 2. Hydrolyzate and its dilutions with 1.9 (a), 0.2 (b), 0.1 (c), and 0.05 (d) mg/ml protein, mass spectra in peptide range (m/z) at 500–5,000 Da

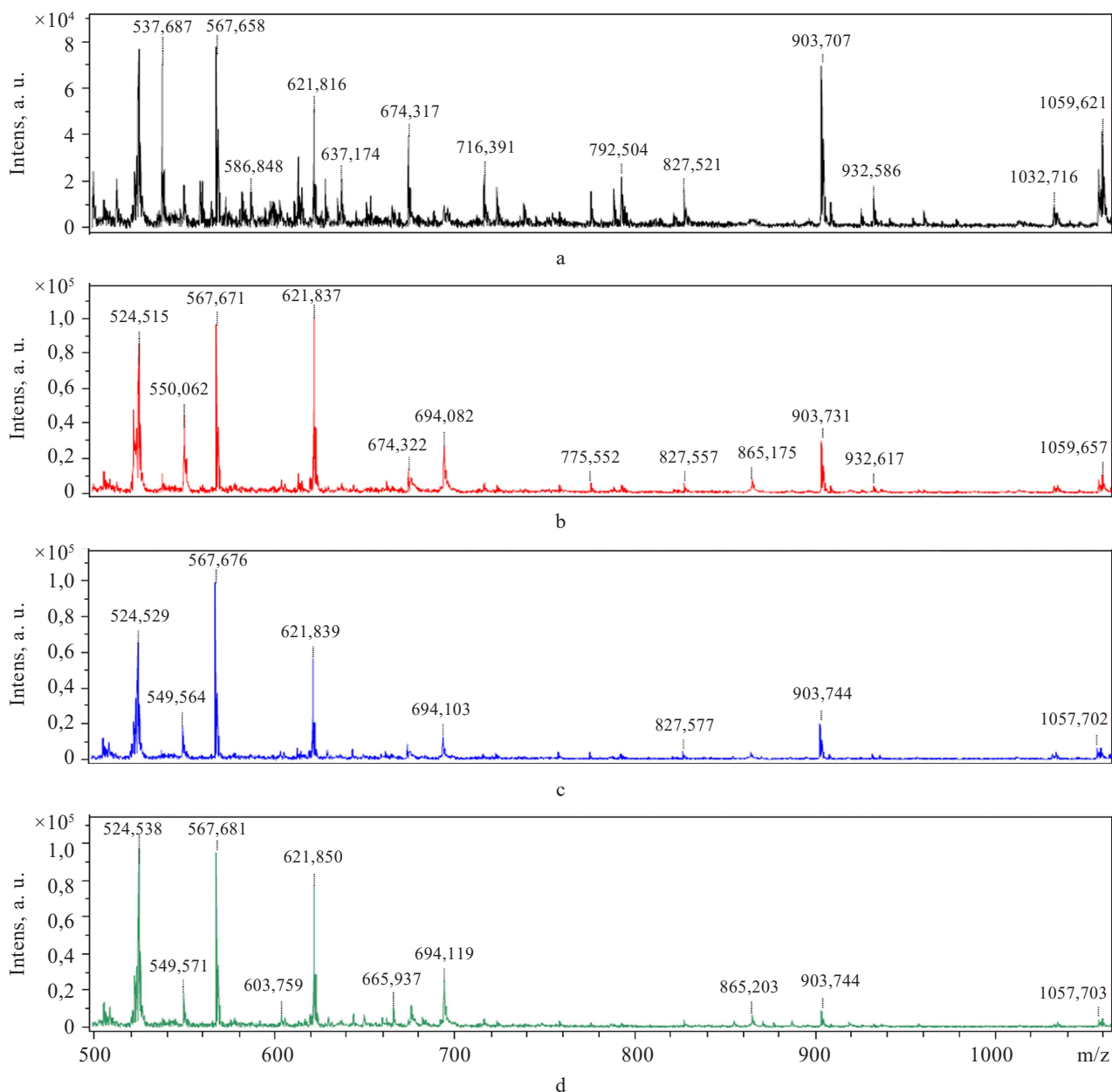


Рисунок 3. Масс-спектры гидролизата и его разведений, содержащих 1,9 (а), 0,2 (б), 0,1 (с) и 0,05 (д) мг/мл белка, в пептидном диапазоне (m/z – 500–1100 Да)

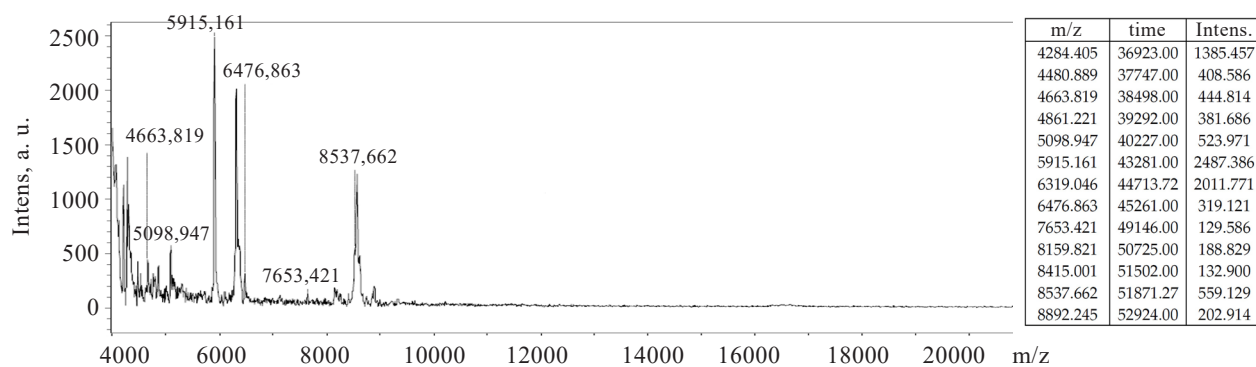
Figure 3. Hydrolyzate and its dilutions with 1.9 (a), 0.2 (b), 0.1 (c), and 0.05 (d) mg/ml protein, mass spectra in peptide range (m/z) at 500–1,100 Da

(отсечка по M_w 10 кДа) с применением масс-спектрометрии для установления его молекулярно-массового распределения. На рисунках 2–4 представлены МС-профили опытного образца в различном диапазоне m/z .

В пептидном диапазоне со значениями m/z от 500 до 5000 Да максимальная молекулярная масса выявленных пептидов составила 2301–2338 Да (рис. 2). Следует отметить, что относительно высокая интенсивность сигнала, достигающая $(3,5–7,3) \times 10^4$ отн. ед., характерна для пиков, которые соответствуют пептидам с M_w , равной 525, 538, 568, 622, 904 и 1060 Да (длине пептидной цепи из 5–10 аминокислотных остатков).

Указанные пептиды также обнаружены по итогам детального анализа МС-профилей при значениях m/z от 500 до 1100 Да (рис. 3).

Наряду с этим в диапазоне m/z , относящемся к низкомолекулярным белкам (4000–20000), выявлены пептиды с максимальной M_w 8892 Да (рис. 4). В спектре выделяются пики с относительно высокой интенсивностью сигнала, достигающей $(0,14–0,25) \times 10^4$ отн. ед., которые сопряжены со значениями m/z , равными 4284, 5915 и 6319 Да. Следует особо отметить, что интенсивность сигнала обнаруженных высокомолекулярных пиков существенно ниже, чем выявленных в пептидном



Примечание: в таблице представлен список масс ионов, обнаруженных в гидролизате

Рисунок 4. Масс-спектр гидролизата, содержащий 1,9 мг/мл белка, в диапазоне низкомолекулярных белков ($m/z - 4000-20000$ Да)

Figure 4. Hydrolyzate with 1.9 mg/ml protein, mass spectrum in the range of low molecular weight proteins (m/z) at 4000–20,000 Da

диапазоне. Следовательно, в опытном образце преобладают продукты протеолиза с MW менее 1100 Да, или пептиды длиной до 10 аминокислотных остатков.

Изучение антигенных, биоактивных и сенсорных свойств гидролизатов белков молочной сыворотки и их комплексов с циклодекстринами. Получены опытные образцы ферментативных гидролизатов и соответствующих комплексов включения β/γ -ЦД с пептидами молочной сыворотки (выработка № 8, таблица 5). Установили влияние комплексообразования с β/γ -ЦД на антигенные свойства пептидов, их антиоксидантное действие и уровень горечи.

Антиоксидантная активность (АОА) нативных пептидов молочной сыворотки в составе комплексов с ЦД. Изучена антиоксидантная активность нативных сывороточных белков (КСБ) и их ферментативных гидролизатов (фракций с отсечкой по M_w 10 кДа) с применением флуориметрического и спектрофотометрического подходов (ORAC- и ABTS-методы соответственно).

По данным флуориметрического метода после протеолиза алкалазой и фракционирования выявлено существенное возрастание радикал-восстанавливающих свойств гидролизатов молочной сыворотки, в частности их способности восстанавливать интенсивность флуоресценции флуоресцеина (табл. 5). В результате гидролиза алкалазой при концентрации 5 % и фильтрации (отсечка по M_w 10 кДа) установлено увеличение АОА расщепленной молочной сыворотки в 3,0 раза (образец гидролизата № 8).

Получены комплексы включения пептидов молочной сыворотки с β - и γ -ЦД. По данным флуориметрического метода установлено сопоставимое увеличение АОА гидролизата сыворотки в составе комплексов с β/γ -ЦД (в 1,79/1,90 раза соответственно). Возрастание антиоксидантных свойств полученных образцов может быть связано с увеличением растворимости пептидной фракции в структуре комплексов с β - и γ -ЦД. Следует отметить большой антиоксидантный потенциал

контрольного образца γ -ЦД, чем β -ЦД (табл. 6), очевидно обусловленный относительно высокой растворимостью γ -ЦД.

Согласно итогам спектрофотометрического анализа протеолиз алкалазой и последующая фильтрация обусловили достоверное увеличение АОА гидролизатов белков молока, а именно их способности к восстановлению катион-радикала ABTS⁺ (табл. 7). Протеолиз алкалазой при содержании фермента 5 % и фракционирование определили возрастание АОА молочной сыворотки в 5,34 и 5,31 раза для образцов № 5 и 8 соответственно. Различия между экспериментальными образцами недостоверны, что указывает на отсутствие влияния тиндализации на антирадикальное действие термообработанной пептидной фракции (образец № 5).

Методы анализа АОА разделяют на три класса в зависимости от механизма поглощения радикалов, основанного на (1) переносе атома водорода (hydrogen atom transfer, HAT), (2) переносе одного электрона с последующей передачей протона (single electron transfer followed by proton transfer, SET-PT) и (3) последовательной потере протона при переносе электрона (sequential proton loss by electron transfer, SPLET) [36].

Предпочтительным методом HAT является ORAC-метод, который применяют для определения как гидрофильных, так и липофильных антиоксидантов (АО) [28]. Подходы, связанные с переносом одного электрона, в частности, оценка АОА в Тролокс-эквиваленте (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC), основаны на неконкурентном одноэлектронном переносе от антиоксиданта к окислителю (радикалам, металлам и карбонильным группам). В системе TEAC в результате окисления ABTS образуется катион-радикал. Окрашенный ABTS⁺ быстро реагирует с антиоксидантом, и его восстановление приводит к уменьшению окраски. Степень обесцвечивания рассчитывают по отношению к стандарту (тролоксу) [29].

Таблица 6. Показатели антиоксидантной активности нативных и расщепленных белков сыворотки молока (образец № 8), комплексов β/γ -ЦД с пептидами по данным ORAC-методаTable 6. Antioxidant activity of native and cleaved whey proteins (sample 8), β/γ -cyclodextrin complexes with peptides by ORAC

Наименование образца	IC ₅₀ (FI), мкг белка/мл	IC ₅₀ (нативный белок)/IC ₅₀ (гидролизат)	IC ₅₀ (гидролизат)/IC ₅₀ (комплекс)
СБМ	105,9 ± 3,8 ^a	1,0 ^a	–
ГСБМ–5%–10кДа	35,4 ± 0,7 ^b	2,99 ± 0,15 ^b	1,0 ^a
ГСБМ–5%–10кДа+ β -ЦД	19,8 ± 1,0 ^c	5,37 ± 0,44 ^c	1,79 ± 0,09 ^b
ГСБМ–5%–10кДа+ γ -ЦД	18,6 ± 0,5 ^c	5,69 ± 0,29 ^c	1,90 ± 0,08 ^b
β -ЦД (контроль)	104,9 ± 2,3 ^a	–	–
γ -ЦД (контроль)	79,8 ± 1,0 ^d	–	–

Примечание: СБМ – белки сыворотки молока; ГСБМ – гидролизат сывороточных белков; 5 % – гидролиз при соотношении фермент (алкалаза) : субстрат, равном 5 %; 10 кДа – фильтрация с отсечкой по M_w 10 кДа. Данные представлены как среднее значение ± половина ширины 95 % доверительного интервала (n = 3). Значения без общей буквы (^{a-d}) в пределах одного столбца указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Note. СБМ – milk whey proteins; ГСБМ – whey protein hydrolysate; 5% – hydrolysis with a 5% enzyme (alcalase) to substrate ratio; 10 кДа – filtration with an M_w cut-off at 10 kDa. The data are presented as mean values ± half the width of 95% confidence interval (n = 3). Values that do not share the same letter index (^{a-d}) in the column indicate significant differences at $p < 0.05$

Таблица 7. Показатели антиоксидантной активности нативных и расщепленных белков сыворотки молока, их гидролизатов и комплексов β/γ -ЦД с пептидами по данным ABTS-методаTable 7. Antioxidant activity of native and cleaved whey proteins (sample 8), β/γ -cyclodextrin complexes with peptides by ORAC

Наименование образца	IC ₅₀ (ABTS), мкг белка/мл	TEAC, мкмоль тролокса/мкг белка	IC ₅₀ (нативный белок)/IC ₅₀ (гидролизат)
СБМ	96,9 ± 2,1 ^a	0,206 ± 0,004 ^a	1,00 ^a
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 5)	18,1 ± 0,3 ^b	1,101 ± 0,011 ^b	5,34 ± 0,16 ^b
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8)	18,3 ± 0,1 ^b	1,094 ± 0,004 ^b	5,31 ± 0,15 ^b
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8) + β -ЦД	18,5 ± 0,2 ^b	1,081 ± 0,006 ^b	5,24 ± 0,18 ^b
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8) + γ -ЦД	18,3 ± 0,1 ^b	1,090 ± 0,009 ^b	5,29 ± 0,16 ^b
β -ЦД (контроль)	0	–	–
γ -ЦД (контроль)	0	–	–

Примечание: СБМ – белки сыворотки молока; ГСБМ – гидролизат сывороточных белков; 5 % – гидролиз при соотношении фермент (алкалаза) : субстрат, равном 5 %; 10кДа – фильтрация с отсечкой по M_w 10 кДа. Данные представлены как среднее значение ± половина ширины 95 % доверительного интервала (n = 3). Значения без общей буквы (^{a, b}) в пределах одного столбца указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Note. СБМ – milk whey proteins; ГСБМ – whey protein hydrolysate; 5% – hydrolysis with a 5% enzyme (alcalase) to substrate ratio; 10 кДа – filtration with an M_w cut-off at 10 kDa. The data are presented as mean values ± half the width of 95% confidence interval (n = 3). Values that do not share the same letter index (^{a, b}) in the column indicate significant differences at $p < 0.05$

В отличие от ORAC-метода, последующее комплексообразование гидролизата молочной сыворотки (образец № 8) с β/γ -ЦД не оказало влияния на способность восстанавливать ABTS⁺ в тест-системе. Полученные различия при использовании флуориметрического и спектрофотометрического подходов могут быть связаны с особенностями механизмов реализации антиоксидантного действия в сравниваемых тест-системах.

Получение биоактивных гидролизатов сывороточных белков молока с применением алкалазы, обладающих высокой АОА, согласуется с данными литературы [37, 38]. Увеличение радикал-восстанавливающих свойств различных биоактивных соединений в составе

комплексов включения с ЦД подтверждается современными исследованиями [39–41]. Вместе с тем эксперименты по положительному эффекту взаимодействия с ЦД на антирадикальный эффект включаемых пептидов молока отражены в предшествующей работе [25].

Антигенные свойства нативных и гидролизованных сывороточных белков молока, комплексов включения ЦД в с пептидами. Изучены антигенные свойства (или способность связываться с антителами) нативной сыворотки молока, ее ферментативных гидролизатов (образцы № 5 и № 8), полученных в результате расщепления алкалазой (при соотношении фермент : субстрат, равном 5 %) и фильтрации с отсечкой по M_w,

равной 10 кДа. С применением конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) определено остаточное количество основного аллергена молока (β -лг) в гидролизатах белков молока и соответствующих фракциях.

В результате протеолиза сыворотки молока алкалазой и последующей ультрафильтрации (отсечка по M_w 10 кДа) установлено снижение количества нативного β -лг в 265 раз (табл. 8). Так, гидролиз алкалазой направлен на расщепление в белковых макромолекулах областей антигенных детерминант. Вместе с тем фильтрация обуславливает снижение остаточной антигенности (ОА) образцов в связи с удалением следового количества нативного β -лг, а также продуктов его частичного протеолиза, содержащих антигенные детерминанты.

Применение тиндализации обеспечило дополнительное уменьшение связывания гидролизата (образец № 5) с антителами против β -лг (в 2,2 раза). Минимальным уровнем остаточной антигенности среди образцов молочной сыворотки характеризуется фильтрат, содержащий пептидную фракцию и подвергнутый тиндализации, что составляет 0,17 % (снижение ОА в 589 раз). Не установлено достоверное влияние комплексообразования с циклодекстринами на уровень ОА включенных пептидных фракций.

Различный уровень антигенности расщепленных образцов молочной сыворотки (образцы № 5 и № 8) обусловлен применением тиндализации, которая определяет дополнительное снижение показателя ОА образца № 5 в результате термоденатурации конформационных антигенных детерминант. Для комплексов ЦД в с пептидной фракцией не установлено достоверное различие с исходным гидролизатом сывороточных белков. Так, применение алкалазы при соотношении субстрат : фермент, равном 5 %, ультрафильтрации

(10 кДа) и тиндализации обеспечивают максимальное снижение ОА гидролизатов сыворотки молока.

Известный способ получения гидролизата сывороточных белков включает протеолиз с помощью алкалазы и ультрафильтрацию с отсечкой по M_w , равной 20 кДа [17]. Авторы сообщают о существенном снижении антигенности полученной пептидной фракции. Вместе с тем используемой разделяющей способности фильтров (отсечка 20 кДа) недостаточно для удаления остаточного количества нерасщепленных сывороточных белков, так как M_w преобладающих белков сыворотки β -лг/ α -ла составляет 18,4/14,2 кДа. Другой подход предусматривает применение протеаз алкалазы или Protamex и ультрафильтрации (отсечка 10 кДа) [18]. По итогам испытаний выход пептидной фракции достигает 80 %, наряду с существенным снижением ее антигенных свойств. Известен способ получения гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза, предполагающий гидролиз флейворзимом, а также последующую ультрафильтрацию с отсечкой по M_w 2 и 5 кДа, что обеспечивает изготовление гидролизата с остаточной антигенностью (массовой долей антигенов молочной сыворотки) не более $1,0 \times 10^{-5}$ [19].

Согласно предыдущим исследованиям и патентным данным ультрафильтрация с отсечкой по M_w , равной 10 кДа и менее, является эффективным способом удаления остаточного количества нерасщепленных белков-аллергенов молока и продуктов их частичного протеолиза, способных взаимодействовать с антителами [18, 19, 23]. В целом использование алкалазы обуславливает получение гипоаллергенных гидролизатов белков молока, что отражено в современных источниках литературы [17–19, 42–44].

В настоящей работе и в предшествующем исследовании впервые представлены данные об антигенных

Таблица 8. Оценка антигенности нативных и гидролизованных белков сыворотки молока и их комплексов с β - и γ -циклодекстрином

Table 8. Antigenicity of native and hydrolyzed whey proteins and their complexes with β - and γ -cyclodextrin

Наименование образца	Остаточная антигенность (ОА), %	Остаточная антигенность (нативный белок)/ Остаточная антигенность (гидролизат)
СБМ	100 ^a	1,00 ^a
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 5)	0,170 ± 0,01 ^b	589 ± 31 ^b
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8)	0,380 ± 0,04 ^c	265 ± 29 ^c
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8) + β -ЦД	0,425 ± 0,04 ^c	237 ± 20 ^c
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8) + γ -ЦД	0,395 ± 0,02 ^c	254 ± 14 ^c
β -ЦД (контроль)	0	–
γ -ЦД (контроль)	0	–

Примечание: СБМ – белки сыворотки молока; ГСБМ – гидролизат сывороточных белков; 5 % – гидролиз при соотношении фермент (алкалаза) : субстрат, равном 5 %; 10 кДа – фильтрация с отсечкой по M_w 10 кДа. Данные расчетов отражены как среднее значение ± половина ширины 95 % доверительного интервала (n = 3). Значения без общей буквы (^{a-c}) в пределах одного столбца указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Note. СБМ – milk whey proteins; ГСБМ – whey protein hydrolysate; 5% – hydrolysis with a 5% enzyme (alcalase) to substrate ratio; 10 кДа – filtration with an M_w cut-off at 10 kDa. The data are presented as mean values ± half the width of 95% confidence interval (n = 3). Values that do not share the same letter index (^{a-c}) in the column indicate significant differences at $p < 0.05$

свойствах пептидов молока при взаимодействии с ЦД [25]. Следует отметить, что для комплексов включения, содержащих пептиды с $M_w \leq 10$ кДа, показан уровень ОА, сопоставимый с исходным гидролизатом (0,38 %). Вместе с тем взаимодействие ЦДв с фракцией пептидов, которая получена при отсечке по M_w 5 кДа, определило снижение ее ОА [25]. Очевидно, это связано с относительно низкой ОА низкомолекулярной пептидной фракции (0,047 %), на уровне которой комплексообразование оказывает значимый эффект.

Влияние комплексообразования с циклодекстринами на антимутагенные свойства пептидов сыворотки молока. Проведены исследования антимутагенного действия опытного образца гидролизата сывороточных белков молока (образец № 8), а также комплексов пептидов с β - и γ -циклодекстрином. Антимутагенный потенциал опытных образцов оценивали в тесте Эймса, основанном на учете частоты обратных мутаций к прототрофности по гистидину для штаммов *S. typhimurium*.

На предварительном этапе установлено, что образцы гидролизатов и комплексов включения в диапазоне концентраций 0,03–0,5 мг белка на чашку не проявляли бактериостатический или бактерицидный эффект в отношении тест-моделей *S. typhimurium* TA 98 и TA 100, что могло бы привести к получению ложноположительных результатов. Количество ревертантов в контроле (контроль негативный) было в пределах колебаний спонтанного уровня для данных штаммов. Ответ штаммов на стандартные мутагены выявлен в пределах стандартных уровней. Статистически значимое снижение индуцированного мутирования отмечено для образца гидролизата и его комплексов включения с циклодекстринами. Выявленные различия в числе ревертантов в контроле и опыте были статистически достоверны в диапазоне изученных концентраций.

Снижение уровня индуцированного мутирования при внесении опытных образцов в максимальной концентрации (0,5 мг белка на чашку) достигало 19,1–

21,4 % в тест-системе с *S. typhimurium* TA 98 и 13,9–26,2 % – в эксперименте с *S. typhimurium* TA 100 (табл. 9). Установлено, что разница в уровне антимутагенной активности пептидов сыворотки молока и их комплексов не достоверна при тестировании на штамме *S. typhimurium* TA 98 (мутации типа сдвига рамки считывания).

В эксперименте с *S. typhimurium* TA 100 (мутации типа замены пар оснований) показано достоверное повышение уровня индуцированного мутирования комплексов включения с пептидами относительно исходного образца гидролизата (табл. 9). Достигнуто увеличение антимутагенного эффекта в 1,3/1,9 раза комплексов включения с β/γ -ЦД соответственно при концентрации пептидов 0,5 мг белка на чашку. Возможно, выявленный эффект обусловлен большей растворимостью γ -ЦД и повышением растворимости включенных пептидных фракций.

В целом в результате комплексообразования β/γ -ЦД с гидролизатом степень индуцированного мутирования пептидов молочной сыворотки сохраняется на исходном уровне (в тест-системе с *S. typhimurium* TA 98) либо отмечается увеличение антимутагенного действия (при тестировании на штамме TA 100).

Известны данные литературы о подтвержденном антимутагенном действии белков животного происхождения, подвергнутых бактериальной ферментации и расщеплению протеолитическими ферментами [20, 45, 46]. Проведенные исследования при тестировании пептидной фракции сывороточных белков молока (фильтрация с отсечкой по M_w 5 кДа) на штамме *S. typhimurium* TA 98 не отметили достоверного влияния комплексообразования с β/γ -ЦД на антимутагенный эффект гидролизата, что отражено и в настоящей работе [24, 25].

Эффект комплексообразования с циклодекстринами на антимикробные свойства гидролизата белков молочной сыворотки. Изучены антимикробные свойства образца гидролизата молочной сыворотки (фильтрат

Таблица 9. Антимутагенное действие гидролизованной молочной сыворотки (образец № 8), комплексов β/γ -ЦД с пептидами в тесте Эймса

Table 9. Antimutagenic effect of hydrolyzed whey (sample 8) and β/γ -cyclodextrin complexes with peptides by Ames test

Наименование образца	Уровень снижения мутирования, %, (0,03–0,5 мг белка на чашку)	
	<i>S. typhimurium</i> TA 98	<i>S. typhimurium</i> TA 100
ГСБМ–5 %–10 кДа	11,2–19,1 ^{A, I}	10,0–13,9 ^{A, II}
ГСБМ–5 %–10 кДа+ β -ЦД	16,4–20,0 ^{A, I}	13,8–17,7 ^{B, II}
ГСБМ–5 %–10 кДа+ γ -ЦД	11,0–21,4 ^{A, I}	17,8–26,2 ^{C, II}
β/γ -ЦД (контроль)	0	0

Примечание: ГСБМ – гидролизат сывороточных белков молока; 5 % – гидролиз при соотношении фермент (алкалаза) : субстрат, равном 5 %; 10 кДа – ультрафильтрация с пропускающей способностью 10 кДа. Результаты расчетов представлены как среднее значение ($n = 3$). Значения без общего буквенного индекса (^{A–C}) в пределах одного столбца и строки (^{I, II}) указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Note. ГСБМ – whey protein hydrolysate; 5% – hydrolysis with a 5% enzyme (alcalase) : substrate ratio; 10 kDa – filtration with an M_w cut-off at 10 kDa. The data are presented as mean values \pm half the width of 95% confidence interval ($n = 3$). Values that share neither the same letter index (^{A–C}) in the column nor the same number (^{I–II}) in the line indicate significant differences at $p < 0.05$

с отсечкой по M_w 10 кДа) и его комплексов включения с β/γ -ЦД в отношении грамотрицательного тест-штамма *Escherichia coli* ATCC 8739 и грамположительного тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Оценивали задержку роста тест-культур после добавления в ростовую среду пептидов молочной сыворотки, соответствующих комплексов включения и контрольных образцов β/γ -ЦД. Установлено увеличение показателя времени детекции IDT при культивировании популяции тест-штаммов *E. coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538 в среде с гидролизатом сывороточных белков молока и его комплексами включения по сравнению с показателем IDT в контроле. В таблице 10 отражены результаты оценки антимикробной активности гидролизата и его комплексов с β/γ -ЦД в отношении тест-штаммов.

Задержка роста *E. coli* ATCC 8739 составила 1,3–2,0 ч при добавлении в питательную среду гидролизата белков молочной сыворотки и его комплексов включения, что указывает на умеренно выраженное действие (показатель *I* составил 18,6–27,4 %). Достоверное увеличение антимикробного эффекта (в 1,4 раза) показано после комплексообразования пептидов с β -ЦД.

В отношении золотистого стафилококка (*S. aureus* ATCC 6538) действие исследуемого образца гидролизата молочной сыворотки, а также комплекса γ -ЦД с пептидами было слабо выражено (10,6 и 11,8 % задержки роста популяции), что проявилось в увеличении показателя IDT на 0,8 и 0,9 ч соответственно по сравнению с контролем. Задержка роста на 1,2 ч и соответственно умеренный уровень антибактериального действия (15,2 %) характерны для комплекса включения β -ЦД с пептидами молочной сыворотки.

В целом гидролизат сывороточных белков молока и его комплексы включения более активны в отношении грамотрицательного тест-штамма *E. coli* ATCC 8739, чем грамположительного штамма *S. aureus* ATCC 6538. Комплексообразование β -ЦД с пептидами сыворотки молока обусловило возрастание их АМД в отношении *E. coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538. Следует отметить, что антибактериальный эффект гидролизатов с γ -ЦД сохранялся на уровне, характерном для пептидных фракций.

С учетом проведенных ранее исследований (таблица 11) по изучению АМД-комплексов включения пептидов молока с β -ЦД и новым данным, связанным с изучением биоактивности комплексов с γ -ЦД, тестируемые образцы обладают более выраженным эффектом в отношении *E. coli* ATCC 8739, чем *S. aureus* ATCC 6538 [24]. Антибактериальные свойства пептидной фракции молозива более выражены, чем пептидов сывороточных белков. Максимальная задержка роста *E. coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538 установлена при внесении в среду культивирования комплекса β -ЦД с пептидами молозива. Взаимодействие β -ЦД с пептидами сыворотки молока и молозива (филтраты с отсечкой по M_w 5 кДа) определило возрастание их АМД в отношении тестируемых штаммов, что согласуется с итогами исследования гидролизата, подвергнутого фильтрации с отсечкой по M_w 10 кДа (образец № 8).

Изучение антимикробных свойств ферментативных белковых гидролизатов является актуальным направлением биотехнологии продуктов питания, что подтверждается рядом современных работ. В частности, получен трипсиновый гидролизат казеина с выражен-

Таблица 10. Уровень антимикробного действия (АМД) гидролизованной молочной сыворотки (образец № 8), комплексов β/γ -ЦД с пептидами в отношении тест-штаммов *E. coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538

Table 10. Antimicrobial action of hydrolyzed whey (sample 8) and β/γ -cyclodextrin complexes with peptides against *E. coli* ATCC 8739 and *S. aureus* ATCC 6538

Наименование образца	Количество образца, мг белка на чашку	Показатель степени ингибирования (ИАМД) в отношении тест-штаммов, %	
		<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8)	0,5	19,4 ± 1,3 ^{A,1} (умеренно выраженное АМД)	10,6 ± 1,0 ^{A,II} (слабое АМД)
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8) + β -ЦД	0,5	27,4 ± 2,5 ^{B,1} (умеренно выраженное АМД)	15,2 ± 1,6 ^{B,II} (умеренно выраженное АМД)
ГСБМ–5 %–10 кДа (образец № 8) + γ -ЦД	0,5	18,6 ± 1,4 ^{A,1} (умеренно выраженное АМД)	11,8 ± 1,3 ^{A,II} (слабое АМД)
β/γ -ЦД (контроль)	0,5	0	0

Примечание: ГСБМ – гидролизат сывороточных белков молока; АМД – антимикробное действие; 5 % – гидролиз при соотношении фермент (алкалаза) : субстрат, равном 5 %; 10 кДа – фильтрация с пропускающей способностью 10 кДа. Результаты расчетов отражены как среднее значение ± половина ширины 95 % доверительного интервала (n = 3). Значения без общего буквенного индекса в пределах одного столбца (^{A, B}) и строки (^{I, II}) указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Note. ГСБМ – milk whey protein hydrolysate; АМД – antimicrobial action; 5% – hydrolysis with an enzyme (alcalase) : substrate ratio of 5%; 10 kDa – filtration with a transmission capacity of 10 kDa. Calculation results are expressed as the mean ± half the width of the 95% confidence interval (n = 3). Values that share neither the same letter index (^{A-C}) in the column nor the same number (^{I-II}) in the line indicate significant differences at $p < 0.05$.

Таблица 11. Уровень антимикробного действия глубоких гидролизатов сывороточных белков молока и молозива (фильтраты с отсечкой по M_w 5 кДа) и их комплексов включения с β/γ -ЦД в отношении тест-штаммов *E. coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538

Table 11. Antimicrobial action of deep hydrolysates of whey proteins of milk and colostrum (cut-off level MW – 5 kDa) and their inclusion complexes with β/γ -cyclodextrin against *E. coli* ATCC 8739 and *S. aureus* ATCC 6538

Наименование образца	Количество образца, мг сухого вещества на чашку	Показатель степени ингибирования (ИАМД) в отношении тест-штаммов, %	
		<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
ГСБМ–5 кДа	1,0	16,2 ± 1,0 ^{A,1} (умеренно выраженное АМД)	7,1 ± 0,5 ^{A,II} (слабое АМД)
ГБМ–5 кДа	1,0	40,4 ± 2,7 ^{B,1} (умеренно выраженное АМД)	13,3 ± 0,9 ^{B,II} (слабое АМД)
ГСБМ–5 кДа+ β/γ -ЦД	1,0	22,2 ± 1,4 ^{C,1} /16,1 ± 1,1 ^{A,1} (умеренно выраженное АМД)	8,4 ± 0,6 ^{C,II} /8,8 ± 0,6 ^{C,II} (слабое АМД)
ГБМ–5 кДа+ β/γ -ЦД	1,0	67,0 ± 3,8 ^{D,1} /38,5 ± 2,4 ^{B,1} (выраженное/умеренно выраженное АМД)	17,5 ± 1,2 ^{D,II} /13,1 ± 1,0 ^{B,II} (умеренно выраженное / слабое АМД)

ГСБМ – гидролизат сывороточных белков молока; АМД – антимикробное действие ГБМ – гидролизат белков молозива; 5 % – гидролиз при соотношении фермент (алкалаза) : субстрат, равном 5 %; 5 кДа – фильтрация с пропускающей способностью 5 кДа; сух. вещ. – сухое вещество. Результаты расчетов отражены как среднее значение ± половина ширины 95 % доверительного интервала (n = 3). Значения без общего буквенного индекса в пределах одного столбца (^{A-D}) и строки (^{I,II}) указывают на достоверные различия при p < 0,05. Note. ГСБМ – milk whey protein hydrolysate; АМД – antimicrobial action ГБМ – colostrum protein hydrolysate; 5% – hydrolysis with a 5% enzyme (alkalase) to substrate ratio; 5 kDa – filtration with a transmission capacity of 5 kDa; сух. вещ. – solids. Data are expressed as mean values ± half the width of 95% confidence interval (n = 3). Values that share neither the same letter index (^{A-C}) in the column nor the same number (^{I-II}) in the line indicate significant differences at p < 0.05

ными антиоксидантными свойствами и антимикробным действием в отношении *E. coli*, *S. typhimurium* и *Bacillus cereus*, тогда как в эксперименте с *S. aureus* биоактивность не выявлена [47]. Показано, что грибные протеазы, выделенные из *Aspergillus oryzae* и *A. flavipes*, при внесении в козье и коровье молоко обеспечивают высвобождение антиоксидантных и антимикробных пептидов [48]. В целом пептиды с антимикробным эффектом выявлены в результате ферментации белков молока бактериями-пробиотиками, а также при расщеплении протеазами в желудочно-кишечном тракте и в технологическом процессе производства гидролизатов [49–51]. Сообщается о положительном влиянии комплексообразования с β -ЦД на устойчивость к протеолизу антимикробного пептида низина, а также на биоактивность и безопасность ультракоротких антимикробных пептидов [52, 53, 54].

Сенсорная оценка гидролизата сывороточных белков молока и комплексов включения β -циклодекстрина с пептидами. На базе Республиканского контрольно-испытательного комплекса по качеству и безопасности продуктов питания РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию» проведена сенсорная оценка гидролизата сывороточных белков молока и его комплексов включения с β -ЦД, включающая несколько этапов: (1) ранжирование, (2) испытания «А» – «Не А» и (3) испытание «дуо-трио».

На первом этапе (тест 1) участники комиссии проводили определение органолептических характеристик методом шкал и категорий (ранжирование) в соответст-

вии с разработанными анкетами. Средняя оценка интенсивности горького вкуса чистого гидролизата по шкале горечи составила 4,5 балла, комплексов включения, полученных при массовом соотношении гидролизата сывороточных белков молока : β -ЦД, равном 50 : 1 – 4 балла, а в случае 50 : 50 – 1 балл.

Так, при минимальном внесении циклодекстрина показано снижение интенсивности горечи с 4,5 до 4,0 баллов. Наряду с этим при соотношении компонентов 50 : 50 не достигнута полная маскировка горького вкуса. Для исключения горечи следовало увеличить дозировку комплексообразователя и провести повторную сенсорную оценку. В тесте 1 отобранные испытатели идентифицировали, помимо горечи, оттенки вкусовых ощущений, в частности: сладость, молочность, сливочность, химический привкус, сывороточный вкус.

При проведении теста 2 подготовлены образцы при увеличении дозы β -ЦД на 1 и 5 %. Для проверки гипотезы о действительно существующем различии между пробами комплексов при массовом соотношении 50 : 50 (горький вкус) и новыми пробами 50 : 51 (негорький вкус), 50 : 55 (негорький вкус) применяли сенсорную оценку методом «А» – «Не А».

Согласно результатам испытаний пробы комплексов при увеличении дозировки β -ЦД на 1 и 5 % не обладают горьким вкусом (массовое соотношение гидролизата сывороточных белков молока : β -ЦД – 50:51 и 50:55). Показаны достоверные различия относительно эталона А (50 : 50), для которого характерен горький вкус.

На заключительном этапе (тест 3) устанавливали минимальную достаточную концентрацию β -ЦД для устранения горького вкуса гидролизата. Образцы тестировали с применением метода дуо–трио и в каждой триаде определяли образцы, идентичные эталонному.

При выполнении теста 3 подготовлены образцы комплексов с максимально близкими концентрациями ЦД к нижнему диапазону, исследуемому на предыдущем этапе, а именно, при массовом соотношении ГСБМ : β -ЦД, равном 50 : 51 и 50 : 52. По результатам испытаний подтверждено отсутствие различий во вкусе между пробами комплексов с содержанием компонентов 50 : 51 и 50 : 52.

В целом определена минимальная дозировка β -ЦД для удаления горького вкуса. Она достигается при массовом соотношении гидролизата сывороточных белков молока : β -ЦД, равном 50 : 51. Уровень горечи данной композиции составил 0,5 балла в соответствии с применяемой шкалой горького вкуса.

Образцы белковых гидролизатов обладают различным уровнем горечи в зависимости от источника белкового субстрата, степени гидролиза и особенностей технологического процесса. Минимальная достаточная дозировка β -ЦД для устранения горького вкуса тестируемого гидролизата определяется опытным путем.

В предыдущем исследовании также отмечено существенное снижение уровня горечи гидролизата сывороточных белков и молозива после взаимодействия с β -ЦД [24]. Улучшение органолептических показателей гидролизатов белков гороха и лосося также выявлено после внесения β -ЦД [15, 16]. В современных обзорных источниках представленный подход определен как перспективный способ улучшения органолептических свойств белковых гидролизатов для применения в фармацевтической и пищевой промышленности [55, 56].

Выводы

Впервые в настоящей работе проведено комплексное сравнительное исследование антиоксидантного эффекта, антигенных свойств, антимуtagenного и антимикробного действия, органолептических показателей (уровня горечи) глубокого ферментативного гидролизата белков молочной сыворотки и его комплексов включения с β/γ -ЦД.

Представлены опытные образцы глубоких гидролизатов сывороточных белков молока, полученные с применением алкалазы и последующей микро- и ультрафильтрации (отсечка 10 кДа). По данным МС-анализа в гидролизате, изготовленном согласно оптимизированному способу, преобладают продукты протеолиза с M_w менее 1100 Да (пептиды длиной до 10 аминокислотных остатков).

Изучены биоактивные свойства гидролизатов и комплексов включения с β/γ -ЦД с пептидами. В результате протеолиза алкалазой и ультрафильтрации установлено увеличение АОА расщепленной молочной сыворотки в 3,0/5,3 раза по данным флуориметриче-

ского и спектрофотометрического подходов соответственно. Согласно ORAC-методу показано сопоставимое увеличение АОА пептидов сыворотки в составе комплексов с β/γ -ЦД (в 1,79/1,90 раза соответственно). Комплексообразование гидролизата с β/γ -ЦД не оказало влияния на способность восстанавливать АВТС⁺ в тест-системе, что связано с различиями в механизмах реализации антиоксидантного действия в сравниваемых тест-системах. При определении антимикробного эффекта гидролизат оказался более активен в отношении *Escherichia coli* ATCC 8739 (19,4 %), чем *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (10,6 %), а взаимодействие β -ЦД с пептидами обусловило возрастание их ингибирующего действия в отношении тест-штаммов (27,4/15,2 % соответственно). Антимикробный эффект гидролизатов с γ -ЦД сохранялся на уровне, характерном для пептидных фракций. Антимутагенная активность гидролизата при тестировании на штаммах *S. typhimurium* TA 98/TA 100 составила 11,2–19,1/10,0–13,9 % соответственно. Степень индуцированного мутирования пептидов после комплексообразования ЦД сохранилась на исходном уровне для штамма TA 98, а в случае штамма TA 100 отмечено увеличение антимуtagenного действия, что составило 13,8–17,7/17,8–26,2 % в системе с β/γ -ЦД соответственно. В результате протеолиза сыворотки молока алкалазой и последующей фильтрации установлено снижение остаточной антигенности в 265 раз. Комплексообразование с β/γ -ЦД не оказало влияния на антигенность пептидной фракции, тогда как тиндализация обусловила дополнительное ее снижение (в 2,2 раза) в результате термоденатурации антигенных детерминант. В целом уровень антиоксидантного, антимикробного и антимуtagenного эффекта комплексов с β/γ -ЦД оказался сопоставим либо повышен по сравнению с глубокими гидролизатами. В результате взаимодействия β -ЦД с пептидами сыворотки установлено существенное снижение горечи относительно контрольной пептидной фракции.

Предполагается применение ферментативных гидролизатов белков молочной сыворотки и их комплексов включения с циклодекстринами, полученных согласно предложенному технологическому процессу, в составе гипоаллергенных специализированных продуктов питания, в которых нативный белок полностью или частично заменен на смесь пептидов молока.

Критерии авторства

Т. Н. Головач руководила проектом, принимала участие в планировании и проведении экспериментов (постановка ферментативного гидролиза белков молока, получение комплексов включения циклодекстринов с пептидами), отвечала за дизайн работы, сбор, анализ и интерпретацию данных, подготовку текста статьи. З. В. Ловкис принимал участие в подборе параметров технологического процесса получения гидролизатов сывороточных белков молока, организации проведения сенсорной оценки гидролизата и его комплексов

включения с β -циклодекстрином, подготовке и редактировании рукописи. В. П. Курченко и А. Д. Лодыгин участвовали в создании концепции исследования и редактировании рукописи. И. В. Ржепаковский, А. В. Янцевиц, Е. И. Тарун и Н. В. Дудчик принимали участие в планировании и проведении экспериментов по получению ферментативных гидролизатов сыворо-точных белков молока, определению их пептидного состава (ВЭЖХ/МС-анализ), оценке антиоксидантной активности (ORAC-метод) и выявлению антиму-тагенного и антимикробного действия соответственно.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

T.M. Halavach supervised the project, was in charge of design and performance of experiments (enzymatic

hydrolysis of dairy proteins, preparation of cyclodextrin inclusion complexes with peptides), data collection, analysis and interpretation, and drafted the manuscript. Z.V. Lovkis selected parameters of the technological process of whey protein hydrolysate production, organized sensory evaluation of the hydrolysate and its inclusion complexes with β -cyclodextrin, drafted and proofread the manuscript. V.P. Kurchenko and A.D. Lodygin developed the research concept and edited the manuscript. I.V. Rzhepakovsky, A.V. Yantsevich, E.I. Tarun, and N.V. Dudchik obtained enzymatic hydrolysates of whey proteins, determined their peptide composition (HPLC/MS), evaluated antioxidant activity (ORAC), and identified their antimutagenic and antimicrobial effects, respectively.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Aruna V, Chandrakala V, Angajala G, Nagarajan ER. Proteases: An overview on its recent industrial developments and current scenario in the revolution of biocatalysis. *Materials Today: Proceedings*. 2023;92(2):565–573. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.03.806>
2. Tacias-Pascacio VG, Morellon-Sterling R, Siar EH, Tavano O, Berenguer-Murcia Á, Fernandez-Lafuente R. Use of alcalase in the production of bioactive peptides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;165:2143–2196. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.060>
3. Czelej M, Garbacz K, Czernecki T, Wawrzykowski J, Waśko A. Protein hydrolysates derived from animals and plants – a review of production methods and antioxidant activity. *Foods*. 2022;11(13):1953. <https://doi.org/10.3390/foods11131953>
4. Ramakrishnan VV, Hossain A, Dave D, Shahidi F. Salmon processing discards: a potential source of bioactive peptides – a review. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2024;6(1):22. <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00197-2>
5. Freidl R, Garib V, Linhart B, Haberl EM, Mader I, Szépfalusi Z, et al. Extensively hydrolyzed hypoallergenic infant formula with retained T cell reactivity. *Nutrients*. 2022;15(1):111. <https://doi.org/10.3390/nu15010111>
6. Gromov DA, Borisova AV, Bakharev VV. Food allergens and methods for producing hypoallergenic foods. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(2):232–247. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247>; <https://www.elibrary.ru/MHOLPD>
7. Vandénplas Y, Książek J, Luna MS, Migacheva N, Picaud J-C, Ramenghi LA, et al. Partial hydrolyzed protein as a protein source for infant feeding: do or don't? *Nutrients*. 2022;14(9):1720. <https://doi.org/10.3390/nu14091720>
8. Maryniak NZ, Sancho AI, Hansen EB, Bøgh KL. Alternatives to cow's milk-based infant formulas in the prevention and management of cow's milk allergy. *Foods*. 2022;11(7):926. <https://doi.org/10.3390/foods11070926>
9. Soto-Sierra L, Nikolov ZL. Feasibility of membrane ultrafiltration as a single-step clarification and fractionation of microalgal protein hydrolysates. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022;10:957268. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.957268>
10. Alavi F, Ciftci ON. Purification and fractionation of bioactive peptides through membrane filtration: A critical and application review. *Trends in Food Science and Technology*. 2023;131:118–128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.11.024>
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>; <https://www.elibrary.ru/XVLLQE>
12. Poulson BG, Alsulami QA, Sharfalddin A, Agammy EFE, Mouffouk F, Emwas AH, et al. cyclodextrins: structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. 2021;3(1):1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001>
13. Zhou J, Jia J, He J, Li J, Cai J. Cyclodextrin inclusion complexes and their application in food safety analysis: recent developments and future prospects. *Foods*. 2022;11(23):3871. <https://doi.org/10.3390/foods11233871>
14. Yousaf R, Razzaq FA, Asghar S, Irfan M, Khan IU, Khalid SH. Cyclodextrins: An Overview of Fundamentals, Types, and Applications. In: Ali R, editor. *Cyclodextrins - Core Concepts and New Frontiers*. London: IntechOpen; 2023. <https://doi.org/10.5772/intechopen.108078>

15. Singh A, Idowu AT, Benjakul S, Kishimura H, Aluko RE, Kumagai Y. Debittering of salmon (*Salmo salar*) frame protein hydrolysate using 2-butanol in combination with β -cyclodextrin: Impact on some physicochemical characteristics and antioxidant activities. *Food Chemistry*. 2020;321:126686. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126686>
16. Xia Y, Zhu L, Wu G, Liu T, Li X, Wang X, *et al.* Comparative study of various methods used for bitterness reduction from pea (*Pisum sativum* L.) protein hydrolysates. *LWT*. 2022;159:113228. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113228>
17. Sviridenko YY, Abramov DV, Myagkonosov DS, Ovchinnikova EG, Tutelyan VA, Mazo VK, *et al.* Method for producing hydrolysate of whey proteins. Russia patent RU 2663583C2. 2018. [Способ производства гидролизата сывороточных белков: пат. 2663583C2 Рос. Федерация. № 2015156941 / Ю. Я. Свириденко [и др.]; заявл. 30.12.2015; опубл.07.08.2018. 15 с. Бюл. № 22.].
18. Prosekov AJ, Ulrikh EV, Poturaeva NL, Koroleva OV, Budrik VG, Botina SG, *et al.* Method of production of enzymatic whey proteins. Russia patent RU 2528068C1. 2014. [Способ получения ферментативного сывороточных белков: пат. 2528068C1 / А. Ю. Просеков [и др.]; заявл. 04.04.2013; опубл. 10.09.2014. 8 с. Бюл. №. 25].
19. Kruglik VI, Zorin SN, Gmshinskij IV, Nikitina NE, Volkova IN, Revjakina NV, *et al.* Method of producing whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis and whey protein hydrolysate with high degree of hydrolysis. Russia patent RU 2428047C1. 2011. [Способ получения гидролизата сывороточных белков с высокой степенью гидролиза и гидролизат сывороточных белков с высокой степенью гидролиза: пат. 2428047C1 Рос. Федерация. № 2010105819/10 / В. И. Круглик [и др.]; заявл.19.02.2010; опубл. 10.09.2011. 20 с. Бюл. № 25.].
20. Golovach TN, Dudchik NV, Veremeenko EG, Tsygankov VG, Bondarchuk AM, Filonyuk VA, *et al.* Evaluation of antimutagenic and antifungal properties, parameters of acute toxicity and sensitizing activity of enzymatic whey protein hydrolysate. *Foods and Raw Materials*. 2016;4(2):38–47. <http://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-2-38-47>; <https://www.elibrary.ru/XKQBGN>
21. 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>
22. Halavach TM. Hypoallergenic hydrolysates of whey proteins with average degree of hydrolysis. *AIP Conference Proceedings*. 2022;2390:030030. <https://doi.org/10.1063/5.0069050>
23. Halavach TM, Kurchenko VP, Tarun EI, Yantsevich AV, Shchur VV, Tsygankov VG, *et al.* Effect of hydrolysis degree with alcalase on antioxidant and antigenic properties of whey and colostrum protein hydrolysates. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2024;15:100975. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.100975>
24. Halavach TM, Savchuk ES, Bobovich AS, Dudchik NV, Tsygankov VG, Tarun EI, *et al.* Antimutagenic and antibacterial activity of β -cyclodextrin clathrates with extensive hydrolysates of colostrum and whey. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2020;11(2):8626–8638. <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.86268638>
25. Halavach TM, Kurchenko VP, Tarun EI, Dudchik NV, Yatskou MM, Lodygin AD, *et al.* Influence of complexation with β - and γ -cyclodextrin on bioactivity of whey and colostrum peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(18):13987. <https://doi.org/10.3390/ijms241813987>
26. Kalb VF Jr, Bernlohr RW. A new spectrophotometric assay for protein in cell extracts. *Analytical Biochemistry*. 1977;82(2):362–371. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90173-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90173-7)
27. Walter. Measuring Protein Concentration in the Presence of Nucleic Acids by A280/A260: The Method of Warburg and Christian. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2006;2006(1):pdb.prot4252. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot4252>
28. Borlinghaus J, Reiter J, Ries M, Gruhlke MCH. Screening procedures and tests for antioxidants. *Pathology*. 2020: 389–395. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00037-8>
29. Borlinghaus J, Reiter J, Ries M, Gruhlke MCH. Screening procedures and tests for antioxidants. In: Preedy VR, editor. *Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. Academic Press; 2020. pp. 389–395. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00037-8>
30. Chambers JM, Freeny AE, Heiberger RM. Analysis of Variance; Designed Experiments. In: Chambers JM, Hastie T, editors. *Statistical Models in S. California: Routledge*; 1992. Pp. 145–190.
31. Dunnett CW. A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments with a Control. *Journal of the American Statistical Association*. 1955;50(272):1096–1121. <https://doi.org/10.2307/2281208>
32. Miller RG. *Simultaneous Statistical Inference*. New York: Springer Verlag; 1981. 299 p.
33. Yandell BS. *Practical Data Analysis for Designed Experiments*. Madras: Chapman and Hall; 1997. 312 p.
34. Team RC. *R Foundation for Statistical Computing. R: A Language and Environment for Statistical Computing*. 2014;1.
35. Signorell A, Aho K, Alfons A, Anderegg N, Aragon T, Arachchige C, *et al.* *Tools for Descriptive Statistics. R Package Version*. 2019; 28(17).
36. Nikoo M, Regenstein JM, Yasemi M. Protein hydrolysates from fishery processing by-products: production, characteristics, food applications, and challenges. *Foods*. 2023;12(24):4470. <https://doi.org/10.3390/foods12244470>

37. Mansinhbhai CH, Sakure A, Maurya R, Bishnoi M, Kondepudi KK, Das S, et al. Significance of whey protein hydrolysate on anti-oxidative, ACE-inhibitory and anti-inflammatory activities and release of peptides with biofunctionality: an in vitro and in silico approach. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;59(7):2629–2642. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05282-3>
38. Kleekayai T, O'Neill A, Clarke S, Holmes N, O'Sullivan B, FitzGerald RJ. Contribution of hydrolysis and drying conditions to whey protein hydrolysate characteristics and in vitro antioxidative properties. *Antioxidants*. 2022;11(2):399. <https://doi.org/10.3390/antiox11020399>
39. Jo YJ, Cho HS, Chun JY. Antioxidant activity of β -cyclodextrin inclusion complexes containing trans-cinnamaldehyde by DPPH, ABTS and FRAP. *Food Science and Biotechnology*. 2021;30(6):807–814. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00914-y>
40. Zheng X, Du Y, Chai Y, Zheng Y. A DFT-based mechanism analysis of the cyclodextrin inclusion on the radical scavenging activity of apigenin. *Antioxidants*. 2023;12(11):2018. <https://doi.org/10.3390/antiox12112018>
41. Abbas Z, Sulaiman G, Jabir M, Mohammed H, Mohammed S. Antioxidant properties of galangin with β -cyclodextrin: an *in Vitro* and *in Vivo*. *Journal of Applied Sciences and Nanotechnology*. 2023;3(1):80–89. <https://doi.org/10.53293/jasn.2022.4876.1157>
42. Liang X, Qian G, Sun J, Yang M, Shi X, Yang H, et al. Evaluation of antigenicity and nutritional properties of enzymatically hydrolyzed cow milk. *Scientific Reports*. 2021;11(1):18623. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98136-z>
43. Liang X, Yang H, Sun J, Cheng J, Luo X, Wang Z, et al. Effects of enzymatic treatments on the hydrolysis and antigenicity reduction of natural cow milk. *Food Science and Nutrition*. 2020;9(2):985–993. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2066>
44. Liang X, Gou X, Hu X, Pu Y, Yan S, Zhou W, et al. Evaluation of the immunoreactivity and quality characteristics of cow milk following combined fermentation and enzymatic hydrolysis. *LWT – Food Science and Technology*. 2023;185:115161. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115161>
45. Rubak YT, Nuraida L, Iswantini D, Prangdimurti E, Sanam MUE. Peptide profiling of goat milk fermented by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *delbrueckii* BD7: Identification of potential biological activity. *Biodiversitas*. 2021;22(8):3136–3145. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220807>
46. Suárez-Jiménez GM, Burgos-Hernández A, Torres-Arreola W, López-Saiz CM, Velázquez Contreras CA, Ezquerra-Brauer JM. Bioactive peptides from collagen hydrolysates from squid (*Dosidicus gigas*) by-products fractionated by ultrafiltration. *International Journal of Food Science and Technology*. 2019;54(4):1054–1061. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13984>
47. Mokhtari R, Rezaei M, Kazemi Fard M, Dirandeh E. Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Casein-Derived Bioactive Peptides Using Trypsin Enzyme. *Pandiselvam R, ed. Journal of Food Quality*. 2023;2023:1–9. <https://doi.org/10.1155/2023/1792917>
48. Zanutto-Elgui MR, Vieira JCS, Prado DZ do, Buzalaf MAR, de Padilha PM, de Oliveira DE, et al. Production of milk peptides with antimicrobial and antioxidant properties through fungal proteases. *Food Chemistry*. 2019;278:823–831. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.119>
49. Vargas-Bello-Pérez E, Márquez-Hernández RI, Hernández-Castellano LE. Bioactive peptides from milk: animal determinants and their implications in human health. *Journal of Dairy Research*. 2019;86(2):136–144. <https://doi.org/10.1017/S0022029919000384>
50. Chaudhary A, Bhalla S, Patiyal S, Raghava GPS, Sahni G. *FermFoodDb*: A database of bioactive peptides derived from fermented foods. *Heliyon*. 2021;7(4):e06668. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06668>
51. Wan GY, Lam KM, Wong II, FONG P, Meng LR. Extraction of antibacterial peptides against *Helicobacter* from bovine milk casein. *Archives of Medical Science*. 2022;18(2):376–381. <https://doi.org/10.5114/aoms/109942>
52. Khazaei Monfared Y, Mahmoudian M, Hoti G, Caldera F, López Nicolás JM, Zakeri-Milani P, et al. Cyclodextrin-based nanosponges as perse antimicrobial agents increase the activity of natural antimicrobial peptide nisin. *Pharmaceutics*. 2022;14(3):685. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030685>
53. Hu Y, Xing K, Li X, Sang S, McClements DJ, Chen L, et al. Cyclodextrin carboxylate improves the stability and activity of nisin in a wider range of application conditions. *Npj Science of Food*. 2023;7(1):20. <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00181-7>
54. Liu H, Wang L, Yao C. Optimization of antibacterial activity and biosafety through ultrashort peptide/cyclodextrin inclusion complexes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(19):14801. <https://doi.org/10.3390/ijms241914801>
55. Liu B, Li N, Chen F, Zhang J, Sun X, Xu L, et al. Review on the release mechanism and debittering technology of bitter peptides from protein hydrolysates. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2022;21(6):5153–5170. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13050>
56. Mirzapour-Kouhdasht A, McClements DJ, Taghizadeh MS, Niazi A, Garcia-Vaquero M. Strategies for oral delivery of bioactive peptides with focus on debittering and masking. *Npj Science of Food*. 2023;7(1):22. <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00198-y>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2520>
<https://elibrary.ru/QUADVY>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Применение озона в хранении и переработке зерна (обзор)



О. Н. Бахчевников^{1,*}, А. В. Брагинец^{1,2}

¹ Аграрный научный центр «Донской», зерноград, Россия

² Ростовский государственный университет путей сообщения, Ростов-на-Дону, Россия

Поступила в редакцию: 06.02.2024

Принята после рецензирования: 29.02.2024

Принята к публикации: 05.03.2024

*О. Н. Бахчевников: oleg-b@list.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-3362-5627>

А. В. Брагинец: <https://orcid.org/0000-0002-7188-4179>

© О. Н. Бахчевников, А. В. Брагинец, 2024



Аннотация.

«Зеленые» технологии находят широкое применение в сельском хозяйстве и пищевой промышленности, в том числе для обеззараживания и детоксикации зерна и продуктов его переработки. С целью обеззараживания все чаще используется озонирование. Однако информация о результатах научных исследований по применению озона в зерновой отрасли является разрозненной и неполной. Цель исследования – обзор и критический анализ научных публикаций, посвященных применению озона в переработке и хранении зерна.

Выполнен поиск научной литературы, по ключевым словам, за 2013–2023 гг. в научных библиографических базах eLIBRARY.RU, Google Scholar, ScienceDirect, MDPI и Springer Link, ее отбор, синтез данных и их анализ.

Озонирование применяют в хранении и переработке зерна в качестве «зеленой» технологии, обеспечивающей обеззараживание и детоксикацию сырья и готовой продукции без вреда для здоровья человека и животных, а также увеличение продолжительности их хранения. В результате экспериментальных исследований было доказано, что озон обладает антимикробным, фунгицидным, инсектицидным и деградирующим микотоксины и пестициды действием. В то же время озон не снижает качества зерна и хлебобулочных изделий, быстро распадается и не образует токсичных соединений. Установлено, что на эффективность обработки озоном влияют многие факторы: влажность сырья, концентрация озона, длительность обработки, pH и температура среды, форма применения. Результаты исследований показывают положительное влияние озонирования на качество пшеничной муки и производимых из нее продуктов, но требуется дополнительное изучение этого эффекта для установления рациональных параметров процесса. Установлено, что озонирование зерна и продуктов его переработки является рентабельной технологией.

Озонирование может найти широкое применение в качестве «зеленой» технологии, обеспечивающей обеззараживание и детоксикацию зернового сырья и готовой продукции. Озонирование обладает высоким потенциалом применения в хранении и переработке зерна.

Ключевые слова. Озон, озонирование, зерно, зерновые продукты, обеззараживание, деконтаминация, дезинсекция, качество

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственного задания «Аграрный научный центр «Донской» (тема № 0505-2022-0007).

Для цитирования: Бахчевников О. Н., Брагинец А. В. Применение озона в хранении и переработке зерна (обзор) // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 483–494. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2520>

Ozone in Grain Storage and Processing: Review



Oleg N. Bakhchevnikov^{1,*}, Andrey V. Braginets^{1,2}

¹ Agricultural Research Centre Donskoy^{ROR}, Zernograd, Russia

² Rostov State Transport University^{ROR}, Rostov-on-Don, Russia

Received: 06.02.2024
Revised: 29.02.2024
Accepted: 05.03.2024

*Oleg N. Bakhchevnikov: oleg-b@list.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-3362-5627>
Andrey V. Braginets, <https://orcid.org/0000-0002-7188-4179>

© O.N. Bakhchevnikov, A.V. Braginets, 2024



Abstract.

Green technologies are gaining popularity in agriculture and the food industry, including such areas as disinfection and detoxification of grain and its products. Ozonation is an effective disinfection procedure. However, scientific data on grain ozonation are scattered and incomplete. The article offers a review and a critical analysis of scientific publications that feature ozonation in grain processing and storage.

The keyword search covered publications indexed in eLIBRARY.RU, Google Scholar, ScienceDirect, MDPI, and Springer Link in 2013–2023.

In grain storage and processing, ozonation serves as a green technology of disinfection and detoxification of raw materials and finished products. It increases storage life but does not affect human or animal health. Ozone proved to possess antimicrobial, fungicidal, and insecticidal properties. It was able to degrade mycotoxins and pesticides. The publications reviewed did not report any evidence that ozone reduces the quality of grain or bakery products. On the contrary, it disintegrated quickly, without developing any toxic compounds. Ozone treatment depends on many factors, e.g., raw material humidity, ozone concentration, treatment time, environmental pH and temperature, form of application, etc. In general, ozonation was reported to improve the quality of wheat flour and its products. However, rational variables require additional research. Ozonation of grain and its products was often described as cost-effective.

Ozonation has the potential to find extensive application as a green technology that ensures disinfection and detoxification of grain raw materials and finished products, which also means good prospects for grain storage and processing.

Keywords. Ozone, ozonation, grain, cereal products, disinfection, quality

Funding. The research was part of State Assignment no. 0505-2022-0007 to the Agricultural Research Center Donskoy^{ROR}.

For citation: Bakhchevnikov ON, Braginets AV. Ozone in Grain Storage and Processing: Review. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):483–494. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2520>

Введение

В настоящее время в сельском хозяйстве и пищевой промышленности, в том числе при производстве и переработке зерна, все более активно применяются «зеленые» (экологические) технологии, являющиеся менее вредными для здоровья людей и животных по сравнению с традиционными технологическими схемами [1, 2]. Важное значение имеет использование «зеленых» технологий для обеззараживания и детоксикации зерна и продуктов его переработки [3].

Из имеющихся технологий обеззараживания и детоксикации в зерновом производстве в наибольшей степени зарекомендовало себя озонирование, т. е. обработка зерна и зерновых продуктов газообразным или растворенным в воде озоном [4, 5]. В последнее время озон находит применение для уничтожения патогенных микроорганизмов и разрушения микотоксинов и пести-

цидов, борьбы с амбарными вредителями, а также для улучшения качества зерна и муки [6, 7].

Преимущество использования озона в сельском хозяйстве и пищевой промышленности заключается в том, что он легко превращается в безвредный кислород с минимальными остатками, что исключает необходимость его удаления из обрабатываемого продукта [8]. Поэтому его использование представляет собой перспективную «зеленую» технологию, способную повысить безопасность зерна и зерновых продуктов [9].

Однако информация о результатах научных исследований по применению озона в зерновой отрасли является разрозненной и часто неполной в некоторых аспектах.

Вышеизложенное показало необходимость произвести систематический обзор и критический анализ научных публикаций, посвященных использованию озона в переработке и хранении зерна, в том числе

деконтаминации, разрушении микотоксинов и пестицидов, уничтожении насекомых-вредителей, влиянии на качество зерна и муки, а также достоинствам и недостаткам данного способа обработки.

Целью исследования является систематический обзор и критический анализ научных публикаций, посвященных применению озона в переработке и хранении зерна.

Объекты и методы исследования

Работа над обзором включала: поиск научной литературы по заявленной теме, ее отбор, обработку данных и их анализ, синтез выводов.

Отбор и систематический обзор научных статей по рассматриваемой тематике был выполнен по методике Н. Snyder и R. G. Toracco, описывающей последовательность отбора публикаций, их критического анализа и синтеза заключительных выводов [10, 11].

Для отбора научных статей на английском и русском языках был выполнен поиск, по ключевым словам, и их сочетаниям в научных библиографических базах eLIBRARY.RU, Google Scholar, ScienceDirect, MDPI и Springer Link. В выбранных статьях были просмотрены пристатейные списки литературы для нахождения дополнительных релевантных источников информации. Поиск произвели по следующим типам публикаций: Article, Review, Conference Paper, Chapter. При выборе исследований для настоящего обзора приоритет отдавали публикациям с наибольшим количеством цитирований (за исключением новейших статей).

В качестве временных рамок для отбора рассматриваемых в данном обзоре статей был принят период 2013–2023 гг. Научные статьи, опубликованные ранее 2013 г., были включены в настоящий обзор в случае отсутствия более новых публикаций по конкретным аспектам рассматриваемой тематики.

Результаты и их обсуждение

Характеристика озона. Озон O_3 – это газ, являющийся аллотропной трехатомной формой кислорода. Молекулы озона O_3 нестабильны и довольно быстро превращаются в кислород [12]. Скорость этого процесса зависит от температуры и давления окружающей среды [13]. Отсутствие вредных побочных продуктов распада является достоинством технологии озонирования, обуславливающим ее развитие в качестве перспективной «зеленой» технологии, обеспечивающей безопасность и качество продуктов питания и кормов [8].

Озон применяют в газообразной форме – в виде смеси с воздухом (концентрация 1–6 %), а также в виде водного раствора (концентрация 5–14 %).

Механизм действия озона. Механизм действия озона на органические вещества, составляющие ткани живых организмов, состоит в их активном окислении [6]. Озон вступает в химические реакции с различными веществами, в том числе токсичными [8]. Взаимодействуя с такими токсичными веществами, как микотоксины и пестициды, озон вступает с ними в химические реакции, превращая их в менее токсичные или неядовитые вещества [14].

При взаимодействии с веществами, образующими органеллы клеток микроорганизмов, озон окисляет их, нарушая тем самым их жизнедеятельность и приводя к гибели [15] (рис. 1). Результаты исследований показывают, что существует два механизма инактивации микроорганизмов под действием озона [8]. Первый из них состоит в окислении сульфгидрильных групп и аминокислот, входящих в состав пептидов, белков и ферментов органелл клетки [12]. В ходе второго происходит окисление полиненасыщенных жирных кислот в составе оболочки клетки [1]. Особенно критичным для микроорганизмов является повреждение

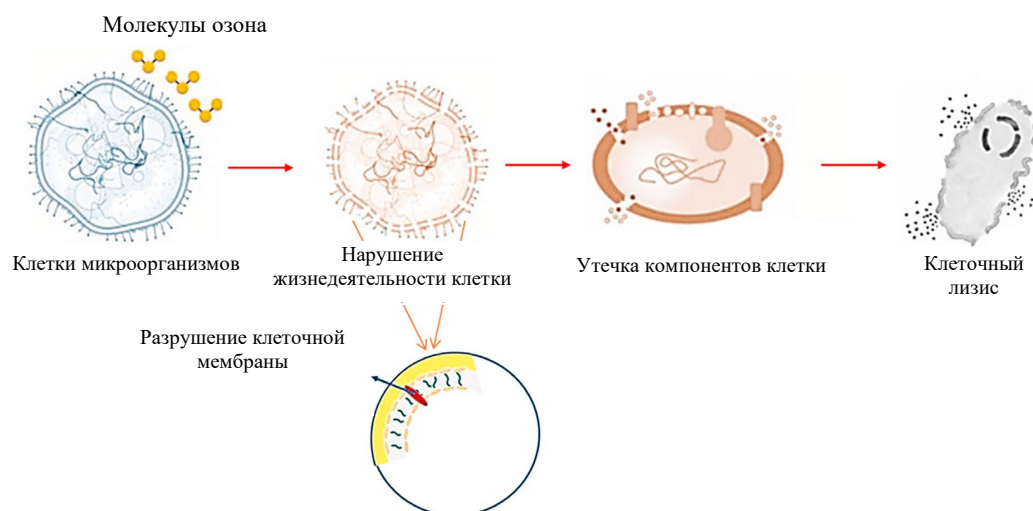


Рисунок 1. Схема инактивации микроорганизмов под действием озона [13]

Figure 1. Inactivation of microorganisms with ozone [13]

в результате этих процессов клеточной оболочки, что приводит к лизису и их гибели [6].

Обеззараживание. Озонирование значительно снижает содержание патогенных микроорганизмов в зерне и зерновых продуктах [8, 15]. Озон уничтожает патогенные пищевые бактерии (*Escherichia coli*, *Salmonella* и др.), плесневые грибы (*Alternaria*, *Aspergillus*), а также их споры [13, 16].

Механизм действия озона на патогенные одноклеточные организмы состоит в окислении им веществ, входящих в состав клеточных оболочек, что приводит к их разрушению и гибели всей клетки [13, 15].

Опубликованные результаты исследований показывают, что озон эффективно воздействует на все виды бактерий [8, 17]. Результаты новейших исследований показывают, что озон более эффективно действует на грамотрицательные бактерии [13]. К. Rangel сообщает, что воздействие газообразного озона значительно снизило жизнеспособность клеток грамотрицательных бактерий *E. coli* [18].

Озон эффективно используется для борьбы с плесневыми грибами, в том числе наиболее распространенными *Aspergillus* и *Fusarium*, и их спорами [13]. G. D. Savi установил, что действие газообразного озона (концентрация 60 мкмоль/моль в течение 40–120 мин.) эффективно подавляло рост грибов *Fusarium graminearum* и *Penicillium citrinum* [19]. L. Levinskaite сообщает, что обработка зерна газообразным озоном в течение 1 ч привела к значимому ингибированию роста плесневых грибов *Aspergillus*, *Fusarium* и *Penicillium* [20]. M. Beber-Rodrigues исследовал действие газообразного озона (10–40 мг/л) на грибки, поражающие рис [21]. Результаты его исследований показали значительное снижение их содержания, причем увеличение концентрации газа и длительности воздействия усиливало эффективность обработки.

Эффективность действия озона зависит от его агрегатного состояния (газ или водный раствор), концентрации и продолжительности действия, вида или штамма микроорганизмов, уровня pH, температуры и влажности окружающей среды [13]. Результаты исследований показали, что эффект от озонирования увеличивается при повышении концентрации озона, продолжительности его воздействия и температуры окружающей среды [15, 22]. Увеличение влажности зерна положительно сказывается на эффективности обеззараживания [23].

Несмотря на имеющиеся результаты, для широкого применения озонирования с целью уничтожения патогенных микроорганизмов, поражающих зерно, необходимо провести дополнительные исследования для установления рациональных параметров его выполнения.

Деградикация микотоксинов. Плесневые грибы не только поражают зерно и продукты его переработки, делая их непригодными к употреблению, но и выделяют вторичные метаболиты – микотоксины, опасные для здоровья человека и животных. Одним из наиболее эффективных способов разрушения (деградации) мико-

токсинов, загрязняющих зерно и зерновые продукты, является озонирование [24].

Механизм действия озона на микотоксины состоит в их окислении с последующим образованием нетоксичных или малотоксичных низкомолекулярных химических соединений [25]. При окислении озон в основном действует на функциональные группы в молекулах микотоксинов, такие как фурановое кольцо в афлатоксинах, то степень деградации микотоксинов озоном зависит от структуры их молекул и расположения в них функциональных групп [26–28].

Озон эффективно снижает содержание в зерне таких микотоксинов, как фумонизины, охратоксин А, афлатоксины, зеараленон, дезоксиниваленон, цитринин и патулин [14].

Особенно эффективен озон для деградации афлатоксинов [27]. В результате его действия молекулы афлатоксинов расщепляются до органических кислот, альдегидов и кетонов [26, 29].

В результате экспериментов показана эффективность озонирования для разложения дезоксиниваленола. L. Wang сообщает, что озонирование является эффективным и быстрым способом деградации дезоксиниваленола в зерне пшеницы и цельнозерновой муке [30]. Его содержание снизилось с 3,89 до 0,83 мг/кг при обработке газообразным озоном в концентрации 100 мг/л в течение 60 мин.

В последнее время опубликованы многочисленные статьи, посвященные эффективности деградации микотоксинов озоном при хранении и переработке зерна. Некоторые результаты экспериментальных исследований приведены в таблице 1.

Данные свидетельствуют о том, что наблюдается значительная вариация концентрации озона и продолжительности его действия при обработке с целью деградации микотоксинов. Результаты проведенных исследований доказывают высокую эффективность обработки зерна и муки газообразным озоном, хотя на их базе сложно сделать однозначное заключение о рациональных параметрах озонирования. Можно сделать вывод, что степень деградации микотоксинов зависит от концентрации озона и длительности его действия – их увеличение приводит к повышению эффективности обработки.

Результаты экспериментальных исследований показывают, что озон более эффективно разлагает микотоксины при более высокой влажности зерна и зерновых продуктов [25, 36]. Это доказано в исследовании L. Qi, согласно которому скорость разложения зеараленона и охратоксина А увеличивалась по мере увлажнения зерна кукурузы водой [37]. В тоже время большинство исследований демонстрирует более высокую эффективность обработки зерна газообразным озоном, чем его водным раствором [38]. Эффективность обработки озоном также увеличивается при повышении температуры [8].

Обработка зерна озоном является потенциально эффективной и экологически безопасной технологией снижения содержания микотоксинов в зерне, после

Таблица 1. Результаты экспериментов по использованию озона для уменьшения содержания микотоксинов в зерновых продуктах

Table 1. Ozonation as a means of reducing mycotoxins in grain products: experimental results

Результаты исследования	Продукт	Продолжительность обработки, мин	Концентрация газообразного озона	Микотоксин	Уменьшение содержания микотоксина, %	Источники
A. P. S. Alexandre и др., 2019	Кукурузная мука	10	52 г/м ³	Зеараленон	56	[31]
Y. D. Porto и др., 2019	Измельченная кукуруза	480	60 г/м ³	Афлатоксин В ₁	55	[27]
K. Zhuang и др., 2020	Зерно пшеницы, пшеничная мука	120	60 мг/л	Дезоксиниваленол	66	[32]
S. Krstović и др., 2021	Измельченная кукуруза	180	100 мг/л	Дезоксиниваленол, зеараленон, охратоксин	70	[33]
C. Shuai и др., 2022	Зерно пшеницы и кукурузы	480	3 мг/л	Дезоксиниваленол	40	[34]
B. Purag и др., 2022	Зерно кукурузы	180	85 мг/л	Дезоксиниваленол, зеараленон	52	[35]

которой почти не остается токсичных веществ. Но себестоимость технологии озонирования остается относительно высокой из-за сложности получения озона [25].

Большая часть изученных статей излагает результаты экспериментов по деградации лишь одного или нескольких конкретных микотоксинов, характерных для зернового производства, но практически отсутствуют исследования по обезвреживанию всего комплекса микотоксинов, обычно содержащихся в зерне. Поэтому можно сделать вывод о необходимости установления параметров, при которых воздействие озона способно обезвредить большинство видов микотоксинов.

Разрушение пестицидов. Накапливающиеся в поверхностных слоях зерна, особенно в рисе, в процессе его выращивания пестициды являются источником опасности для человека и сельскохозяйственных животных. Озон является эффективным средством для очищения зерна от остатков пестицидов [39, 40].

Механизм действия озона на пестициды состоит в окислении входящих в их состав высокомолекулярных веществ [41]. При реакции озона с органическими пестицидами происходит разрушение ненасыщенных алифатических углеводородов, таких как алкены и алкины путем разрыва углеродных цепей и раскрытия бензольных колец, а также окисление других функциональных групп [42]. Низкомолекулярные соединения, образующиеся в дальнейшем в результате реакции озона с ненасыщенными углеродными цепями в молекулах пестицидов, такие как кислоты, спирты, амины, в основном растворимы в воде. Поэтому они могут быть легко смыты с зерна водой. Для удаления пестицидов эффективна обработка зерна водным раствором озона [40].

M. de Avila и др. исследовали действие газообразного озона в концентрации 3 мг/л на загрязненные пестицидами зерна риса [43]. Они установили, что озон эффективно разлагает остатки пестицидов бифентрина и дельтаметрина, удаляя, 91,9 и 92,7 % соответственно.

R. de Freitas и др. изучили процесс деградации остатков пиримифос-метила в зерне кукурузы под действием газообразного озона в концентрации 0,86 мг/л [44]. Они пришли к выводу, что озон разложил более 91 % остатков пиримифос-метила, причем эффективность возрастала прямо пропорционально продолжительности воздействия газа.

G. D. Savi и др. проанализировали процесс уменьшения остатков дельтаметрина и фенитротриона в хранящемся зерне пшеницы и рассмотрели разложение остатков бифентрина и пиримифос-метила в зерне хранящейся пшеницы под действием газообразного озона в концентрации 60 мкмоль/моль [45, 46]. Исследование завершилось тем, что озон разлагает остатки этих пестицидов: бифентрин после 180 мин. действия – на 37,5 %, а пиримифос-метил после 30 мин. – на 71,1 %.

Результаты исследований по разложению остатков пестицидов озоном представлены в таблице 2.

Эффективность озонирования для разрушения пестицидов имеет прямо пропорциональную зависимость от концентрации озона, температуры окружающей среды и длительности обработки и улучшается при увеличении их значений [41, 47].

Имеется информация о положительном влиянии высокой влажности на эффективность действия озона на пестициды. G. D. Savi и др. определили, что при обработке газообразным озоном зерна пшеницы влажностью

Таблица 2. Результаты исследований по разложению остатков пестицидов в зерне под действием озона

Table 2. Decomposition of pesticide residues in grain after ozonation

Результаты исследования	Вид сырья	Продолжительность озонирования, мин	Концентрация газообразного озона	Пестицид	Уменьшение содержания пестицида, %	Источники
De Avila M. B. R. и др., 2017	Зерна риса	600	3 мг/л	Бифетрин Дельгаметрин	91,9 92,7	[43]
De Freitas R. и др., 2017	Зерна кукурузы	60	0,86 мг/л	Пиримифосметил	91	[44]
Savi G. D. и др., 2015	Зерно пшеницы	180	60 мкмоль/моль	Дельгаметрин Фенитрогион	66,7 89,8	[45]
Savi G. D. и др., 2016	Зерно пшеницы	180 30	60 мкмоль/моль	Бифетрин Пиримифосметил	37,5 71,1	[46]

12 % разрушение пестицидов составило 80,6 % против 88,2 % для зерна влажностью 20 % [45].

Исследования показали, что обработка зерна озоном в газообразной или водной форме экономически эффективна для разложения пестицидов [48]. Такая обработка применима для зерна, используемого на кормовые и пищевые цели, так как безопасна для животных и человека [48].

Несмотря на имеющиеся положительные результаты, для широкого применения озонирования с целью удаления остатков пестицидов в зерне нужно провести дополнительные исследования с целью установления рациональных параметров процесса, эффективных для разрушения большинства известных пестицидов.

Борьба с насекомыми-вредителями зерна. Озонирование является действенным средством для борьбы с насекомыми, повреждающими зерно и зерновые продукты во время хранения [8, 49]. Эффективность воздействия газообразного озона на насекомых-вредителей различных видов составляет от 70 до 100 % [50, 51].

Активно ведутся исследования по эффективности озона в борьбе с насекомыми-вредителями зерна. X. Dong и др. выявили эффективность обработки зерен ячменя газообразным озоном в течение 24 ч для уничтожения насекомых зерновой точильщик (*Rhyzopertha dominica*) и хрущак малый (*Tribolium castaneum*), включая их яйца [52]. И. В. Баскаков сообщает, что в результате обработки зерна газообразным озоном концентрацией 5–15 мг/м³ в течение 60 мин. погибли 86 % особей амбарного долгоносика и 90,5 % зерновой моли [53]. Он установил, что для уничтожения булавоусого хрущака (*Tribolium confusum* L.) необходима концентрация озона более 1935 мг·мин./м³ и длительность обработки не менее 460 мин. [54].

Но при обработке хранящегося зерна следует учитывать, что эффективность действия озона на насекомых зависит от стадии их развития [55–57]. Наиболее подвержены действию озона взрослые насекомые, а меньше всего – их яйца, что обусловлено наличием плотного внешнего слоя, создающего барьер для по-

тупления газа [50]. В качестве примера можно привести результаты исследования А. А. Isikber и др, которые выяснили, что в результате обработки зерна газообразным озоном в продолжение 120 мин. с концентрацией 13,9 мг/л полностью погибли взрослые особи, личинки и куколки мельничной огневки (*Ephestia kuehniella*), но часть яиц не пострадала [50]. Об аналогичных результатах сообщает и L. S. Hansen: в результате действия газообразного озона (131 мг/л в течение 8 суток) была обеспечена полная гибель насекомых долгоносик амбарный обыкновенный (*Sitophilus granarius*) и южная амбарная огневка (*Plodia interpunctella*) всех стадий развития, кроме яиц [58]. Анализ результатов исследований показал, что для полного уничтожения насекомых и их яиц в хранящемся зерне необходимо обеспечить значительную продолжительность его действия [8].

В результате исследований было установлено, что для обеспечения уничтожения насекомых-вредителей зерна необходимо обеспечивать его высокую концентрацию в течение длительного времени [59, 60]. Для каждого вида насекомых существует определенная пороговая концентрация озона, обеспечивающая его действенность.

Температура окружающей среды не оказывает существенного влияния на эффективность действия озона против насекомых [58]. При повышенной влажности проникновение озона в хранящемся зерне замедляется, что приводит к необходимости увеличения длительности обработки для уничтожения насекомых [61].

Таким образом, озон является экологически безопасной альтернативой химическим фумигантам при уничтожении насекомых-вредителей зерна и зерновых продуктов.

Влияние на качество зерна и продуктов его переработки. Важное значение имеют новые технологии повышения качества муки и хлеба [62]. В результате экспериментальных исследований установлено, что озон не оказывает влияния на содержание белка, золы и жиров в пшеничной муке [8, 63, 64]. L. Wang и др.

пришли к выводу, что содержание аминокислот в зерне пшеницы осталось неизменным после его обработки озоном концентрации 75 мг/л в течение 90 мин. [30]. В исследовании М. Dubois было показано, что содержание витаминов в зерне пшеницы не изменяется в результате обработки озоном [65]. Это является достоинством способа озонирования перед другими технологиями воздействия на зерно.

Обработка зерна и муки газообразным озоном приводит к снижению активности ферментов, в частности α -амилазы и полифенолоксидазы [66, 67], что имеет важное значение при их хранении [68]. Срок хранения зерна и муки, обработанных газообразным озоном, увеличивается как за счет обеззараживающего эффекта, так и за счет снижения в них ферментной активности [68–70].

Озонирование пшеничной муки положительно влияет на качество приготовленного из нее теста [8]. Озонирование увеличивает прочность теста и время его термостабильности [71]. Обработка озоном зерна и муки снижает значение их рН по причине окисления крахмала, что полезно для длительного хранения, причем увеличение продолжительности обработки и концентрации озона усиливает этот эффект [72]. Таким образом, озон может служить средством для улучшения качества теста, не влияющим на его питательную ценность.

С увеличением продолжительности озонирования пшеничной муки повышается твердость испеченного из нее хлеба, что неприемлемо для потребителей [73].

Важным потребительским свойством пшеничной муки является ее белизна. Озонирование муки увеличивает ее белизну, которая повышается с увеличением кон-

центрации озона [71, 72]. Озон является лучшим отбеливающим агентом для пшеничной муки, чем химические отбеливатели, так как исключаются риски, связанные с остаточными уровнями химикатов, и обеспечивается безопасность потребителей [8].

В некоторых исследованиях была выполнена оценка качества продуктов из пшеничной муки, подвергнутой озонированию. Лапша, изготовленная из озонированной пшеничной муки, имела более длительный срок хранения и лучшую белизну [66, 73]. Оценка качества хлеба, изготовленного из озонированной пшеничной муки, показала увеличение удельного объема буханки, благоприятное изменение ее внешнего вида и внутренней структуры [71, 74, 75]. S. Chittrakorn и др. оценили значительное увеличение объема пирогов, испеченных из пшеничной муки, предварительно обработанной газообразным озоном в течение 10–35 мин. (рис. 2) [76].

Озон может быть использован для обработки пшеничной муки с целью улучшения качества приготовляемых из нее продуктов и увеличения срока их хранения.

Достоинства и недостатки применения озона.

Главное достоинство применения озона при хранении и переработке зерна – это его универсальность, заключающаяся в эффективном действии на патогенные бактерии, плесневые грибы, насекомых-вредителей, микотоксины и пестициды [1, 16].

Из двух форм озона – газообразной, в виде смеси с воздухом и в виде водного раствора, наибольшее распространение в зерновом производстве получила первая [1]. Причиной этого является простота применения и более низкая стоимость необходимого оборудования [4]. Значительным недостатком применения озона в виде раствора является необходимость предварительной очистки воды из-за риска образования ядовитых веществ, при реакции озона с содержащимися в воде соединениями хлора и органическими веществами [6, 14].

Озонирование зерна является рентабельной технологией, приносящей существенную экономическую выгоду за счет уменьшения порчи зерна и продуктов его переработки патогенными микроорганизмами и насекомыми [8]. Применение озона позволяет снизить потери зерна во время хранения на 10–15 %, на столько же увеличив прибыль предприятия [14]. Использование озона может быть выгодным благодаря более низким затратам на единоразовое приобретение и обслуживание установок для озонирования по сравнению с регулярными затратами на приобретение дезинфицирующих средств, в том числе хлорсодержащих, а также расходами на меры безопасности при работе с ними [8, 77].

Одним из главных достоинств применения газообразного озона является отсутствие образования опасных химических веществ в результате его применения [4]. В этом состоит его принципиальное отличие от химических средств дезинфекции, например, хлор, который требуется удалять из продукта по завершении обработки [14].

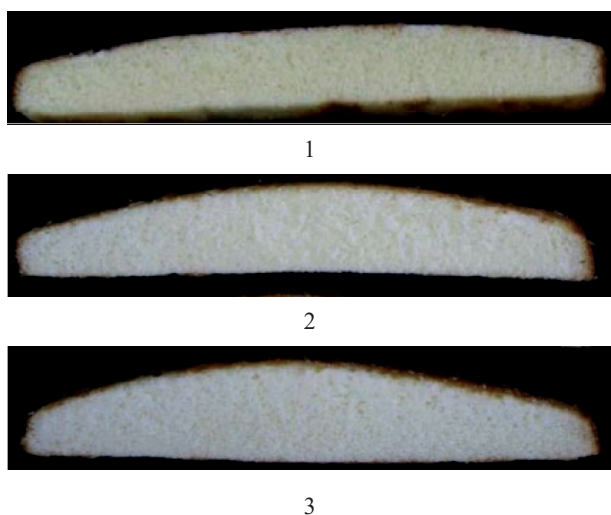


Рисунок 2. Пироги из пшеничной муки, обработанной озоном [76]: 1 – контроль (без обработки); 2 – обработка в течение 10 мин.; 3 – обработка в течение 35 мин.

Figure 2. Pies made from ozonated wheat flour [76]: 1 – control (unprocessed flour); 2 – after 10 min of ozonation; 3 – after 35 min of ozonation

К недостаткам озонирования следует отнести высокую стоимость оборудования для получения озона [6]. Для более широкого использования в зерновом производстве нужно снизить себестоимость. Из-за высокой окислительной способности озона его следует с осторожностью применять при обработке зерна и зерновых продуктов, хранящихся в стальных емкостях, из-за риска их быстрой коррозии [12]. Недостатком применения газообразного озона является необходимость размещения обрабатываемого продукта достаточно тонким слоем, чтобы обеспечить его проницаемость для газа [50]. Необходимо учитывать явление адсорбции (поглощения) озона зерном, что требует усилий по поддержанию требуемой концентрации газа [50, 78].

Недостатком применения озона в зерновом производстве является сложность подбора его концентрации и продолжительности действия, одинаково эффективно действующих как на различные виды и стадии развития насекомых и микроорганизмов, так и на микотоксины и пестициды [6]. Проблема решается максимальным увеличением концентрации озона и времени обработки, но при этом возникает риск ухудшения качества зерна и муки.

Представленные недостатки не могут нивелировать достоинства применения озонирования в хранении и переработке зерна и вполне преодолимы.

Выводы

Анализ научных статей показал, что озонирование может найти широкое применение в хранении и переработке зерна в качестве «зеленой» технологии, обеспечивающей обеззараживание и детоксикацию сырья и готовой продукции без вреда для здоровья человека и животных, а также увеличение продолжительности их хранения. Благодаря этому озонирование является перспективной технологией для применения в сельском хозяйстве, пищевой и комбикормовой промышленности (рис. 3).

Но чтобы обеспечить широкое применение технологии обработки зерна и зернопродуктов озоном, необходимы дополнительные исследования, направленные на выявление рациональных параметров этого процесса применительно к конкретным объектам воздействия. В результате этих исследований необходимо установить значения концентрации озона, продолжительности обработки и других параметров, при которых происходит наиболее эффективное воздействие на конкретные виды патогенных микроорганизмов, насекомых-вредителей на различных стадиях развития, микотоксины и пестициды. Необходимо для каждого наименования зерна и зерновых продуктов подобрать параметры обработки озоном, не оказывающие вредного влияния на их качество.

Сдерживающим фактором для применения озона в переработке и хранении зерна является то, что большинство исследований, результаты которых рассмотрены в данном обзоре, были выполнены в лабораторных условиях и для практического применения на круп-



Рисунок 3. Применение озона в переработке и хранении зерна

Figure 3. Ozonation in grain processing and storage

ных промышленных и сельскохозяйственных предприятиях должны быть масштабированы.

В результате экспериментальных исследований было доказано, что озон обладает антимикробным, фунгицидным, инсектицидным и деградирующим микотоксины и пестициды действием. Эффективность озона при уничтожении патогенных микроорганизмов составляет 60–90 %, насекомых-вредителей 70–100 %, при деградации микотоксинов 50–70 %, а остатков пестицидов 70–92 %. В результате уничтожения патогенных микроорганизмов и насекомых-вредителей значительно увеличивается срок хранения зерна и продуктов его переработки. Разрушение озоном вторичных токсичных веществ, содержащихся в зерне, а именно микотоксинов и остатков пестицидов, делает его полностью безопасным для животных и человека. Озон не снижает качества зерна и хлебопродуктов, быстро распадается и не образует токсичных соединений.

На эффективность обработки озоном влияют многие факторы: влажность сырья, концентрация озона, длительность обработки, pH и температура среды, форма применения (газ или водный раствор) и некоторые другие. Конечному пользователю бывает сложно подобрать параметры озонирования, одинаково эффективные против различных видов патогенных организмов и токсичных химических веществ. Поэтому существует необходимость в стандартизации выполнения процесса озонирования зерна и зернопродуктов с целью упрощения подбора рациональных параметров для конечного пользователя.

Результаты некоторых исследований показывают положительное влияние озонирования на качество пшеничной муки и производимых из нее хлебопродуктов, но требуется дополнительное изучение этого эффекта для установления рациональных параметров его применения.

Озонирование зерна и продуктов его переработки является рентабельной технологией, обеспечивающую экономическую выгоду, обусловленную уве-

личением сроков хранения и уменьшением порчи зерна и зернопродуктов.

Помимо перечисленных выше достоинств, озонирование имеет и недостатки, которые вполне преодолимы.

Таким образом, озонирование обладает высоким потенциалом для применения в хранении и переработке зерна.

Критерии авторства

А. В. Брагинец – анализ литературных данных, подготовка первоначального варианта текста и доработка текста статьи. О. Н. Бахчевников – формулирование основной концепции исследования, критический анализ первоначального варианта текста.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Contribution

A.V. Braginets reviewed scientific literature, drafted the manuscript, and proofread the final version. O.N. Bakhchevnikov developed the research concept, supervised the research, and edited the draft.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

Acknowledgement

The authors thank the reviewers for the peer review of this work.

References/Список литературы

1. Pandiselvam R, Kothakota A. Recent applications of ozone in agri-food industry. *Ozone: Science and Engineering*. 2022;44(1):1–2. <https://doi.org/10.1080/01919512.2022.2018897>
2. Islam F, Imran A, Khalid MA, Afzaal M, Fatima M, Chauhan A, *et al.* Green energy process “Ozonation” and food safety: a comprehensive review. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2023;11(2):488–503. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.11.2.03>
3. Sun Y. Environmental regulation, agricultural green technology innovation, and agricultural green total factor productivity. *Frontiers in Environmental Science*. 2022;10:955954. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.955954>
4. Wang Y, Qiao XJ, Wang Z. Application of ozone treatment in agriculture and food industry. A review. *INMATEH-Agricultural Engineering*. 2022;68(3):861–872. <https://doi.org/10.35633/inmateh-68-86>
5. Remondino M, Valdenassi L. Different uses of ozone: environmental and corporate sustainability. Literature review and case study. *Sustainability*. 2018;10(12):4783. <https://doi.org/10.3390/su10124783>
6. Brodowska AJ, Nowak A, Śmigielski K. Ozone in the food industry: Principles of ozone treatment, mechanisms of action, and applications: An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2018;58(13):2176–2201. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1308313>
7. Burak L. Using ozonizing technology in the food industry. *Sciences of Europe*. 2022;98:85–100. (In Russ.). <https://doi.org/10.5281/zenodo.6973824>; <https://www.elibrary.ru/IORPDE>
8. Sivaranjani S, Prasath VA, Pandiselvam R, Kothakota A, Khaneghah AM. Recent advances in applications of ozone in the cereal industry. *LWT*. 2021;146:111412. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111412>
9. Pandiselvam R, Thirupathi V, Mohan S, Vennila P, Uma D, Shahri S, *et al.* Gaseous ozone: A potent pest management strategy to control *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) infesting green gram. *Journal of Applied Entomology*. 2019;143(4):451–459. <https://doi.org/10.1111/jen.12618>
10. Snyder H. Literature review as a research methodology: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*. 2019;104:333–339. <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.07.039>
11. Torraco RJ. Writing integrative reviews of the literature: Methods and purposes. *International Journal of Adult Vocational Education and Technology*. 2016;7(3):62–70. <https://doi.org/10.4018/IJAVET.2016070106>
12. Pandiselvam R, Sunoj S, Manikantan MR, Kothakota A, Hebbar KB. Application and kinetics of ozone in food preservation. *Ozone: Science and Engineering*. 2017;39(2):115–126. <https://doi.org/10.1080/01919512.2016.1268947>
13. Xue W, Macleod J, Blaxland J. The use of ozone technology to control microorganism growth, enhance food safety and extend shelf life: a promising food decontamination technology. *Foods*. 2023;12(4):814. <https://doi.org/10.3390/foods12040814>
14. Afsah-Hejri L, Hajeb P, Ehsani RJ. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2020;19(4):1777–1808. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12594>
15. Deng LZ, Tao Y, Mujumdar AS, Pan Z, Chen C, Yang XH, *et al.* Recent advances in non-thermal decontamination technologies for microorganisms and mycotoxins in low-moisture foods. *Trends in Food Science and Technology*. 2020;106:104–112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.012>

16. Burak L, Sapach A. Ozone technology as a method for storing food. *The Scientific Heritage*. 2022;86:21–33. (In Russ.). [Бурак Л. Ч., Сапач А. Н. Озоновая технология как способ сохранения пищевых продуктов // *The Scientific Heritage*. 2022. Т. 86. С. 21–33.]. <https://www.elibrary.ru/LQCSOJ>
17. Priorov IE, Nemtsov AS. Treatment of seeds and feed with ozone. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2020;4:186–190. (In Russ.). [Припоров И. Е., Немцов А. С. Обработка семян и кормов озоном // *известия оренбургского государственного аграрного университета*. 2020. Т. 4. С. 186–190.]. <https://www.elibrary.ru/DVHPOQ>
18. Rangel K, Cabral FO, Lechuga GC, Carvalho JPRS, Villas-Bôas MHS, Midlej V, et al. Detrimental effect of ozone on pathogenic bacteria. *Microorganisms*. 2021;10(1):40. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010040>
19. Savi GD, Scussel VM. Effects of Ozone Gas Exposure on Toxigenic Fungi Species from *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium Genera*. *Ozone: Science and Engineering*. 2014;36(2):144–152. <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.846824>
20. Levinskaite L, Vaicekauskyte V. Control of fungi isolated from cereals: Variations in the susceptibility of fungal species to essential oils, ozone, and UV-C. *International Journal of Food Science and Technology*. 2022;57(10):6389–6398. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15944>
21. Beber-Rodrigues M, Savi GD, Scussel VM. Ozone effect on fungi proliferation and genera susceptibility of treated stored dry paddy rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Food Safety*. 2015;35(1):59–65. <https://doi.org/10.1111/jfs.12144>
22. de Romero AC, de Moraes JBA, Augusto PED, Calori-Domingues MA. Ozonation of agri-food products for reducing mycotoxin contamination: challenges in grains and particulates processing. *Journal of Environmental Science and Health: Part B*. 2021;56(9):845–851. <https://doi.org/10.1080/03601234.2021.1962168>
23. Pandiselvam R, Thirupathi V, Anandakumar S. Reaction kinetics of ozone gas in paddy grains. *Journal of Food Process Engineering*. 2015;38(6):594–600. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12189>
24. Guo Y, Zhao L, Ma Q, Ji C. Novel strategies for degradation of aflatoxins in food and feed: A review. *Food Research International*. 2021;140:109878. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109878>
25. Mir SA, Dar BN, Shah MA, Sofi SA, Hamdani AM, Oliveira CA, et al. Application of new technologies in decontamination of mycotoxins in cereal grains: Challenges, and perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 2021;148: 111976. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.111976>
26. Jalili M. A review on aflatoxins reduction in food. *Iranian Journal of Health, Safety and Environment*. 2016;3(1):445–459. <http://ijhse.ir/index.php/IJHSE/article/view/136>
27. Porto YD, Trombete FM, Freitas-Silva O, de Castro IM, Direito GM, et al. Gaseous ozonation to reduce aflatoxins levels and microbial contamination in corn grits. *Microorganisms*. 2019;7(8):220. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7080220>
28. Trombete FM, Freitas-Silva O, Saldanha T, Venâncio AA, Fraga ME. Ozone against mycotoxins and pesticide residues in food: Current applications and perspectives. *International Food Research Journal*. 2016;23(6):2545–2556. <https://core.ac.uk/download/pdf/76178005.pdf>
29. Pankaj SK, Shi H, Keener KM. A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food. *Trends in Food Science and Technology*. 2018;71:73–83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.007>
30. Wang L, Luo Y, Luo X, Wang R, Li Y, Li Y, et al. Effect of deoxynivalenol detoxification by ozone treatment in wheat grains. *Food Control*. 2016;66:137–144. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.038>
31. Alexandre APS, Vela-Paredes RS, Santos AS, Costa NS, Canniatti-Brazaca SG, Calori-Domingues MA, et al. Ozone treatment to reduce deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEN) contamination in wheat bran and its impact on nutritional quality. *Food Additives and Contaminants: Part A*. 2018;35(6):1189–1199. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1432899>
32. Zhuang K, Zhang C, Zhang W, Xu W, Tao Q, Wang G, et al. Effect of different ozone treatments on the degradation of deoxynivalenol and flour quality in *Fusarium*-contaminated wheat. *CyTA-Journal of Food*. 2020;18(1):776–784. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1849406>
33. Krstović S, Krulj J, Jakšić S, Bočarov-Stančić A, Jajić I. Ozone as decontaminating agent for ground corn containing deoxynivalenol, zearalenone, and ochratoxin A. *Cereal Chemistry*. 2021;98(1):135–143. <https://doi.org/10.1002/cche.10289>
34. Shuai C, Li L, Yanhui H, Jin W, Zilong L, Xiaoxue S, J et al. Study on the degradation of deoxynivalenol in corn and wheat both in the lab and barn by low concentration ozone. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021;46(10):e15833. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15833>
35. Purar B, Djalovic I, Bekavac G, Grahovac N, Krstović S, Latković D, et al. Changes in *Fusarium* and *Aspergillus* mycotoxin content and fatty acid composition after the application of ozone in different maize hybrids. *Foods*. 2022;11(18):2877. <https://doi.org/10.3390/foods11182877>
36. Zhao L, Qi D, Ma Q. Novel strategies for the biodegradation and detoxification of mycotoxins in post-harvest grain. *Toxins*. 2023;15(7):445. <https://doi.org/10.3390/toxins15070445>
37. Qi L, Li Y, Luo X, Wang R, Zheng R, Wang L, et al. Detoxification of zearalenone and ochratoxin A by ozone and quality evaluation of ozonised corn. *Food Additives and Contaminants: Part A*. 2016;33(11):1700–1710. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1232863>

38. Conte G, Fontanelli M, Galli F, Cotrozzi L, Pagni L, Pellegrini E. Mycotoxins in feed and food and the role of ozone in their detoxification and degradation: An update. *Toxins*. 2020;12(8):486. <https://doi.org/10.3390/toxins12080486>
39. Wang S, Wang J, Wang T, Li C, Wu Z. Effects of ozone treatment on pesticide residues in food: a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 2019;54(2):301–312. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13938>
40. Aidoo OF, Osei-Owusu J, Chia SY, Dofuor AK, Antwi-Agyakwa AK, Okyere H, *et al.* Remediation of pesticide residues using ozone: A comprehensive overview. *Science of The Total Environment*. 2023;894:164933. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164933>
41. Pandiselvam R, Kaavya R, Jayanath Y, Veenuttranon K, Lueprasitsakul P, Divya V, *et al.* Ozone as a novel emerging technology for the dissipation of pesticide residues in foods—a review. *Trends in Food Science and Technology*. 2020;97:38–54. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.017>
42. Vijay Rakesh Reddy S, Sudhakar Rao DV, Sharma RR, Preethi P, Pandiselvam R. Role of ozone in post-harvest disinfection and processing of horticultural crops: A review. *Ozone: Science and Engineering*. 2022;44(1):127–146. <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1994367>
43. de Avila MBR, Faroni LRA, Heleno FF, de Queiroz MEL, Costa LP. Ozone as degradation agent of pesticide residues in stored rice grains. *Journal of Food Science and Technology*. 2017;54(12):4092–4099. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2884-1>
44. de Freitas RDS, Faroni LRDA, de Queiroz MELR, Heleno FF, Prates LHF. Degradation kinetics of pirimiphos-methyl residues in maize grains exposed to ozone gas. *Journal of Stored Products Research*. 2017;74:1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.08.008>
45. Savi GD, Piacentini KC, Scussel VM. Reduction in residues of deltamethrin and fenitrothion on stored wheat grains by ozone gas. *Journal of Stored Products Research*. 2015;61:65–69. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.12.002>
46. Savi GD, Piacentini KC, Bortolotto T, Scussel VM. Degradation of bifenthrin and pirimiphos-methyl residues in stored wheat grains (*Triticum aestivum* L.) by ozonation. *Food Chemistry*. 2016;203:246–251. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.069>
47. Kaur K, Kaur P, Kumar S, Zalpouri R, Singh M. Ozonation as a potential approach for pesticide and microbial detoxification of food grains with a focus on nutritional and functional quality. *Food Reviews International*. 2022;39(9):1–33. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2092129>
48. Rehal J, Kaur J, Samandeep, Diksha A. Removal of pesticide residues in food using ozone. *Food Chemistry Advances*. 2023;3:100512. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100512>
49. Boopathy B, Rajan A, Radhakrishnan M. Ozone: an alternative fumigant in controlling the stored product insects and pests: a status report. *Ozone: Science and Engineering*. 2022;44(1):79–95. <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1933899>
50. Isikber AA, Athanassiou CG. The use of ozone gas for the control of insects and micro-organisms in stored products. *Journal of Stored Products Research*. 2015;64:139–145. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.06.006>
51. de Sousa IG, Oliveira J, Mexia A, Barros G, Almeida C, Brazinha C, *et al.* Advances in environmentally friendly techniques and circular economy approaches for insect infestation management in stored rice grains. *Foods*. 2023;12(3):511. <https://doi.org/10.3390/foods12030511>
52. Dong X, Agarwal M, Xiao Y, Ren Y, Maker G, Yu X. Ozone efficiency on two coleopteran insect pests and its effect on quality and germination of barley. *Insects*. 2022;13(4):318. <https://doi.org/10.3390/insects13040318>
53. Baskakov IV. Grain ozonous treatment and its influence on stored-grain pests and insects. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2019;12(3):41–46. (In Russ.). <https://doi.org/10.17238/issn2071-2243.2019.3.41>; <https://www.elibrary.ru/JVSZIP>
54. Baskakov IV, Orobinsky VI, Vasilenko VV, Gievsky AM. Ozone disinfection of grain from granary weevil and confused flour beetle. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2022;52(5):42–48. (In Russ.). <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-5-5>; <https://www.elibrary.ru/TMCLGR>
55. Ingegno BL, Tavella L. Ozone gas treatment against three main pests of stored products by combination of different application parameters. *Journal of Stored Products Research*. 2022;95:101902. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101902>
56. Srivastava S, Mishra G, Mishra HN. Vulnerability of different life stages of *Sitophilus oryzae* insects in stored rice grain to ozone treatment and its effect on physico-chemical properties in rice grain. *Food Frontiers*. 2021;2(4):494–507. <https://doi.org/10.1002/fft2.89>
57. Abdelfattah NA, Marie AM, Fawki S. The Effect of Ozone on *Rhizopertha dominica*, *Tribolium Castaneum*, and Technological Properties of Wheat Flour. *Ozone: Science and Engineering*. 2023;45(9):1–15. <https://doi.org/10.1080/01919512.2023.2171363>
58. Hansen LS, Hansen P, Jensen KMV. Effect of gaseous ozone for control of stored product pests at low and high temperature. *Journal of Stored Products Research*. 2013;54:59–63. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.05.003>
59. Ramos GYR, Silva GN, Silva YNM, Silva YDM, Marques IS, da Silva GL, *et al.* Ozonation of cowpea grains: alternative for the control of *Callosobruchus maculatus* and maintenance of grain quality. *Agriculture*. 2023;13(5):1052. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051052>

60. Baskakov IV, Orobinsky VI, Gievsky AM, Gulevsky VA, Chernyshov AV. Ozone pest control of grain. Conference Series: Earth and Environmental Science. 2023;1138(1):012026. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1138/1/012026>
61. Sunisha K. Ozone fumigation in stored paddy: Changes in moisture content upon storage. Journal of Entomology and Zoology Studies. 2019;7(3):1137–1140. <https://www.entomoljournal.com/archives/2019/vol7issue3/PartS/7-2-83-452.pdf>
62. Kiryukhina AN, Grigoreva RZ, Kozhevnikova AYu. Bread Production and Bakery Products in Russia: Current State and Prospects. Food Processing: Techniques and Technology. 2019;49(2):330–337. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-330-337>; <https://www.elibrary.ru/XDTXYZ>
63. Sharma R, Singh A, Sharma S. Influence of ozonation on cereal flour functionality and dough characteristics: a review. Ozone: Science and Engineering. 2021; 43(6):613–636. <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1898337>
64. Li MM, Guan EQ, Bian K. Effect of ozone treatment on deoxynivalenol and quality evaluation of ozonised wheat. Food Additives and Contaminants: Part A. 2015;32(4):544–553. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.976596>
65. Dubois M, Coste C, Despres AG, Efstathiou T, Nio C, Dumont E, et al. Safety of Oxygreen®, an ozone treatment on wheat grains. Part 2. Is there a substantial equivalence between Oxygreen-treated wheat grains and untreated wheat grains? Food Additives and Contaminants. 2006;23:1–15. <https://doi.org/10.1080/02652030500316728>
66. Ding W, Wang Y, Zhang W, Shi YC, Wang D. Effect of ozone treatment on physicochemical properties of waxy rice flour and waxy rice starch. International Journal of Food Science and Technology. 2015;50(3):744–749. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12691>
67. Li M, Zhu KX, Wang BW, Guo XN, Peng W, Zhou HM. Evaluation of the quality characteristics of wheat flour and shelf-life of fresh noodles as affected by ozone treatment. Food Chemistry. 2012;135(4):2163–2169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.103>
68. Valieva AI, Akulov AN, Romyantseva NI. Phenolic compounds in purple whole-wheat flour and bread: Comparative analysis. Foods and Raw Materials. 2024;12(2):334–347. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-611>; <https://www.elibrary.ru/OJJZLQ>
69. Zhu F. Effect of ozone treatment on the quality of grain products. Food Chemistry. 2018;264:358–366. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.047>
70. Baskakov IV, Orobinsky VI, Gievsky AM, Chernyshov AV, Chernova OV. The influence of the ozonation process on the quality indicators of winter wheat grain. Storage and Processing of Farm Products. 2023;(1):177–189. (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.396>; <https://www.elibrary.ru/FTYMLS>
71. Mei J, Liu G, Huang X, Ding W. Effects of ozone treatment on medium-hard wheat (*Triticum aestivum* L.) flour quality and performance in steamed bread making. CyTA-Journal of Food. 2016;14(3):449–456. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1133714>
72. Lee MJ, Kim MJ, Kwak HS, Lim ST, Kim SS. Effects of ozone treatment on physicochemical properties of Korean wheat flour. Food Science and Biotechnology. 2017;26(2):435–440. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0059-5>; <https://www.elibrary.ru/FYPWQQ>
73. Obadi M, Zhu KX., Peng W, Sulieman AA, Mohammed K, Zhou HM. Effects of ozone treatment on the physicochemical and functional properties of whole-grain flour. Journal of Cereal Science. 2018;81:127–132. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.04.008>
74. Li M, Peng J, Zhu KX, Guo XN, Zhang M, Peng W, et al. Delineating the microbial and physical-chemical changes during storage of ozone-treated wheat flour. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2013;20:223–229. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.06.004>
75. Sandhu HP, Manthey FA, Simsek S. Quality of bread made from ozonated wheat (*Triticum aestivum* L.) flour. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2011;91(9):1576–1584. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4350>
76. Chittrakorn S, Earls D, MacRitchie F. Ozonation as an alternative to chlorination for soft wheat flours. Journal of Cereal Science. 2014;60(1):217–221. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.02.013>
77. Glowacz M, Colgan R, Rees D. The use of ozone to extend the shelf-life and maintain quality of fresh produce. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2014;95(4):662–671. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6776>
78. Tiwari BK, Brennan CS, Curran T, Gallagher E, Cullen PJ, O'Donnell CP. Application of ozone in grain processing. Journal of Cereal Science. 2010;51(3):248–255. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.01.007>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2522>
<https://elibrary.ru/RVVLBW>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Изменение состава пектиновых веществ при замораживании и хранении растительной продукции



О. Н. Румянцева

Университет ИТМО , Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию: 19.01.2024
Принята после рецензирования: 16.02.2024
Принята к публикации: 05.03.2024

О. Н. Румянцева: rumiantseva@itmo.ru;
<https://orcid.org/0000-0003-2032-6617>

© О. Н. Румянцева, 2024



Аннотация.

Производство и потребление замороженных растительных продуктов в последние годы продолжает увеличиваться. Перед производителями стоит задача разработки технологий замораживания овощной и плодово-ягодной продукции с оптимальными органолептическими свойствами и сохранением максимального количества биологически активных веществ. Важными структурными и влагосвязывающими компонентами растительных клеток, влияющими на их устойчивость при воздействии высоких и низких температур, являются пектиновые вещества. Цель данной работы заключалась в исследовании влияния бланширования и различных методов замораживания на состав пектиновых веществ при длительном хранении плодов и овощей.

Объекты исследования – скорцонера, овсяный корень, кольраби, яблоки и сливы. В ходе исследования проводили бланширование, воздушное (естественная, искусственная конвекция, флюидизация) и иммерсионное (смесь воды, этилового спирта, сахарозы, хлорида натрия) замораживание при температурах -24 , -35 °С. Замороженные образцы растительной продукции хранили в герметичной упаковке при -18 °С в течение 7–12 мес. Колориметрическим карбазольным методом определяли полученные экстракцией водорастворимый пектин, промежуточную фракцию, протопектин. Качественный анализ проводили методом ИК-спектроскопии.

Результаты свидетельствовали о том, что бланширование снижало содержание пектинов в овощах на 2–10 %, яблоках на 18–21 %. Флюидизация и иммерсионное замораживание оказывали наименьшее повреждающее действие на пектины. Наибольшие потери протопектина выявлены при замораживании в воздушной среде с естественной конвекцией. При хранении максимальные потери пектинов установлены в овсяном корне (-24 °С, естественная воздушная конвекция 66 %), наименьшие – в кольраби (-24 °С, ледяная среда 9 %). Выявлено, что чем больше влагосодержание тканей в нативном состоянии, тем меньше потери пектиновых веществ к концу холодильного хранения. Проведена идентификация полос поглощения пектиновых веществ в замороженных скорцонере и овсяном корне.

На потери пектиновых веществ оказывали влияние влагосодержание тканей, процесс бланширования и способ замораживания. После замораживания всех образцов были выявлены потери протопектина и увеличение промежуточной фракции. Интенсификация процесса замораживания положительно влияет на содержание пектинов при длительном хранении, однако хранение более 6 мес. приводит к значительным фракционным изменениям и потерям пектиновых веществ.

Ключевые слова. Растительные продукты, пектиновые вещества, замораживание, бланширование, ИК-спектры, качество

Финансирование. Работа выполнена на базе Университета ИТМО (ранее в Санкт-Петербургском государственном университете низкотемпературных и пищевых технологий) по результатам многолетних исследований под руководством д.т.н., профессора Валентины Степановны Колодязной.

Для цитирования: Румянцева О. Н. Изменение состава пектиновых веществ при замораживании и хранении растительной продукции // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 495–507. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2522>

Pectin Changes during Freezing and Storage of Plant Products



Olga N. Rumiantceva^{ID}

ITMO University^{ROR}, St. Petersburg, Russia

Received: 19.01.2024

Revised: 16.02.2024

Accepted: 05.03.2024

Olga N. Rumiantceva: rumiantseva@itmo.ru;

<https://orcid.org/0000-0003-2032-6617>

© O.N. Rumiantceva, 2024



Abstract.

To keep up with the growing demand, producers of frozen plant products have to develop new freezing technologies that would preserve the sensory and biological properties of fruits and vegetables. Pectins are important structural and moisture-binding components of plant cells that improve their stability at high and low temperatures. The research objective was to study the effect of blanching and various freezing methods on the composition of pectin substances during long-term storage of fruits and vegetables.

The research featured scorzoner, salsify, kohlrabi, apples, and plums. The freezing modes included two temperature modes (–24 and –35°C) and three freezing methods, i.e., blanching, air-freezing represented by natural air-freezing, artificial convection, and fluidization, and immersion in a mix of water, ethyl alcohol, sucrose, and sodium chloride. The frozen samples were stored in sealed bags at –18°C for 7–12 months. The water-soluble pectin, intermediate fraction, and protopectin obtained by extraction were determined using the colorimetric carbazole method. The qualitative analysis relied on infrared spectroscopy.

Blanching reduced the pectin content by 2–10% in vegetables and by 18–21% in apples. Fluidization and immersion freezing had the least damaging effect on pectins. Air-freezing with natural convection caused the greatest damage to protopectin. During storage, the maximal loss of pectins (66%) occurred in the salsify sample subjected to natural air convection at –24°C. The least damage (9%) was detected in the kohlrabi sample frozen at –24°C in ice environment. A higher moisture content in the native state correlated with minimal losses of pectins by the end of refrigerated storage. The research also included identification of absorption bands for pectic substances in frozen scorzoner and salsify.

In this study, pectin content depended on moisture content in tissues, blanching process, and freezing method. All frozen samples demonstrated losses of protopectin and an increase in the intermediate fraction. An intense freezing process had a positive effect on the pectin content during long-term storage. However, after six months of storage, the samples demonstrated significant fractional changes and pectin losses.

Keywords. Plant products, pectin substances, freezing, blanching, infrared spectra, quality

Funding. The research was carried out on the premises of the ITMO University^{ROR} (formerly at the St. Petersburg State University of Low Temperature and Food Technologies) and show the results of long-term studies under the supervision of Dr. Valentina S. Kolodyaznaya.

For citation: Rumiantceva ON. Pectin Changes During Freezing and Storage of Plant Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):495–507. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2522>

Введение

Мировой объем рынка замороженных фруктов и овощей в 2023 г. составил 4,31 млрд долл. США, и по прогнозам специалистов к 2033 г. рынок замороженных растительных продуктов удвоится [1].

Растущий рынок ставит задачу разработки технологий замораживания овощных и плодово-ягодных культур высокого качества с максимальным содержанием биологически активных веществ, пониженной энергетической ценностью и оптимальными органолептическими свойствами. При построении моделей развития низкотемпературной отрасли необходимо

учитывать лимитирующие экологические факторы с учетом целей устойчивого развития и движения к углеродной нейтральности [2].

В связи с запуском мировой инициативы «Переход к –15 °С» изучение качества замороженных продуктов при различных условиях замораживания и хранения становится особенно актуальным [3].

Для производства замороженной растительной продукции высокого качества необходимо проведение многофакторных исследований, влияющих на обратимость процесса замораживания, таких как: параметры тепловой обработки, скорость замораживания, характер

кристаллообразования и локализации льда, химический состав и структура ткани, вязкость протоплазмы, проницаемость клеточных мембран и др.

Для продуктов растительного происхождения с высокой ферментативной активностью, особенно овощей, необходимо применение предварительной обработки перед замораживанием для инактивации тканевых ферментов. В настоящее время самым распространенным промышленным способом предварительной тепловой обработки перед замораживанием является бланширование в воде, растворах кислот и солей, или обработка паром.

Тепловая денатурация белковых веществ под действием высоких температур приводит к инактивации большей части тканевых ферментов, в частности ферментов класса оксидоредуктаз. Инактивация ферментов положительно влияет на качественный состав растительных продуктов при дальнейшем замораживании и хранении. Однако при воздействии высоких температур изменяется количество свободной влаги в тканях, а также происходят потери компонентов химического состава продуктов в среду для бланширования.

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что одной из основных причин необратимых изменений растительных продуктов при замораживании является нарушение нативной структуры тканей вследствие негативного влияния повышенных и пониженных температур, фазового превращения воды в лед. Изменения в структуре плодов и овощей при замораживании носят неспецифический характер в отношении общих закономерностей клеточной организации [4–6].

На качество замороженного продукта существенно влияют технологические режимы замораживания, определяющие процессы кристаллообразования в растительных тканях. Характер кристаллообразования зависит от многих факторов, таких как количество свободной и связанной воды, концентрации растворенных веществ в клетке, степени гидратации белков, а также состояния клеточных оболочек тканей, в том числе количественного и фракционного состава пектиновых веществ [7, 8].

Пектиновые вещества являются важнейшими биохимическими компонентами растительной клетки. Пектины наряду с целлюлозой и гемицеллюлозой составляют основу структуры клеточной стенки, которая выполняет формообразовательную функцию, регулирует водообмен и защищает протопласт от неблагоприятных воздействий [9, 10].

Пектиновые вещества являются сильно гидрофильными соединениями, способными адсорбировать до пятнадцатикратного по весу количество воды. В природе гидрофильные свойства пектиновых веществ служат для регулирования водного режима растений. При замораживании пектиновые вещества активно участвуют в гелеобразовании, что увеличивает способность растительной ткани удерживать влагу и повышает обратимость процесса замораживания [11].

При проведении процессов предварительной обработки и замораживания растительного сырья меняется как общее содержание пектиновых веществ, так и их фракционный состав и физико-химические свойства.

В настоящее время считается, что пектины находятся в растениях в трех формах: водорастворимый пектин – водорастворимые частично этерифицированные (степень этерификации 20–90 %) пектиновые кислоты; промежуточная фракция с пониженной растворимостью в воде, содержащая пектиновые и пектовые кислоты, а также их соли, и нерастворимый протопектин – Ca-Mg соли пектиновой кислоты.

Водорастворимый пектин, содержащийся главным образом в клеточном соке растений, является веществом кислотного характера и обладает свойствами коллоидов. Протопектин, наряду с целлюлозой и гемицеллюлозой, составляет основу клеточной стенки растений и представляет собой сложный органический комплекс водорастворимого пектина, связанного с веществами клеточных стенок: полигалактуроновой кислотой, целлюлозой, гемицеллюлозой, галактозой, арабинозой и ксилозой. Считается, что протопектин образует многовалентные ионные мостиковые связи через ионы кальция и магния между карбоксильными группами полигалактуроновой кислоты ($C_5H_7O_4COOH$).

Нерастворимая в воде фракция пектиновых веществ под действием ферментов может подвергаться гидролизу с образованием водорастворимого пектина, пектовых и пектиновых кислот с отщеплением галактуроновой, уксусной кислот, метилового спирта, а также целлюлозы и гемицеллюлозы, входящих в комплекс с протопектином. Ферментативный гидролиз катализируют пектинэстераза, эндополигалактуроназа, экзополигалактуроназа; не гидролитическое расщепление пектиновых веществ катализируют ферменты из класса лиаз-пектин-транс-элиминазы [12, 13].

Гидролиз протопектина происходит поэтапно: на первом этапе протопектин расщепляется на нерастворимый компонент (арабан и клетчатка) и водорастворимый пектин под действием протопектиназы, на следующем этапе водорастворимый пектин под влиянием пектазы и пектиназы распадается до низкомолекулярных фракций, вплоть до свободной галактуроновой кислоты.

Изменения в составе пектиновых веществ также могут происходить и под воздействием окислительной системы растительных тканей, возможно, разрушение пектина совместным действием аскорбиновой кислоты и органических перекисей [14].

Растворимый пектин, пектиновые и пектовые кислоты могут подвергаться дальнейшему гидролизу с образованием мелких фрагментов полимерной цепи из остатков D-галактуроновой кислоты.

Структура пектиновых веществ и их изменение в процессе замораживания влияют на состав и свойства замороженных растительных продуктов, такие как вкус и консистенция, а также на влагоотдачу, что особенно важно при проведении дефростации [15].

Таким образом, целью исследования являлся анализ изменения пектиновых веществ при различных режимах предварительной тепловой обработки, замораживания и длительного хранения растительных продуктов.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования были выбраны пектиновые вещества овощных и плодовых культур с различными видами растительных тканей (корнеплоды, стеблеплоды, косточковые и семечковые плоды), с различными способами предварительной обработки, замораживания в воздушной и в жидких средах при длительном хранении. Данные по пектиновым веществам были получены в результате многолетних исследований (О. Н. Румянцева, Д. А. Перегудова, В. Н. Соколов, С. С. Дерябина) в Университете ИТМО (ранее Санкт-Петербургском государственном университете низкотемпературных и пищевых технологий) под руководством д-р.техн.наук, профессора Валентины Степановны Колодязной, в том числе в рамках международного проекта Европейского Союза IC 15 CT98 0912 “Development of a Novel Cost-effective Technology for Individual Quick Freezing of foods by Hydrofluidisation (HyFloFreeze)” [16–18].

В работе изучался состав и динамика содержания пектиновых веществ в овощных и плодовых культурах: – корнеплоды скорцонеры (*Scorzonera hispanical*) сорт *Annual giant elite* и овсяного корня (*Tragopogon porrifolus*), сорт *Mammouth atergrosse racine* – многолетние растения семейства Астровых; – стеблеплоды кольраби (вид *Brassica oleraceae var. gongiloides*) – семейство Капустных; – плоды яблок осенних сортов (Китайка, Душистое, Штрифель); – плоды сливы – сорт Стенлей.

В работах О. Н. Румянцевой, Д. А. Перегудовой, В. Н. Соколова, С. С. Дерябиной определено содержание сухого вещества в растительных тканях: корнеплоды скорцонеры – 19 %, корнеплоды овсяного корня – 25 %, стеблеплоды кольраби – 10,5 %, плоды яблок – 14 %, плоды сливы – 13 %.

Для исследования корнеплоды скорцонеры и овсяного корня, стеблеплоды кольраби, плоды яблок резались на кубики, сливы резались на половинки и удалялись косточки. Для растительных тканей с высокой активностью окислительных ферментов проводили бланширование при следующих режимах: кольраби – в воде при температуре 99 ± 1 °C в течение 1,5 мин., скорцонера и овсяный корень в 0,2 % растворе лимонной кислоты при температуре 99 ± 1 °C в течение 3 и 6 мин., яблоки – при температуре 95 ± 1 °C в 0,5 % растворе лимонной кислоты в течение 2 мин.

Замораживание проводили следующими способами:

– скорцонера, овсяный корень – в воздушной среде: в монослое при температуре замораживания -24 °C,

во флюидизационном аппарате (лабораторный стенд) при температуре -35 °C и скорости воздуха 3 м/с; – кольраби – при температуре -24 °C в воздушной среде и методом погружения в ледяную суспензию, состоящую из воды, этилового спирта, сахарозы и хлорида натрия в соотношениях 59:26:10:5 при свободном движении;

– яблоки – при температуре -24 и -35 °C в воздушной среде при движении воздуха 4 м/с;

– сливы – при температуре -24 °C в монослое россыпью в условии естественной конвекции воздуха, а также методом погружения в жидкий хладоноситель, состоящий из воды, этилового спирта и сахарозы в соотношении 55:20:25 соответственно.

Объекты замораживали до среднеобъемной конечной температуры -18 °C при всех вариантах обработки и хранили при этой температуре в герметичной упаковке в течение 7–12 мес.

Качественное и количественное определение содержания фракций пектиновых веществ

Определение пектиновых веществ в растительных объектах проводили в свежих образцах, после проведения бланширования, непосредственно после проведения замораживания и в процессе длительного хранения.

Поскольку нельзя четко провести разграничение пектиновых веществ по растворимости, было принято, что водорастворимый пектин экстрагируется водой, промежуточная фракция с пониженной растворимостью в воде – соляной кислотой и ацетатом натрия, нерастворимый протопектин – щёлочью.

Выделение пектиновых веществ проводилось по методу М. П. Филиппова – в мягких условиях при 45 °C водой, 0,01н раствором соляной кислоты и 0,25М ацетатом натрия, при 20 °C – 0,1н раствором едкого натрия [19].

После получения трех фракций, содержащих пектиновые вещества, использовался колориметрический карбазольный метод с измерением интенсивности окраски на колориметре фотоэлектрическом концентрационном КФК-2 (Россия).

Качественное изучение молекулярного химического состава биологических объектов проводили методом ИК-спектроскопии.

В работе использовался спектрометр SPECORD (Германия) с охватом средней инфракрасной области с длиной волны 2,5...25 мкм (волновое число – 4000...400 см⁻¹). Для подготовки образцов выделяли фракции пектиновых веществ с помощью экстракции, затем наносили исследуемый материал на оптический элемент с соблюдением постоянства размеров и проводили сушку внутреннего слоя под вакуумом. Для анализа спектров пектиновых веществ применяли метод базисных линий. Сравнение спектров проводили по относительным оптическим плотностям характеристических частот поглощения.

Эксперименты проводили в трехкратной повторности, данные обрабатывали методом математической

статистики с нахождением доверительного интервала при вероятности 0,95 с использованием стандартных компьютерных программ. На рисунках приведены средние арифметические значения изучаемых показателей и доверительный интервал.

Результаты и их обсуждение

Для изучения изменений общего количества и состава пектиновых веществ при длительном хранении с различными методами предварительной обработки и замораживания рассматривались растительные продукты с различными характеристиками – корнеплоды, стеблеплоды, семечковые и косточковые плоды.

Проводили анализ по следующим показателям: протопектин, водорастворимый пектин, промежуточная фракция, сумма пектиновых веществ.

Исследование динамики пектиновых веществ при применении классических способов бланширования и замораживания с естественной конвекцией при температуре $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ и в кипящем слое при температуре $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ проводили в корнеплодах скорцонера и овсяного корня (рис.1).

При бланшировании и замораживании корнеплодов скорцонера и овсяного корня наблюдалось незначительное снижение количества пектиновых веществ, при этом происходило уменьшение протопектина и увеличение содержания промежуточной и растворимой фракции. Характер изменений обусловлен в первую очередь скоростью процесса замораживания. Общее содержание пектиновых веществ уменьшалось при бланшировании на 2–3 %, при медленном замораживании: овсяный корень – на 10 %, скорцонера – на 6 %, при быстром замораживании: овсяный корень – на 2 %, скорцонера – на 3 %.

Характер изменения протопектина является более существенным. Тепловая обработка оказывает мень-

шее воздействие по сравнению с процессом замораживания. Потери протопектина после проведения бланширования и при медленном и быстром замораживании составили: скорцонера 54 и 46 %; овсяный корень 34 и 9 % соответственно.

В процессе хранения корнеплодов (рис.2) содержание пектиновых веществ уменьшалось за счет снижения состава всех фракций. К 7-му мес. хранения потери пектиновых веществ в зависимости от способа замораживания составили: скорцонера 52–55 %, овсяный корень 51–66 %.

Важно изучение не только количественных характеристик пектиновых веществ, но и качественных. ИК-спектроскопия позволяет не только идентифицировать химические вещества, но и устанавливать наличие связей и присутствие различных групп атомов в молекуле.

Пектиновые вещества растений содержат разнообразные функциональные группы: кислые соли полигалактуроновой кислоты, нейтральные полисахариды, ацелированные гидроксильные группы т. п. Идентификацию пектиновых веществ проводили по ИК-спектрам методом сопоставления полос поглощения в сравнении с пектиновыми соединениями известной структуры.

В работе изучались спектры трех фракций пектиновых веществ (водорастворимый пектин, промежуточная фракция и протопектин) корнеплодов овсяного корня и скорцонера в свежем, замороженном виде и после 3 и 7 мес. хранения.

Анализ полученных спектров показал, что во всех фракциях пектиновых веществ корнеплодов имеются полосы валентных колебаний карбонил карбоксильных $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{A}} = 1745\text{ см}^{-1}$ и наиболее интенсивных – сложноэфирных $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{E}} = 1750\text{ см}^{-1}$ групп. Следовательно, во всех фракциях содержатся слабометилированные пектиновые вещества. Также во всех трех

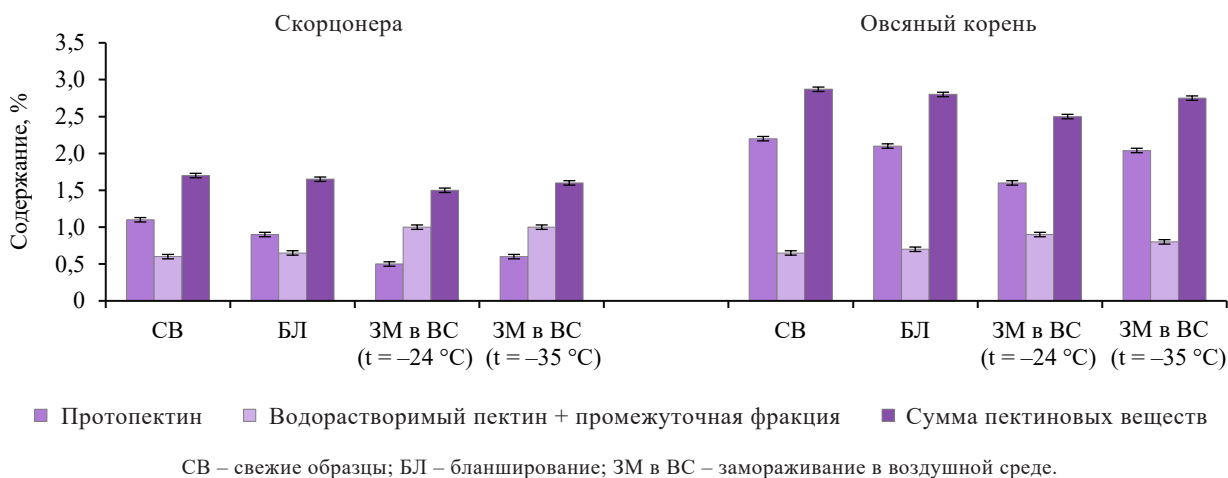


Рисунок 1. Изменение содержания пектиновых веществ и их фракций в корнеплодах скорцонера и овсяного корня при бланшировании и замораживании

Figure 1. Pectins and their fractions after blanching and freezing: scorzonera and salsify

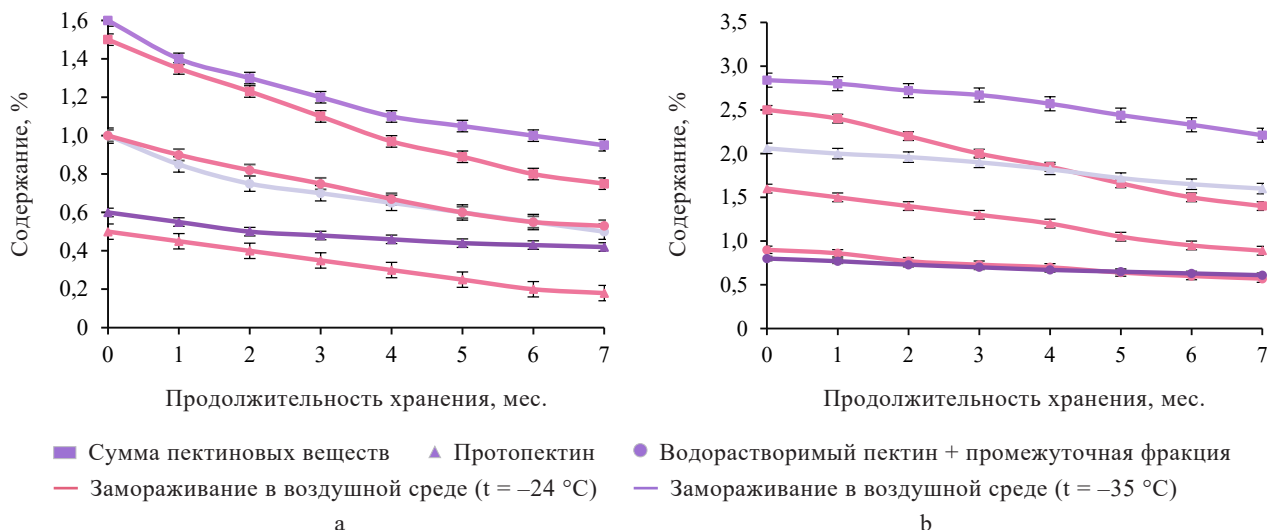


Рисунок 2. Изменение содержания пектиновых веществ и их фракций в корнеплодах скорцонеры и овсяного корня при хранении: а – скорцонера, б – овсяный корень

Figure 2. Pectins and their fractions in scorzonera and salsify during storage: a – scorzonera, b – salsify

фракциях присутствует полоса ($\delta(\text{H}_2\text{O}) = 1640 \text{ см}^{-1}$) поглощения воды. В свежих тканях полоса поглощения воды ярко выражена, а при замораживании и холодильном хранении интенсивность этой полосы в промежуточной фракции и протопектине снижается значительно.

В водорастворимой фракции пектиновых веществ наблюдались незначительные полосы при 1400 и 1600 см^{-1} , относящиеся к колебаниям ионизированного карбоксилата. Однако при замораживании и хранении их интенсивность увеличивается, особенно в промежуточной фракции и протопектине.

Во всех фракциях корнеплодов имеется ярко выраженная полоса деформационных плоскостных колебаний $\delta(\text{COO}^-)$, которая не изменяется при проведении замораживания и хранения. Представляет интерес полоса 920 см^{-1} , вызванная маятниковыми колебаниями метила в сложном эфире $\rho(\text{CH}_3)_E$. Она наблюдалась во всех фракциях пектиновых веществ, однако ее интенсивность в протопектине значительно ниже, чем в водорастворимом пектине и промежуточной фракции, что позволяет сделать вывод о малом метилировании протопектина, т. е. о его меньшей растворимости.

Сравнение спектров фракций пектиновых веществ корнеплодов в зависимости от способа замораживания и продолжительности хранения, проводилось по состоянию карбоксильной группы, которая оценивалась по полосам валентных колебаний ионизированного карбоксилата $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-) = 1600 \text{ см}^{-1}$ и $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-) = 1400 \text{ см}^{-1}$, деформационных плоскостных колебаний $\delta(\text{COO}^-) = 1024 \text{ см}^{-1}$, а также по состоянию метоксильной группы, вызванной маятниковыми колебаниями метила в сложном эфире $\rho(\text{CH}_3)_E = 930 \text{ см}^{-1}$.

Значения относительной оптической плотности указанных пиков в процессе замораживания и хранения

овсяного корня представлены в таблице 1. Относительная оптическая плотность Dd_i вычислена по внутреннему стандарту – постоянной полосе колебаний карбонил карбоксильной группы $\nu(\text{C=O})_A = 1745 \text{ см}^{-1}$.

Как видно из таблицы 1 интенсивность полос колебаний ионизированного карбоксилата ярко выражена в промежуточной фракции и протопектине. Значительное увеличение интенсивности полос колебаний ионизированного карбоксилата установлено в протопектине при замораживании, а при хранении наблюдается уменьшение интенсивности данных полос. Возможно, это связано со снижением степени метилирования и увеличения количества ионизированных карбоксильных групп.

Анализ ИК-спектров пектиновых веществ корнеплодов овсяного корня и скорцонеры позволяет получить информацию об изменении их качественного состава при замораживании и длительном хранении.

Влияние воздушного замораживания и тепловой обработки на состав пектиновых веществ также оценивали на плодах яблок осенних сортов – Душистое, Штрифель, Китайка.

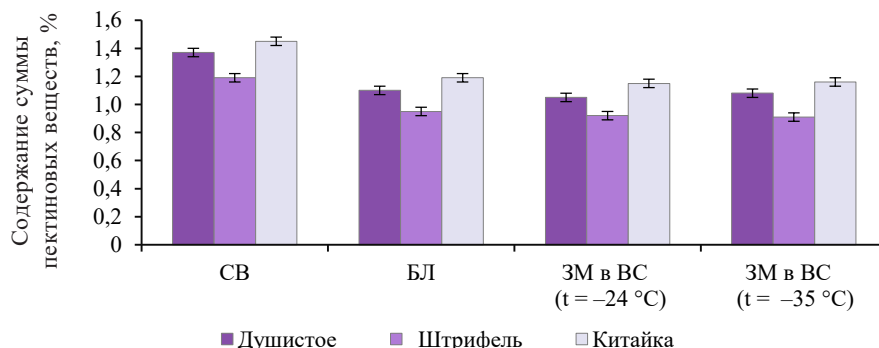
Данные по изменению суммы пектиновых веществ при применении бланширования и воздушного замораживания яблок при температурах -24 и -35 °C представлены на рисунке 3.

Из представленных данных видно, что большой вклад в уменьшение пектиновых веществ вносит бланширование (18–21 %). Дальнейший процесс замораживания при температурах -24 и -35 °C не оказывает существенного влияния на суммарное содержание пектиновых веществ (4–5 %). Однако при хранении замороженных яблок (рис. 4) сумма пектиновых веществ незначительно уменьшается в течение 9 мес.,

Таблица 1. Относительная оптическая плотность характерных типов колебаний карбоксильной группы и метила фракций пектиновых веществ в овсяном корне

Table 1. Relative optical density of vibrations typical of carboxyl group and methyl fractions of pectins: salsify

Образцы	Продолжительность, мес.	Фракции	Относительная оптическая плотность (DD_{λ}) для характерных типов колебаний ν , см^{-1}			
			1600	1400	1024	930
Свежие корнеплоды	0	Водорастворимый пектин	2,4	0,3	7,2	3,0
		Промежуточная фракция	14,7	14,4	10,9	2,5
		Протопектин	5,3	6,0	2,8	1,0
Замораживание в воздушной среде ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)	0	Водорастворимый пектин	2,3	0,2	13,5	2,5
		Промежуточная фракция	11,5	11,0	9,4	2,6
		Протопектин	11,6	11,8	7,5	0,7
	3	Водорастворимый пектин	1,2	0,6	6,8	2,8
		Промежуточная фракция	12,3	10,8	10,4	0,4
		Протопектин	4,6	3,5	3,2	0,8
	7	Водорастворимый пектин	0,8	1,9	8,4	3,7
		Промежуточная фракция	10,8	10,9	7,2	2,8
		Протопектин	3,7	5,1	4,8	0,4
Замораживание в воздушной среде ($t = -35\text{ }^{\circ}\text{C}$)	0	Водорастворимый пектин	0,7	0,8	10,1	3,7
		Промежуточная фракция	11,4	11,1	9,67	2,8
		Протопектин	8,1	8,4	5,5	1,1
	3	Водорастворимый пектин	1,1	0,7	5,7	2,4
		Промежуточная фракция	18,4	18,3	12,0	5,0
		Протопектин	6,2	2,8	7,7	0,9
	7	Водорастворимый пектин	1,0	1,5	13,4	2,5
		Промежуточная фракция	9,4	6,8	7,5	3,3
		Протопектин	4,8	4,8	3,7	1,0



СВ – свежие образцы; БЛ – бланширование; ЗМ в ВС – замораживание в воздушной среде.

Рисунок 3. Изменение содержания суммы пектиновых веществ в процессе бланширования и замораживания яблок сортов Душистое, Штрифель и Китайка

Figure 3. Pectins during blanching and freezing: three cultivars of apples

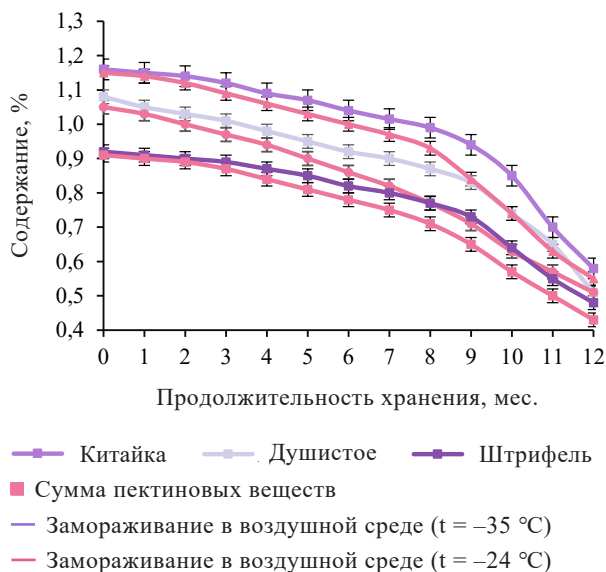


Рисунок 4. Изменение содержания суммы пектиновых веществ в процессе хранения замороженных яблок сортов Душистое, Штрифель и Китайка

Figure 4. Total pectins during storage: three cultivars of apples

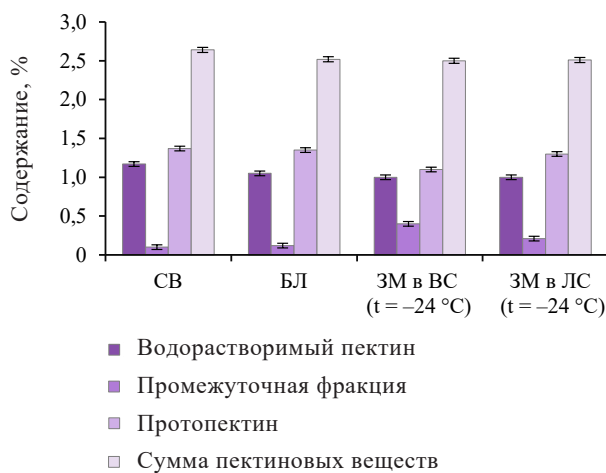


Рисунок 5. Изменение содержания фракций пектиновых веществ при бланшировании и замораживании кольраби

Figure 5. Pectin fractions during blanching and freezing: kohlrabi

но с 9 по 12 мес. происходит резкое снижение содержания пектиновых веществ независимо от сорта и температуры замораживания.

Полученные кривые динамики суммы пектиновых веществ (СПВ) при длительном хранении аппроксимированы следующими уравнениями:

1) Сорт Китайка

Замораживание в воздушной среде, $t = -24 \text{ }^\circ\text{C}$:
 $\text{СПВ} = -0,0047\tau^2 + 0,009\tau + 1,13$; $R^2 = 0,9754$;

Замораживание в воздушной среде, $t = -35 \text{ }^\circ\text{C}$:
 $\text{СПВ} = -0,0051\tau^2 + 0,018\tau + 1,13$; $R^2 = 0,9677$.

2) Сорт Душистое

Замораживание в воздушной среде, $t = -24 \text{ }^\circ\text{C}$:
 $\text{СПВ} = -0,0004\tau^3 + 0,0039\tau^2 - 0,034\tau + 1,07$; $R^2 = 0,9961$;

Замораживание в воздушной среде, $t = -35 \text{ }^\circ\text{C}$:
 $\text{СПВ} = 0,00003\tau^3 - 0,0031\tau^2 - 0,014\tau + 1,04$; $R^2 = 0,9946$.

3) Сорт Штрифель

Замораживание в воздушной среде, $t = -24 \text{ }^\circ\text{C}$:
 $\text{СПВ} = 0,0003\tau^3 - 0,0015\tau^2 - 0,019\tau + 0,91$; $R^2 = 0,9872$;

Замораживание в воздушной среде, $t = -35 \text{ }^\circ\text{C}$:
 $\text{СПВ} = -0,0003\tau^3 + 0,002\tau^2 - 0,016\tau + 0,92$; $R^2 = 0,9788$.

На качество замороженной продукции существенное влияние оказывает скорость замораживания, определяющая количество, размеры и равномерность распределения кристаллов льда в растительных тканях. При замораживании важно, чтобы образовывались кристаллы маленьких размеров и их размещение соответствовало естественному распределению жидкости в ткани. Эти задачи достигаются при проведении быстрого замораживания (от 3 до 10 см/ч), при котором коллоидные системы растительных тканей не претерпевают существенных изменений и полнее восстанавливаются после дефростации [20, 21].

Интенсификация процесса замораживания может достигаться за счет применения не кипящих жидкостей.

В работе исследовали изменения в пектиновых веществах при контактном (иммерсионном) замораживании стеблеплодов кольраби с образованием ледяных суспензий в жидкой среде, состоящей из воды, этилового спирта, сахарозы и хлорида натрия в соотношениях 59:26:10:5.

Данные по изменению пектиновых веществ при бланшировании, замораживании в воздушной и жидкой средах при $-24 \text{ }^\circ\text{C}$ представлены на примере стеблеплодов кольраби (рис. 5).

В свежих стеблеплодах массовая доля пектиновых веществ составляет 2,64 %. Наибольшее содержание из трех фракций пектиновых веществ составляет протопектин 52 %. При проведении бланширования происходит снижение количества растительных продуктов на 10 %, протопектина на 1,5 % и увеличение количества промежуточной фракции на 20 %. При проведении замораживания происходит аналогичная динамика: снижается содержание водорастворимого пектина и протопектина, а содержание промежуточной фракции возрастает (воздушная среда в 2,5 раза, ледяная суспензия в 1,6 раза).

Потери пектиновых веществ и перераспределение фракционного состава при бланшировании и замораживании, вероятно, происходят вследствие гидролиза эфирных связей в молекулах пектиновых кислот (под действием пектинэстеразы) и снижения степени этерификации, в результате чего гидрофильные метильные группировки высвобождаются, а пектиновые кислоты становятся менее растворимыми и переходят в промежуточную фракцию пектиновых веществ. При этом

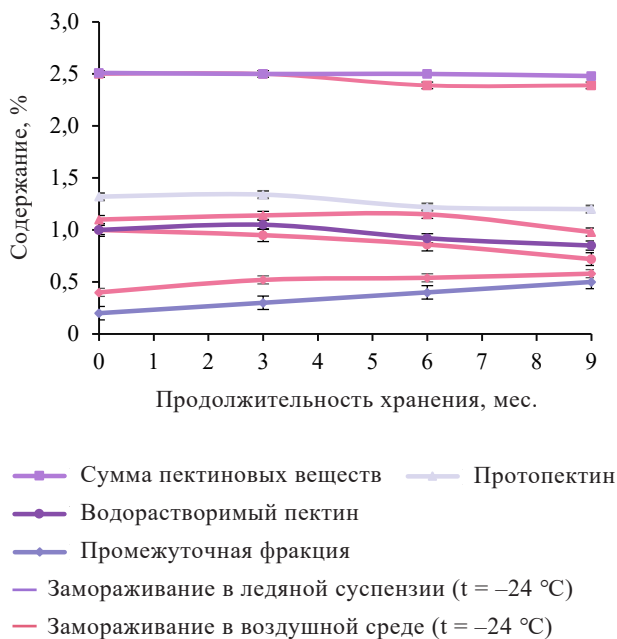


Рисунок 6. Изменение содержания фракций пектиновых веществ при хранении замороженной кольраби

Figure 6. Pectin fractions during refrigerated storage: kohlrabi

молекулы протопектина теряют связи с целлюлозными микрофибриллами в матриксе клеточных стенок, гидролизуются под действием температуры и под влиянием эндо- и экзополигалактуроназ. Высвобождающиеся молекулы протопектина становятся более гидрофильными и также переходят в промежуточную фракцию.

Изменение содержания фракций пектиновых веществ в процессе хранения кольраби, замороженной в воздушной среде и в ледяной суспензии приведены на рисунке 6.

При хранении замороженных стеблеплодов после всех видов замораживания наблюдается снижение количества растительных продуктов на 28 и 15 %, повышение содержания промежуточной фракции в 1,4 и 2,2 раза, понижение количества протопектина на 11 и 10 % (воздушная среда, ледяная суспензия соответственно) по сравнению со свежеморожеными образцами.

При хранении стеблеплодов, замороженных в воздушной среде, наблюдаются наибольшие изменения во всех фракциях пектиновых веществ, наименьшие негативные изменения пектиновых веществ установлены в бланшированной и замороженной кольраби в ледяной суспензии.

Можно сделать вывод о том, что быстрое замораживание в жидкой ледяной среде позволяет максимально сохранить свойственное свежему продукту распределение пектиновых веществ по фракциям.

Изменение пектиновых веществ при иммерсионном замораживании также изучали на плодах сливы. Приме-

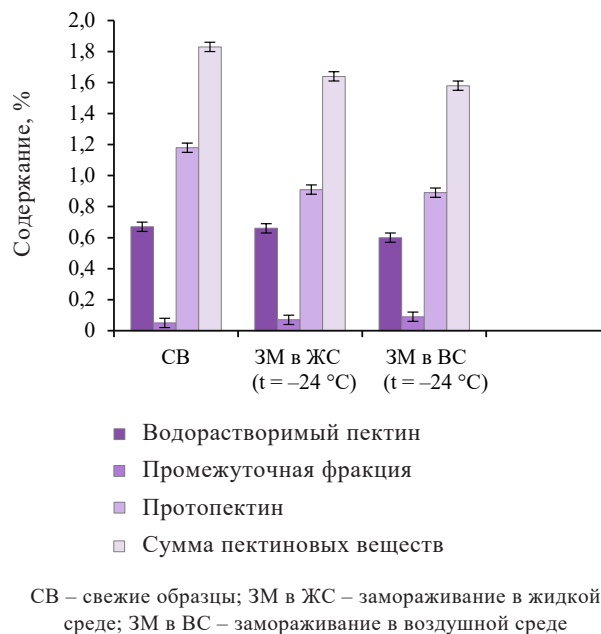


Рисунок 7. Изменение содержания фракций пектиновых веществ плодов сливы при замораживании в воздушной среде и жидком хладоносителе

Figure 7. Pectin fractions during freezing in air and liquid: plums

нение воздушного замораживания (замораживание в воздушной среде, $t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$) и контактного замораживания в жидкой среде (замораживание в жидкой среде, $t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$). Для замораживания использовали жидкий хладоноситель состоящий из воды, спирта и сахарозы в соотношении 55:20:25, при температуре $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ [16].

Как следует из рисунка 7, в свежих плодах значительную массовую долю пектиновых веществ составляет протопектин 62 %, а промежуточная фракция практически отсутствует. При проведении замораживания возрастает концентрация промежуточной фракции на 40 % в жидкой среде и на 80 % в воздушной среде, сумма пектиновых веществ снижается на 10 и 13 %, соответственно.

На рисунке 8 представлены данные по изменению массовой доли пектиновых веществ, содержащихся в различных фракциях, в процессе длительного хранения после замораживания в воздухе и жидком хладоносителе.

При хранении замороженных плодов сливы в течение 12 мес. происходит снижение общего содержания пектиновых веществ на 14 % и протопектина на 33 % не зависимо от технологии замораживания.

Уменьшение содержания пектиновых веществ в процессе хранения, вероятно, можно объяснить продолжающимся действием пектолитических ферментов и неферментативным гидролизом нерастворимой формы пектиновых веществ, которая переходит в водорастворимую, претерпевающую дальнейшие изменения. Ткани размягчаются, вследствие нарушения кальциевых

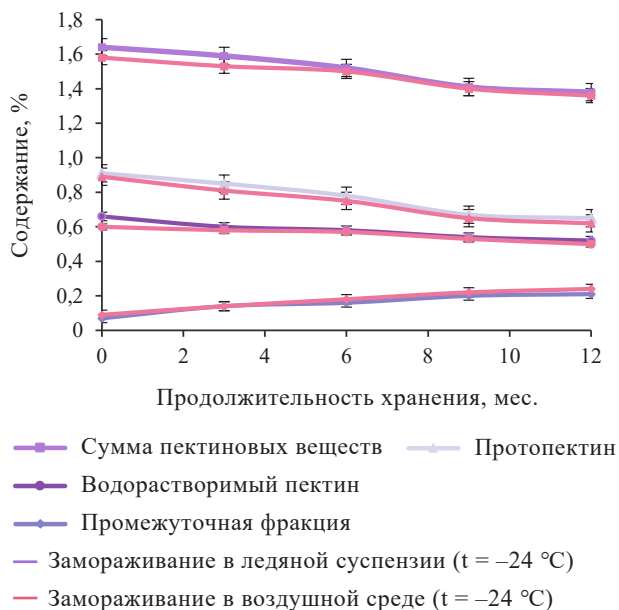
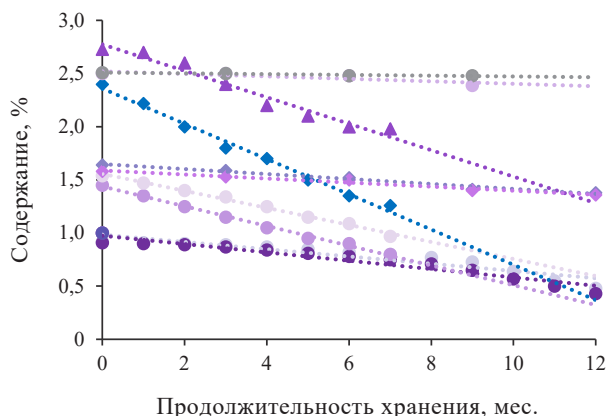


Рисунок 8. Изменение содержания пектиновых веществ и их фракций при хранении замороженной сливы

Figure 8. Pectins and their fractions during refrigerated storage: plums



- $y = -0,0341x + 0,984$ ● яблоки, 3М в ВС ($t = -35\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,0392x + 0,9746$ ● яблоки, 3М в ВС ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,0929x + 1,4375$ ● скорцонера 3М в ВС ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,0801x + 1,5567$ ● скорцонера, 3М в ВС ($t = -35\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,1658x + 2,3592$ ◆ овсяный корень, 3М в ВС ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,1244x + 2,7742$ ▲ овсяный корень, 3М в ВС ($t = -35\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,0233x + 1,648$ ◆ слива, 3М в ВС ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,019x + 1,588$ ◆ слива, 3М в ЖС ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,0117x + 2,52$ ● кольраби, 3М в ВС ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- $y = -0,0037x + 2,509$ ● кольраби, 3М в ЛС ($t = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$)

3М в ВС – замораживание в воздушной среде; 3М в ЖС – замораживание в жидкой среде; 3М в ЛС – замораживание в ледяной суспензии.

Рисунок 9. Линии тренда динамики суммы пектиновых веществ при длительном хранении

Figure 9. Trendline for total pectins during long-term storage

Таблица 2. Наклон линии регрессии динамики пектиновых веществ при хранении растительных объектов с различным содержанием сухих веществ при разных условиях замораживания

Table 2. Regression slope for pectins during refrigerated storage: plants with different solids content under different freezing conditions

Объект	Вид замораживания	Температура замораживания, °C	Содержание сухих веществ, %	Наклон линии регрессии
Овсяный корень	Воздушная среда	-24	25,0	-0,1658
Овсяный корень	Воздушная среда	-35	25,0	-0,1244
Скорцонера	Воздушная среда	-24	19,0	-0,0929
Скорцонера	Воздушная среда	-35	19,0	-0,0801
Яблоки	Воздушная среда	-24	14,0	-0,0392
Яблоки	Воздушная среда	-35	14,0	-0,0341
Сливы	Воздушная среда	-24	13,0	-0,0233
Сливы	Жидкая среда	-24	13,0	-0,019
Кольраби	Воздушная среда	-24	10,5	-0,0127
Кольраби	Ледяная суспензия	-24	10,5	-0,0087

мостиков между пектиновыми цепями, которые распадаются на более мелкие фрагменты под действием пектолитических ферментов – пектинэстеразы и пектиназы. Пектинэстераза катализирует отщепление метоксильных групп молекулы пектина, пектиназа вызывает гидролиз гликозидных связей пектиновой кислоты, в результате чего снижается вязкость и повышается содержание редуцирующих групп. В результате этого уменьшается вязкость и содержание редуцирующих групп, что ведет к уменьшению способности растительной клетки удерживать влагу.

На рисунке 9 представлены линии тренда и уравнения регрессии (линейные) содержания пектиновых веществ при длительном хранении изучаемых растительных объектов.

Как видно из рисунка 9, количество общего содержания пектиновых веществ после бланширования и замораживания варьировалось в изучаемых растительных продуктах от 0,92 до 2,73 %. Наибольшее изменение содержания пектиновых веществ при длительном хранении в замороженном состоянии наблюдались у корнеплодов овсяного корня, наименьшее – у стеблеплодов кольраби.

В таблице 2 представлены данные по наклону линии регрессии при различных способах замораживания растительных тканей при длительном хранении.

Наибольший наклон линии регрессии (-0,1658), соответственно, наибольшие потери пектиновых

веществ при длительном хранении, наблюдаются у корнеплодов овсяного корня, замороженных в воздушной среде при $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ при естественной конвекции, наименьшие при хранении стеблеплодов кольраби при замораживании в ледяной среде с температурой замораживания $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$.

При медленном понижении температуры льдообразование в растительных тканях начинается в межклеточных пространствах, куда мигрирует свободная влага. Данные изменения отрицательно влияют на консистенцию растительной ткани, ее упругость и эластичность и на содержание компонентов химического состава. При дальнейшем холодильном хранении эти изменения продолжают оказывать негативное воздействие на качество замороженных растительных продуктов [21–23].

Как видно из таблицы 3 снижение содержания пектиновых веществ к концу низкотемпературного хранения зависит не только от способа замораживания, но и от влагосодержания тканей: чем больше влагосодержание в нативном состоянии, тем меньшие потери пектиновых веществ происходят при длительном низкотемпературном хранении.

Выводы

Производство замороженной растительной продукции высокого качества является вызовом для пищевой индустрии, поскольку растительные ткани под воздействием высоких и низких температур существенно изменяют свои нативные свойства.

Одними из индикаторов негативного воздействия на растительные ткани при тепловой обработке и замораживании являются изменения общего содержания и фракционного состава пектиновых веществ.

В работе были изучены изменения пектиновых веществ в растительных тканях различных видов: корнеплодов скорцонеры, овсяного корня, стеблеплодов кольраби, плодов яблок и слив при тепловой обработке, замораживании и хранении.

В результате проведенных исследований установлено, что предварительная тепловая обработка бланшированием ферментативно-активного сырья не оказывает существенного негативного воздействия на содержание пектиновых веществ (снижение на 2–10 % в зависимости от вида растительной ткани), за исключением яблок, потери пектиновых веществ при бланшировании которых составили 18–21 % в зависимости от сорта.

Количественный анализ содержания суммы пектиновых веществ и их фракций изучался при различных способах замораживания. Быстрое замораживание методами флюидизации ($-35\text{ }^{\circ}\text{C}$), замораживания в ледовой суспензии и жидком хладоносителе ($-24\text{ }^{\circ}\text{C}$) оказывает меньшее повреждающее действие на состав и количество пектиновых веществ, в исследуемых овощах и фруктах, по сравнению с воздушным замораживанием с естественной конвекцией при $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$. Вид замораживания является определяющим фактором

влияния на содержание суммы пектиновых веществ и содержание протопектина в растительной ткани при одинаковой температуре замораживания.

Процесс замораживания приводит к снижению общего содержания пектиновых веществ, и эти потери составляют 1–9 % в зависимости от вида растительной ткани: для овсяного корня при воздушном замораживании естественной конвекцией при $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ – 9 %; для кольраби при замораживании в ледяной среде при $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ – 1 %. Во всех видах растительных продуктов при проведении замораживания наблюдаются потери протопектина и увеличение промежуточной фракции. Установлено, что непосредственно процесс замораживания приводит к меньшим потерям пектиновых веществ, нежели процесс бланширования.

Получены результаты изменения качественных показателей пектина на примере корнеплодов скорцонеры и овсяного корня при замораживании в воздушной среде и длительном хранении. При замораживании корнеплодов овсяного корня установлено значительное увеличение интенсивности полос колебаний ионизированного карбоксила в протопектине, с последующим уменьшением интенсивности данных полос при хранении, что можно связать со снижением степени метилирования и увеличения количества ионизированных карбоксильных групп.

Наибольшие изменения в количественном и фракционном составе пектиновых веществ наблюдаются при длительном низкотемпературном хранении.

Максимальное снижение содержания суммы пектиновых веществ (66 %) установлено при длительном хранении корнеплодов овсяного корня, замороженных в воздушной среде при $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ при естественной конвекции; наименьшее (9 %) при хранении стеблеплодов кольраби при замораживании в ледяной среде с температурой замораживания $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Во всех видах изучаемых растительных продуктов выявлено снижение количества протопектина к концу хранения. Увеличение содержания промежуточной фракции при длительном хранении установлено в кольраби и сливе.

При изучении линий регрессии динамики пектиновых веществ установлено, что темпы снижения содержания пектиновых веществ к концу низкотемпературного хранения зависят от влагосодержания тканей: чем больше влагосодержание в нативном состоянии, тем меньшие потери пектиновых веществ к концу хранения.

Интенсификация процесса замораживания позволяет снизить негативные воздействия на пектиновые вещества при замораживании. Хранение замороженных растительных продуктов более 6 мес. приводит к наиболее существенным потерям пектиновых веществ и их фракционным изменениям.

Анализ способов замораживания применительно к различным видам растительного сырья позволяет определить наиболее оптимальный способ замораживания

и рекомендуемый срок хранения для предприятий, производящих замороженные продукты растительного происхождения.

В дальнейших исследованиях будет проведен анализ изменения содержания пектиновых веществ, а также других физико-химических показателей, в исследуемом растительном сырье при повышении температуры внутри продукта, при замораживании и хранении с -18 до -15 °C. В связи с предложением глобальной инициативы «Переход к -15 °C» необходимо накопление широкой научной базы данных о влиянии перехода к температуре -15 °C на качество и безопасность продуктов питания [24].

Критерии авторства

О. Н. Румянцева участвовала в исследованиях лично, а также обрабатывала экспериментальный материал, готовила и редактировала статью.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Выражаю благодарность своему учителю, д-р.техн. наук, проф. В. С. Колодязной.

Contribution

O.N. Rumyantseva performed the research, processed the experimental material, and wrote the manuscript.

Conflict of interest

The author declared no conflict of interests regarding the [publication of this article.

Acknowledgements

The author expresses her gratitude to her scientific supervisor Prof. V.S. Kolodyaznaya.

References/Список литературы

1. Frozen Fruits and Vegetables Market Outlook. [Internet]. [cited 2023 Nov 18]. Available from: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/frozen-fruits-and-vegetables-market>
2. Burdo OG. The role of food energy technologies in solving global mankind problems. *Problems of the Regional Energetics*. 2021;3(51):99–110. <https://doi.org/10.52254/1857-0070.2021.3-51.09>; <https://www.elibrary.ru/GVEEGB>
3. Raising frozen temperatures could slash emissions. [Internet]. [cited 2023 Dec 1]. Available from: <https://www.coolingpost.com/world-news/raising-frozen-temperatures-could-slash-emissions/>
4. Kolodyaznaya VS, Rumyantseva ON, Kiprushkina EI. The history and the prospects of food refrigeration. *Journal of International Academy of Refrigeration* 2023;(1):47–54. (In Russ.). <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2023-22-1-47-54>; <https://www.elibrary.ru/QAIWHZ>
5. Fikiin K, Akterian S. A lauded refrigeration technique and resource-efficiency of frozen food industry. *Trends in Food Science and Technology*. 2022;128:185–187. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.05.008>; <https://www.elibrary.ru/DZVQSP>
6. Guseynova BM, Asabutaev IH, Daudova TI. Effect of freezing modes, storage time, and defrosting methods on microbiological quality parameters of apricots. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(1):29–38. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-29-38>; <https://www.elibrary.ru/EIHBAN>
7. Schudel S, Prawiranto K, Defraeye T. Comparison of freezing and convective dehydrofreezing of vegetables for reducing cell damage. *Journal of Food Engineering*. 2021;293:110376. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110376>
8. Korotkiy IA, Sakhabutdinova GF. Improvement and analysis of processes of vegetable mixture low-temperature processing. *Kholodilnaya Tekhnika*. 2019;(9):51–55. (In Russ.). [Короткий И.А., Сахабутдинова Г.Ф. Совершенствование и анализ процессов низкотемпературной обработки овощных смесей // Холодильная техника. 2019. № 9. С. 51–55.]. <https://www.elibrary.ru/ONMKRO>
9. Jha PK, Xanthakis E, Chevallier S, Jury V, Le-Bail A. Assessment of freeze damage in fruits and vegetables. *Food Research International*. 2019;121:479–496. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.002>
10. Gubanenko GA, Pushkareva EA, Rechkina EA, Balyabina TA, Korbmakher TV, Strupan EA. The study of indicators on quality of pectins from secondary plant raw materials of Krasnoyarsk region. *Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/6/062021>
11. Sergeev AI, Kalinina IG, Shilkina NG, Barashkova II, Gradova MA, Motyakin MV, *et al.* Effect of elevated storage temperatures on the physicochemical and sensory properties of apple puree. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023;53(2):259–271. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2430>; <https://www.elibrary.ru/SDZLSC>
12. Li Y, Zhao H, Xiang K, Li D, Liu C, Wang H, *et al.* Factors affecting chemical and textural properties of dried tuber, fruit and vegetable. *Journal of Food Engineering*. 2024;365:111828. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111828>.
13. Kameshwar AKS, Qin W. Structural and functional properties of pectin and lignin–carbohydrate complexes de-esterases: a review. *Bioresources and Bioprocessing*. 2018;5:43. <https://doi.org/10.1186/s40643-018-0230-8>
14. Satapathy S, Rout JR, Rout JR, Kerry RG, Santi T, Sahoo SL. Biochemical Prospects of Various Microbial Pectinase and Pectin: An Approachable Concept in Pharmaceutical Bioprocessing. *Frontiers in Nutrition*. 2020;7:117. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00117>

15. Feng S, Bi J, Laaksonen T, Laurén P, Yi J. Texture of freeze-dried intact and restructured fruits: Formation mechanisms and control technologies. *Trends in Food Science and Technology*. 2024;143:104267. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104267>
16. Kolodyaznaya VS, Sokolov VN. Mass transfer characteristics during freezing of vegetable products in ice slurry. *Refrigeration Technology*. 2004;93(3):5–8. (In Russ.). [Колодязная В. С., Соколов В. Н. Массообменные характеристики при замораживании растительных продуктов в айс-сларри // Холодильная техника. 2004. Т. 93. № 3. С. 5–8.].
17. Deryabina SS. Technology for freezing stone fruits in liquid coolants. Author's abstract. Ph.D. Tech. Sci. St. Petersburg: St. Petersburg State University of Refrigeration and Food Processing Technologies, 2003. 16 p. (In Russ.). [Дерябина С. С. Разработка технологии замораживания косточковых плодов в жидких хладоносителях: автореф. канд. техн. наук. СПб.; 2007. 16 с.]. <https://elibrary.ru/NHMEIF>
18. Peregudova DA, Kolodyaznaya VS, Skuridina DA. Kinetics of pectinaceous substances' transformation reactions of autumn grades' apples during storage at low positive temperatures. *Journal of International Academy of Refrigeration*. 2018; (2):48–54. (In Russ.). <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-2-48-54>; <https://elibrary.ru/XYOYVF>
19. Donchenko LV, Firsov GG. Pectin: basic properties, production, and application. Moscow: DeLi Print, 2007. 276 p. (In Russ.). [Донченко Л. В., Фирсов, Г. Г. Пектин: основные свойства, производство и применение. Москва: ДеЛи принт, 2007. 276 с.].
20. Muthukumarappan K, Marella C, Sunkesula V. Food freezing technology. In: Kutz M, editor. *Food freezing technology Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering*. New York: Delmar; 2019. pp. 389–415. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00015-4>
21. Dalvi-Isfahan M, Jha PK, Tavakoli J, Daraei-Garmakhany A, Xanthakis E, Le-Bail A. Review on identification, underlying mechanisms and evaluation of freezing damage. *Journal of Food Engineering*. 2019;255:50–60. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.011>
22. Sun L, Zhu Z, Sun D-W. Regulating ice formation for enhancing frozen food quality: Materials, mechanisms and challenges. *Trends in Food Science and Technology*. 2023;139:104116. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.07.013>
23. Semenov EV, Nikitin IA, Belozеров GA, Suchkov AN. Calculation of the process of freezing of a moisture-containing substance. *Chemical and Petroleum Engineering*. 2023;58(9-10):721–731. <https://doi.org/10.1007/s10556-023-01154-z>; <https://elibrary.ru/IEBZJC>
24. Frozen food in a resilient and sustainable food system. [Internet]. [cited 2023 Dec 18]. Available from: https://www.sustainablecooling.org/wp-content/uploads/2023/11/The-Three-Degrees-of-Change_Summary-Report_November-2023.pdf

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2515>
<https://elibrary.ru/THQOKZ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Микронизация в технологии минорного компонента консервирующего действия



Е. В. Аверьянова^{1,*}, М. Н. Школьников^{1,2},
Н. В. Павлова¹, Е. Д. Рожнов^{1,2}

¹ Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И. И. Ползунова», Бийск, Россия

² Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург, Россия

Поступила в редакцию: 08.02.2024

Принята после рецензирования: 28.02.2024

Принята к публикации: 05.03.2024

*Е. В. Аверьянова: averianova.ev@bti.secna.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-2144-1238>

М. Н. Школьников: <https://orcid.org/0000-0002-9146-6951>

Н. В. Павлова: <https://orcid.org/0009-0003-6367-0212>

Е. Д. Рожнов: <https://orcid.org/0000-0002-3982-9700>

© Е. В. Аверьянова, М. Н. Школьников, Н. В. Павлова,
Е. Д. Рожнов, 2024



Аннотация.

Мировая тенденция в производстве продуктов питания – использование натуральных консервантов, в частности растительных, в виде пряностей. Для ингибирования микробной активности весьма значимы флавоноиды, эффективное применение которых возможно при равномерном распределении в пищевой матрице, что достигается за счет повышения их растворимости, в том числе – микронизацией. Цель настоящего исследования – оценка целесообразности и эффективности микронизации растительного консерванта на примере очищенной флавоноидной фракции, полученной из обезжиренного облепихового шрота.

Объектами исследования являлись образцы очищенной флавоноидной фракции облепихового шрота разной дисперсности. Для микронизации облепихового шрота применяли криогенное измельчение и ультразвуковое воздействие. Провели оценку растворимости, антиоксидантной, антимикробной и фунгицидной активности исследуемых образцов стандартными методами.

Показали, что микронизация в условиях ультразвукового воздействия и криогенное измельчение повышают растворимость компонентов образцов в воде, этиловом спирте и растительном масле. Доказали эффективность и преимущества ультразвуковой технологии микронизации для получения частиц с размером 1400 нм при рациональных режимах: мощность ультразвуковых колебаний 50 Вт в течение 10 мин. в 0,5 % суспензии. Полученный таким способом образец увеличивает скорость каталазной реакции на 19 % по отношению к контрольному образцу при постоянстве скорости глутатионредуктазной реакции, что способствует увеличению антиоксидантной активности опытного образца в четыре раза. Установлено, что образцы обладают бактериостатической активностью в отношении *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* и фунгистатической – в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Полученный микронизацией в условиях ультразвукового воздействия образец очищенной флавоноидной фракции облепихового шрота может быть рекомендован для использования в качестве природного консерванта в различных пищевых системах.

Ключевые слова. Природный консервант, флавоноиды, микронизация, биодоступность, дисперсность, антиоксидантная активность, антимикробная активность

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ (ГЗ № 075-00042-24-00, номер темы FZMM-2024-0003).

Для цитирования: Микронизация в технологии минорного компонента консервирующего действия / Е. В. Аверьянова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 508–521. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2515>

Micronization of Small-Amount Preservatives

Elena V. Averyanova^{1,*}, Marina N. Shkolnikova^{1,2},
Natalia V. Pavlova¹, Evgeny D. Rozhnov^{1,2}

¹ Biysk Technological Institute, Altay State Technical University^{ROR}, Biysk, Russia

² Ural State University of Economics^{ROR}, Yekaterinburg, Russia

Received: 08.02.2024

Revised: 28.02.2024

Accepted: 05.03.2024

Elena V. Averyanova: averianova.ev@bti.secna.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-2144-1238>

Marina N. Shkolnikova: <https://orcid.org/0000-0002-9146-6951>

Natalia V. Pavlova: <https://orcid.org/0009-0003-6367-0212>

Evgeny D. Rozhnov: <https://orcid.org/0000-0002-3982-9700>

© E. V. Averyanova, M. N. Shkolnikova, N. V. Pavlova, E. D. Rozhnov, 2024



Abstract.

Natural preservatives are a global trend in the food industry. As a rule, they are traditional herbs or spices. Flavonoids inhibit microbial activity. However, they are effective only when their distribution in the food matrix is uniform. This uniformity is achieved by increasing their solubility, e.g., by micronization. The research assessed the feasibility and effectiveness of micronization of a plant preservative using a purified flavonoid fraction obtained from defatted sea-buckthorn meal.

The study featured samples of purified flavonoid fraction of sea-buckthorn meal with different dispersions. Their solubility, antioxidant properties, antimicrobial activity, and fungicidal effect were assessed by standard methods.

Micronization under ultrasonic conditions and cryogenic grinding increased the solubility in water, ethyl, and oil. Ultrasonic micronization proved efficient as it produced particles of 1,400 nm under rational conditions, i.e., 50 W ultrasonic vibration in a 0.5% suspension for 10 min. The sample obtained in this way increased the rate of catalase reaction by 19% relative to the control sample while maintaining a constant rate of glutathione reduction. Its antioxidant activity increased fourfold. The samples demonstrated bacteriostatic activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*, as well as fungistatic activity against *Candida albicans*.

Purified flavonoid fraction of sea-buckthorn meal micronized under ultrasonic conditions can be recommended as a natural preservative in various food systems.

Keywords. Vegetable preservative, flavonoid fraction, micronization, bioavailability, dispersion, antioxidant activity, antimicrobial activity

Funding. This research was part of State Assignment no. 075-00042-24-00, FZMM-2024-0003, from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

For citation: Averyanova EV, Shkolnikova MN, Pavlova NV, Rozhnov ED. Micronization of Small-Amount Preservatives. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):508–521. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2515>

Введение

Качество и безопасность сырья и пищевых продуктов, от которых зависят здоровье, трудовая активность населения и, в конечном счете, темпы экономического развития страны, оценивают по химико-технологическим, органолептическим и микробиологическим показателям [1].

Установили, что вспышки болезней пищевого происхождения находятся на подъеме даже в развитых странах, что обусловлено несколькими причинами, в том числе ростом потребления свежих продуктов с коротким сроком годности ввиду их минимальной обработки (например, готовые к употреблению фрукты и

овощи, мясо и морепродукты), появлением новых рисков микробной контаминации в связи с изменениями методов производства пищевых продуктов, модификацией генетических характеристик соответствующих патогенных микроорганизмов и т. д. Большинство продуктов питания имеют длительные сроки годности, что обеспечивается за счет использования соответствующих технологий консервирования и/или использования специальных пищевых добавок – консервантов [2].

В ГОСТ Р 54956 дано понятие термина «консервант пищевого продукта» – пищевая добавка, предназначенная для защиты пищевых продуктов от микробиологической порчи и увеличения сроков хранения

или годности (E200–299). ТР ТС 029/2012 определяет «консервант» как пищевую добавку, предназначенную для продления (увеличения) сроков годности пищевой продукции путем защиты от микробной порчи и/или роста патогенных микроорганизмов. Вместе с тем, согласно данному нормативному документу к консервантам относят и категорию пищевых добавок антиоксидантов / антиокислителей (E301–399): «антиокислитель» – пищевая добавка, предназначенная для замедления процесса окисления и увеличения сроков годности пищевой продукции (пищевого сырья), что согласуется с мировой практикой [3].

В последние несколько лет наблюдается устойчивый потребительский спрос на максимально натуральные и безопасные продукты питания, в том числе с натуральными и легко узнаваемыми пищевыми добавками, в том числе консервирующего действия. Сложившаяся тенденция побуждает производителей продуктов питания вести поиск безопасных и эффективных заменителей искусственных консервантов [4].

На сегодняшний день большинство используемых консервантов являются искусственными – нитраты, нитриты, сульфиты, бензоат натрия, сорбат калия и др. При этом некоторые из них обладают потенциально опасными для жизни побочными эффектами, что показано в ряде исследований: методом биотестирования на лабораторной культуре инфузорий *Tetrahymena pyriformis* изучена токсикологическая безопасность сорбата калия (E202) и бензоата натрия (E211) [5]. Доказали дозозависимость воздействия E202 при употреблении человеком в дозировке > 0,015 % как нетоксичное, употребление же E211 является нежелательным даже в минимальных концентрациях. В более поздних работах приведены сведения по отрицательному влиянию искусственных консервантов на здоровье человека, провоцирующих гиперчувствительность, аллергию, астму, гиперактивность и другие неврологические нарушения [6–8].

По мнению ряда исследователей, потребители осведомлены о негативных последствиях использования искусственных консервантов в употребляемых ими продуктах. В связи с этим в последние годы значительный интерес у производителей продуктов питания во всем мире вызывают натуральные консерванты – продукты переработки сырья животного происхождения (хитозан, лизоцим, лактоферрин и др.), продукты жизнедеятельности микроорганизмов (бактериоцины, вырабатываемые грамположительными и грамотрицательными бактериями – низин, натамицин, органические кислоты и др.) и вторичные метаболиты растений (фенольные вещества, терпены, в т. ч. в составе эфирных масел, алкалоиды, органические кислоты и др.) [9].

Весьма широк и разнообразен перечень вторичных метаболитов растений и их источников: овощи, фрукты и травянистые растения – лекарственно-технические и пряно-ароматические. В этой связи можно говорить об их доступности и возможности использования в рецеп-

турах пищевых продуктов в качестве консервантов за счет проявления антибактериальной активности в отношении вызывающих порчу продуктов патогенных и условно патогенных микроорганизмов и антиоксидантного действия [10]. Наиболее полно эффективность и механизм антимикробного действия в различных пищевых системах изучены для эфирных масел, в том числе в составе растительных экстрактов (табл. 1) [10, 11].

Эфирные масла растений обладают наибольшей активностью в отношении родов *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Clostridium*. Установлено, что эфирное масло из листьев мяты перечной *Mentha piperita* L., семян аниса обыкновенного *Pimpinella anisum* L. предотвращает рост как условно патогенных бактерий *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, так и патогенных – *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*. Эфирные масла коры корицы китайской *Cinnamomum cassia* L. и почек гвоздики *Syzygium aromaticum* L. уменьшают рост дрожжей и плесени и продлевают срок годности сушеной рыбы, а эфирные масла из кожуры цитрусовых, распыленные на хлеб, ингибируют плесень и снижают общую обсемененность [10].

В исследовании М. Согруз приведены сведения по антибактериальной активности сапонинов и флавоноидов берсамы английской (*Melanthaceae*) в отношении грамотрицательных бактерий [11].

Воздействие натуральных консервантов на микроорганизмы имеет различный механизм, зависящий как от их вида и строения, так и от ряда факторов – температура, концентрация консерванта, фазовое состояние системы, pH среды и т. д. Нарушение жизненных функций клеток микроорганизма и их гибель является наилучшим результатом (бактерицидное действие); однако наиболее часто происходит ингибирование функций клеточных стенок / мембран микроорганизмов, репликации и транскрипции ДНК, синтеза белка и метаболизма (бактериостатическое действие) [12].

Ряд исследователей отмечают преимущества использования консервантов растительного происхождения, основные из которых: доступность и невысокая стоимость сырьевой базы, наряду с консервирующим действием БАВ растительного сырья, многостороннее и щадящее воздействие на организм человека, отсутствие или незначительность проявления побочных эффектов и др. [13, 14]. Натуральные консерванты растительного происхождения употребляются человеком давно в виде экстрактов трав и пряностей (мята, гвоздика и т. д.).

С точки зрения ингибирования микробной активности весьма значимы такие вторичные метаболиты растений, как фенольные вещества: флавоноиды, хиноны, кумарины, фенольные кислоты, дубильные вещества, фенолы, флавоны и флавонолсодержащие соединения, количество и взаимное расположение гидроксильных групп, в которых связаны с их антибактериальной активностью: чем больше количество гидроксильных

Таблица 1. Антимикробное действие эфирных масел

Table 1. Antimicrobial effect of essential oils

Источник эфирного масла	Микроорганизм-мишень	Концентрация	Антимикробное действие	Пищевой продукт/сырье
Чабер зимний (лат. <i>Satureja horvatii</i>)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10–20 мг/мл	полное ингибирование	мясо свинины
Тимьян ползучий (лат. <i>Thymus serpyllum</i>)	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,8–1,2 %	снижение количества жизнеспособных клеток в 100 раз, начиная с шестого дня до окончания хранения	рыбный фарш
Душица обыкновенная (лат. <i>Origanum vulgare</i>) и китайской корицы (лат. <i>Cinnamom cassia</i>)	<i>Listeria monocytogenes</i>	0,5 мг/г	замедление темпов роста колоний микроорганизмов при использовании душицы и кассии на 19 % и 10 % соответственно	ветчина
Лавр благородный (лат. <i>Folium lauri</i>)	Колиформы (БГКП, бактерии группы кишечной палочки)	1,0 мг/г	снижение общего количества колиформных бактерий на 2,8 порядка на 12-й день	колбаса тосканская свежеприготовленная
Вербена лекарственная (лат. <i>Verbena officinalis</i>)	<i>Monilinia laxa</i> , <i>Monilinia fructigena</i>	1,0 мг/г	уменьшение диаметра поражений бурой гнилью	персики свежие
Агератум (лат. <i>Ageratum conyzoides</i>)	<i>Penicillium roqueforti</i>	1,0 мг/г	подавляет развитие голубой плесени	мандарины свежие
Тимьян ползучий (лат. <i>Thymus serpyllum</i>) + листья лимона (лат. <i>Citrus limon</i>)	<i>Escherichia coli</i> (шиггетоксинпродуцирующий штамм O157:H7)	75 мкл/л	снижение количества жизнеспособных клеток на 5 порядков от первоначальной популяции	сок яблочный
Лимон (лат. <i>Citrus limon</i>)	<i>Escherichia coli</i> (шиггетоксинпродуцирующий штамм O157:H7)	0,1 мл/100 г	снижение количества жизнеспособных клеток на 1,7 порядка от первоначальной популяции	шоколад
Семейство Яснотковые (лат. <i>Lamiaceae</i>) (тимьян, котовник, шандра, мята)	<i>Aspergillus niger</i>	0,25–0,50 мг/мл	ингибирование	плоды и овощи
Полынь (лат. <i>Artemisia</i>), багульник (лат. <i>Lédum</i>), сосна (лат. <i>Pinus</i>), базилик (лат. <i>Ócimum</i>)	<i>Microsporum canis</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	31,2–62,5 мкг/мл	ингибирование	плоды и овощи
Экстракт листьев оливы культурной (лат. <i>Olea europaea</i>)	Общее количество жизнеспособных бактерий	2 %	снижение количества жизнеспособных клеток на 2 порядка	креветки сырые очищенные
Экстракт внутренней скорлупы конского каштана обыкновенного (лат. <i>Aesculus hippocastanum</i>)	<i>Campylobacter Jejuni</i>	2 мг/г	полное ингибирование	мясо курицы
Экстракт кожуры граната (лат. <i>Punicaceae</i>)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i>	0,01 %	увеличение срока хранения на 2–3 недели за счет ингибирования микроорганизмов	мясо курицы

групп, тем выше токсичность в отношении микроорганизмов. На сегодняшний день более 1340 растений обладают противомикробными свойствами, из которых выделено более 30 000 соединений с противомикробной активностью [12].

Важным условием эффективного использования натурального консерванта / антиоксиданта является его равномерное распределение в продукте / пищевой системе, что достигается за счет повышения их растворимости, в том числе за счет микронизации. Уменьше-

ние размера до микронного и наноразмерного диапазона, влекущее значительное улучшение физико-химических и функциональных характеристик пищевого сырья и ингредиентов, и, как следствие, качество пищевых продуктов, является быстро развивающейся технологией в индустрии питания [15].

Вышесказанное обусловило цель настоящего исследования: оценка целесообразности и эффективности микронизации растительного консерванта на примере очищенной флавоноидной фракции, полученной из обезжиренного облепихового шрота.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования были определены: – очищенная флавоноидная фракция, выделенная из обезжиренного облепихового шрота (далее по тексту флавоноидная фракция) по [16], с последующим выделением флавонолов методом препаративной хроматографии (образец 1, контроль);

– микронизированная очищенная флавоноидная фракция облепихового шрота (МОФФ ОШ), полученная при криогенном измельчении (образец 2). Криогенное измельчение при помощи удара и трения проводилось в вибрационной шаровой мельнице с автоматической криогенной системой в комплекте Retsch CryoMill (Германия) с частотой до 30 Гц, при непрерывном охлаждении жидким азотом в объёме, необходимом для поддержания температуры $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$;

– МОФФ ОШ, полученная микронизацией в условиях ультразвукового воздействия (образец 3) аппаратом «ВОЛНА» (модель УЗТА-0,4/22-ОМ), работающим на частоте $22 \pm 1,65\text{ кГц}$ с выходной мощностью 180–400 Вт.

Органолептические показатели образцов флавоноидной фракции определяли аналогично флавоноиду дигидрокверцетину по ГОСТ 33504.

Массовую долю влаги в образцах флавоноидной фракции определяли титрованием по методу Фишера (полумикрометод) в соответствии с ОФС.1.2.3.0002.15 с использованием автоматического титратора Mettler Toledo V20S (Швейцария) с электродом DM143-SC в составе.

Анализ качественного и количественного состава образцов до и после микронизации осуществлялся методом ВЭЖХ с фотометрическим детектированием на приборе Shimadzu «LC-20 Prominence» (Япония) с последующей компьютерной обработкой полученных результатов по [16].

Растворимость компонентов образцов флавоноидной фракции в различных пищевых средах / растворителях (вода, масло подсолнечное рафинированное дезодорированное, спирт этиловый 96 % об.) определяли до и после микронизации методом ВЭЖХ по концентрации каждого из компонентов флавоноидной фракции в испытуемых растворах. Итоговым результатом являлась сумма растворимостей всех компонентов.

Исследование морфологии частиц образцов флавоноидной фракции и их содержание (%) проводилось в проходящем свете при освещении по методу светлого поля с использованием медицинского микроскопа МИКМЕД-5 (Россия) с бинокулярной насадкой.

Дисперсный анализ образцов флавоноидной фракции проводился с использованием микроскопа OLYMPUS OMEC DC130 (Япония), полученные данные проанализированы с помощью программного обеспечения OLYMPUS Particle Image Processor (PIP 9.0).

Консервирующую способность образцов флавоноидной фракции определяли по антиоксидантной активности и их способности подавлять рост бактерий:

– антиоксидантную активность: амперометрическим методом с использованием жидкостного хроматографа «ЦВЕТ ЯУЗА-01-АА» в соответствии с ГОСТ Р 54037, стандарт кверцетин; в опытах *in vitro* с применением специфических ферментных биотест-систем – глутатионредуктазы и каталазы. Скорость глутатионредуктазной и каталазной реакций определяли спектрофотометрически, с использованием полуавтоматического биохимического анализатора Clima MC-15 (Италия) [17]; – антибактериальную активность определяли общепринятыми микробиологическими методами в отношении *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (209-P), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, а также дрожжеподобных грибов *Candida albicans* ATCC 10231, содержание которых в пищевых продуктах регламентируется ТР ТС 021/2011 [18].

Для объективной и достоверной оценки влияния условий и параметров микронизации на размер частиц и растворимость МОФФ ОШ в различных средах использовали методы математической статистики обработки экспериментальных данных с применением программы Microsoft Office Excel 2019, что позволило прогнозировать результаты дальнейших исследований.

Экспериментальные исследования проводились в трехкратных повторностях для каждого из вариантов опыта и контроля с доверительной вероятностью 0,95. Обработка результатов исследований *in vitro* проведена с использованием пакета программ статистического анализа Statistica 10,0 (StatSoft, США). Для оценки значимости отличий между выборками с распределением, приближающимся к нормальному, использовался *t*-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости *P* при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

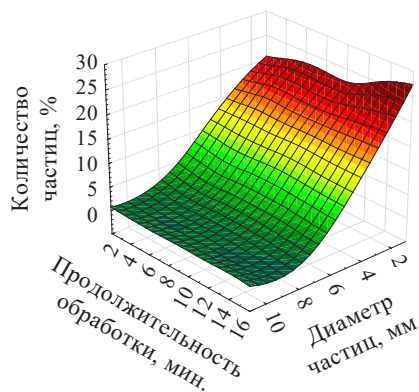
Флавоноидная фракция облепихового шрота представляет собой смесь рутина, кверцетина, нарциссина, мирицетина, кемпферола и изорманетина, некоторые физико-химические показатели которых представлены в таблице 2.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что флавоноиды отличаются относительно высокими для органических соединений температурами плавления

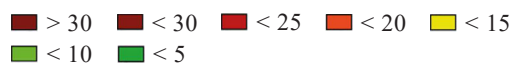
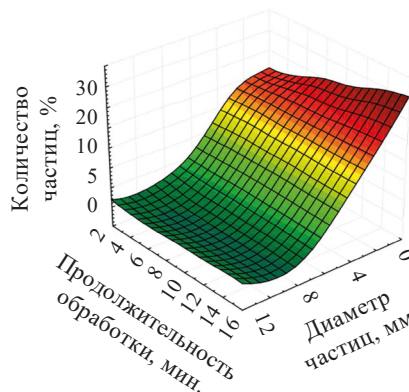
Таблица 2. Физико-химические показатели флавоноидов облепихового шрота

Table 2. Physical and chemical parameters of flavonoids in sea-buckthorn meal

Соединение	Температура плавления, °С	Растворимость в воде, г/л	Растворимость в этиловом спирте, г/л
Рутин	195,0	12,5	10,0 (горячий)
Кверцетин	316,0	менее 0,1	0,35 (при 21 °С) 10,0 (горячий)
Кемпферол	276,0	не растворим	10,0 (горячий)
Изорамнетин	306,0	не растворим	10,0 (горячий)
Нарциссин	181,0	растворим	плохо растворим
Мирицетин	> 300 °С	не растворим	10,0



a



b

Рисунок 1. Графики поверхности отклика, показывающие влияние продолжительности ультразвукового воздействия при мощности 50 Вт на размер частиц флавоноидной фракции и их содержание в водной суспензии: а – концентрация 0,1 %; б – концентрация 0,5 %

Figure 1. Effect of ultrasonic treatment at 50W on flavonoid particle size and their content in aqueous suspension: a – 0.1%; b – 0.5%

и крайне низкой растворимостью в воде и этиловом спирте, что существенно ограничивает их применение в составе пищевых продуктов. Для повышения растворимости и равномерного распределения флавоноидов в пищевых матрицах рассмотрена их микронизация физическими методами. При ультразвуковом воздействии возникает эффект кавитации и происходит сверхтонкое диспергирование твердых частиц в жидкой системе, сопровождающееся быстрым увеличением температуры. Для предотвращения деградации флавоноидов температура процесса ограничена 60 °С [19].

Для преодоления барьерных факторов обеспечения эффективности микронизации флавоноидной фракции ранее проведены исследования при следующих режимах ультразвукового воздействия: частота $22 \pm 1,65$ кГц; интенсивность не менее 10 Вт/см²; мощность (номинальная) 15, 25, 38 и 50 Вт, продолжительность 3, 5, 10 и 15 мин. и показано, что между мощностью и содержанием твердых частиц флавоноидов существует прямая зависимость – с увеличением мощности ультразвукового воздействия увеличивается содержание мелких частиц в суспензии. Продолжительность ультразвукового воздействия в меньшей степени влияет

на процесс микронизации флавоноидов: при увеличении продолжительности в два раза, общее количество частиц увеличивается в среднем на 15–20 %, а при увеличении мощности в два раза – на 100 % и более, при прочих равных условиях [20]. С учетом технической возможности ультразвукового реактора, а также физического смысла исследуемых величин был определен рациональный режим микронизации в условиях ультразвукового воздействия: обработка в течение 10 мин. при мощности 50 Вт.

Одним из основных свойств микронутриента является растворимость в пищевых системах, которая зависит от его концентрации. В связи с этим для выявления оптимальной концентрации флавоноидов при рациональном режиме ультразвукового воздействия осуществлен процесс микронизации в водной суспензии концентрацией 0,1 и 0,5 % в объеме 200 см³. В результате серии экспериментов для рассматриваемых концентраций получены данные, которые обработаны методами математической статистики и представлены в виде графиков поверхности отклика (рис. 1).

В процессе ультразвукового воздействия микронизации, эффективность которой максимально выра-

жена в суспензии с концентрацией флавоноидов 0,5 %, наблюдается выравнивание размера частиц по всему объему. Диапазон размера частиц флавоноидов меняется от 6300 нм (контроль) до 1400 нм (ультразвуковое воздействие при мощности 50 Вт, 10 мин.), что отражают данные микроскопии (рис. 2).

На микрофотографиях рисунка 2 видно, что частицы флавоноидов представляют собой структуру изометрической формы (сфера, правильные многогранники), которая улучшает диспергируемость, увеличивает растворимость, физиологическую активность и другие свойства микронизированных частиц БАВ в водных средах.

Оценка влияния технологических параметров (температуры, мощности и продолжительности ультразвукового воздействия) на характеристики образующихся в результате микронизации частиц флавоноидов показала, что увеличение продолжительности воздействия от 3 до 15 мин. способствует уменьшению среднего диаметра частиц в 2,5 раза от 4000 нм до 1400 нм; повышение температуры воздействия в пределах одного временного интервала не оказывало значимого влияния на диаметр образующихся частиц, при этом минимальный размер был у частиц, полученных в результате УЗВ мощностью 50 Вт в течение 15 мин.

При выявлении оптимальных условий ультразвуковой обработки суспензий флавоноидной фракции для достижения значений параметров, дающих максимальное содержание частиц диаметром 1400 нм, спланирован и реализован полный факторный эксперимент. В качестве факторов варьирования приняты: X_1 – мощность, Вт; X_2 – концентрация, %; X_3 – продолжительность ультразвукового воздействия, мин. Критерий оптимизации Y – размер частиц диаметром 1400 нм.

Для данных факторов выбраны основные уровни и интервалы варьирования (табл. 3).

Для проверки гипотезы адекватности использован критерий Фишера:

$$F_p = \frac{S_{ao}^2}{S_y^2} \tag{1}$$

где F_p – расчетное значение критерия Фишера.

Табличное значение критерия Фишера (F_m) для заданного уровня значимости $\alpha = 0,05$. Так как $F_p < F_m$ ($2,732 < 3,010$), то гипотеза об адекватности модели принимается, т. е. модель адекватна.

Согласно проведенным расчетам выявлена зависимость содержания частиц диаметром 1400 нм (Y) от мощности, Вт (X_1); концентрации, % (X_2) и продолжительности микронизации в условиях ультразвукового воздействия, мин (X_3), которая описывается следующим уравнением регрессии:

$$Y = 15,48 + 5,9X_1 - 0,8X_2 + 2,7X_3 + 0,3X_{13} + X_{123} \tag{2}$$

На основе уравнения регрессии были построены поверхности отклика величины рассеивания частиц флавоноидной фракции размером 1400 нм и показано, что максимальное содержание частиц этого размера (21,3 %) наблюдается при продолжительности ультразвукового воздействия 10 мин. и мощности 50 Вт.

При криогенном измельчении в жидком азоте размольный стакан криомельницы осуществляет радиальные колебания в горизонтальной плоскости. Благодаря инерции движения размольные шары совершают удары с высокой кинетической энергией по твердым частицам вещества и измельчают его. Размольный стакан непре-

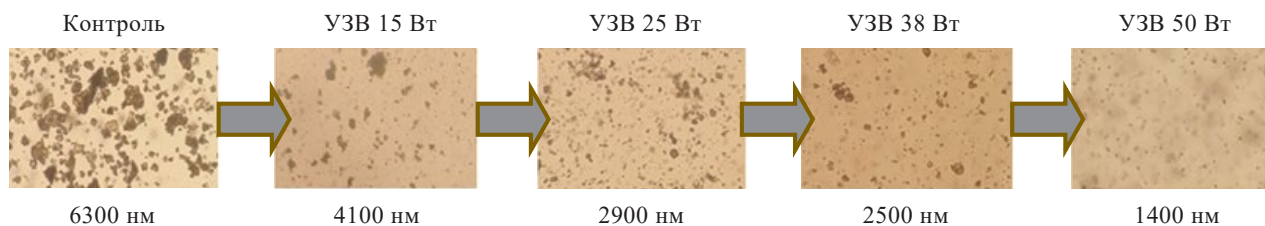


Рисунок 2. Динамика микроструктуры флавоноидной фракции в 0,5 % суспензии в зависимости от мощности ультразвукового воздействия продолжительностью 10 мин. ($\times 40$)

Figure 2. Microstructure of flavonoid fraction in 0.5% suspension: effect of different ultrasonic treatments, 10 min ($\times 40$)

Таблица 3. Значения уровней факторов и интервалов варьирования

Table 3. Values of factor levels and variation intervals

	Натуральные значения			Кодированные значения		
	Мощность, Вт	Концентрация, %	Продолжительность обработки, мин	X_1	X_2	X_3
Основной уровень	32,5	0,3	9	0	0	0
Интервал варьирования	17,5	0,2	6			
Нижний уровень	15	0,1	3	-1	-1	-1
Верхний уровень	50	0,5	15	+1	+1	+1

рывно охлаждается жидким азотом при помощи встроенной системы охлаждения, благодаря чему образец вещества охрупчивается с сохранением химической структуры и биологической активности. Продолжительность криогенного воздействия составила 3, 5, 10 и 15 мин. при концентрации водной суспензии флавоноидов 0,1 и 0,5 %.

Полученные экспериментальные данные обработаны методами математической статистики и представлены в виде поверхностей отклика на рисунке 3.

В процессе криогенного измельчения наблюдается выравнивание размера частиц флавоноидной фракции, а эффективность микронизации максимально выражена при криогенном измельчении в водной суспензии концентрацией 0,1 % продолжительностью воздействия 15 мин., что отражают данные микроскопии (рис. 4).

Согласно полученным данным, максимальное количество частиц диаметром 1200 нм и менее образуется при криогенном измельчении продолжительностью 15 мин. Несмотря на получение более мелких частиц, метод криогенного измельчения имеет ограничения

при реализации в производственных условиях (низкая производительность, сложность оборудования и высокая стоимость расходных материалов). На рисунке 5 показана диаграмма распределения частиц МОФФ ОШ по размерам при рациональных режимах ультразвукового воздействия и криогенного измельчения.

В экспериментальных образцах флавоноидной фракции определен химический состав, морфология, размер частиц и их распределение по размерам. Внешний вид и микрофотографии 0,5 % водных суспензий образцов приведены на рисунке 6.

Электронно-микроскопическое исследование показало, что в результате микронизации размер частиц фракции флавоноидов уменьшается с 6300 нм (контроль) до 1200 нм (образец 2) и 1400 нм (образец 3); частицы контрольного образца крупные, неправильной формы, собраны в ансамбли, в то время как частицы МОФФ ОШ имеют форму близкую к сферической и равномерно распределены по объему, что улучшает технологические свойства, а также консервирующую способность в составе различных пищевых систем.

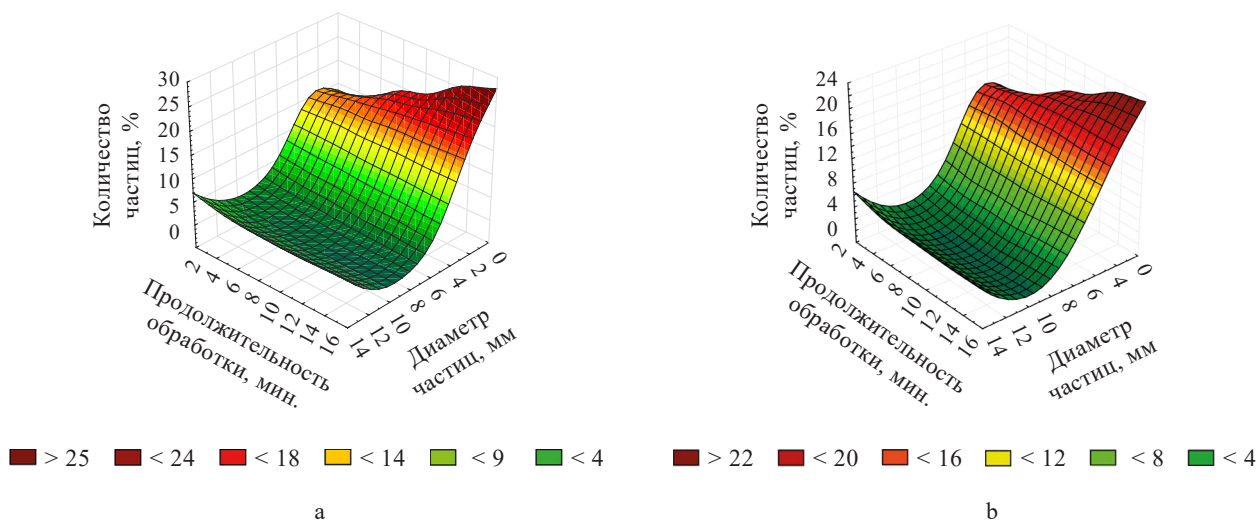


Рисунок 3. Графики поверхности отклика, показывающие влияние продолжительности криогенного измельчения на размер частиц флавоноидной фракции и их содержание в водной суспензии: а – концентрация 0,1 %; б – концентрация 0,5 %

Figure 3. Effect of cryogenic grinding time on flavonoid fraction particle size and content in aqueous suspension: a – 0.1%; b – 0.5%

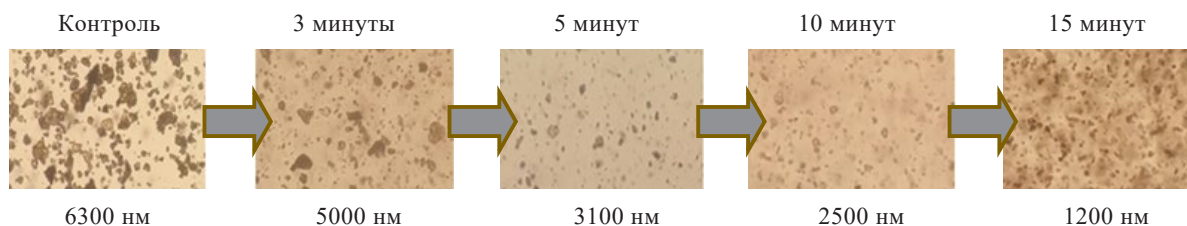


Рисунок 4. Динамика микроструктуры флавоноидной фракции в 0,1 % суспензии в зависимости от продолжительности криогенного измельчения (×40)

Figure 4. Microstructure of flavonoid fraction in 0.1% suspension: effect of different cryogenic grinding times (×40)

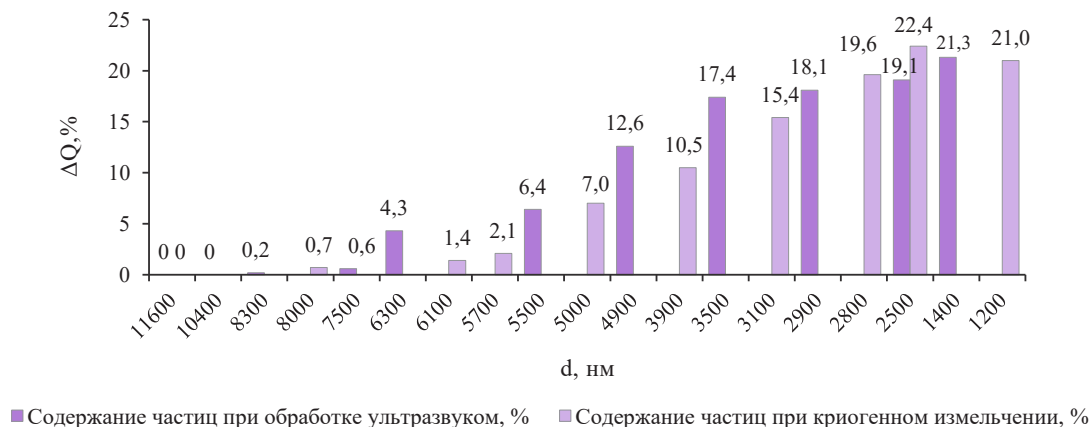


Рисунок 5. Диаграмма распределения частиц МОФФ ОШ по размерам при рациональных режимах микронизации
 Figure 5. Purified flavonoid fraction of sea-buckthorn meal particles under rational micronization modes: size distribution

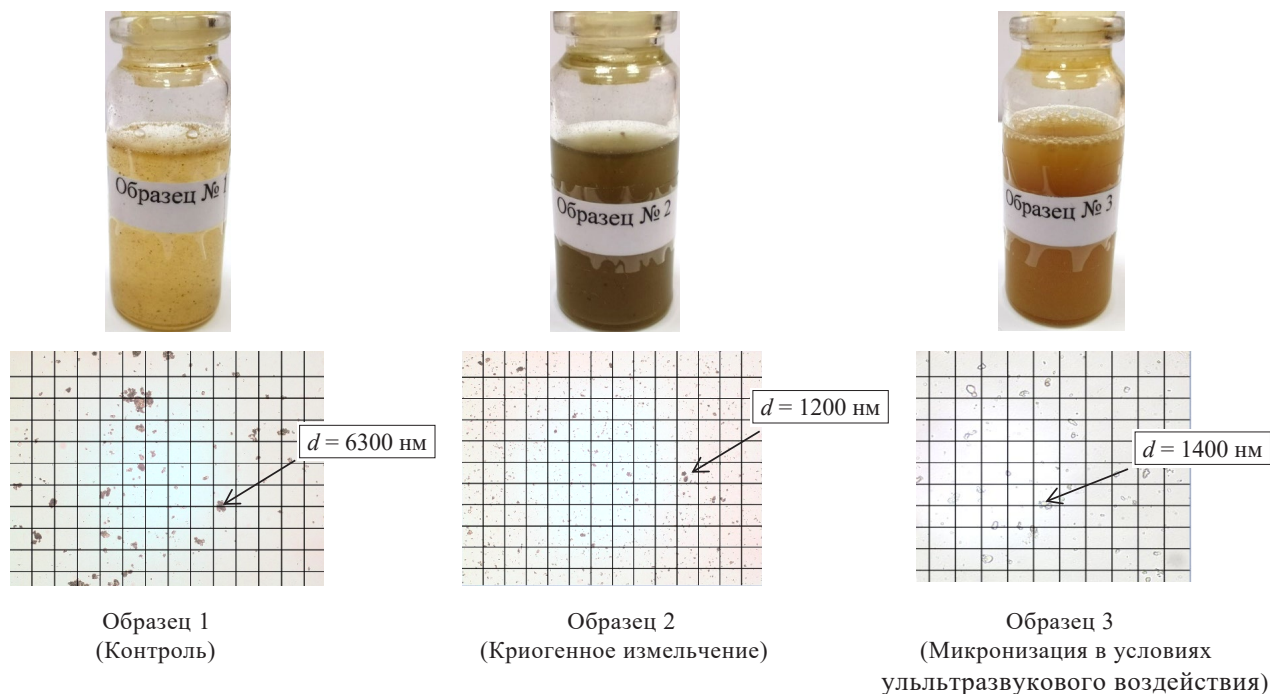


Рисунок 6. Внешний вид и микрофотографии водных суспензий образцов флавоноидной фракции концентрацией 0,5 % (×40)

Figure 6. Appearance and microphotographs of aqueous suspensions of 0.5% flavonoid fraction (×40)

Дисперсный состав и распределение частиц по размерам в суспензиях образцов флавоноидной фракции приведены на рисунке 7.

Из гистограмм рисунка 7 следует, что наиболее узким диапазоном распределения частиц по размерам характеризуется образец 3, что свидетельствует о меньшем размерном «разбросе» частиц и эффективности микронизации в условиях ультразвукового воздействия в сравнении с криогенным измельчением.

Методом ВЭЖХ в составе образцов флавоноидной фракции обнаружены рутин, нарциссин, мирицетин,

кемпферол, кверцетин и изорамнетин в соотношениях, представленных в таблице 4.

Согласно данным таблицы 4 состав флавоноидной фракции в результате микронизации, независимо от способа, изменяется для мажорных соединений флавоноидной фракции – кверцетина и изорамнетина – незначительно.

По внешнему виду образцы флавоноидной фракции до и после микронизации представляют собой тонкодисперсный однородный порошок желто-коричневого цвета, полученный центрифугированием суспензии

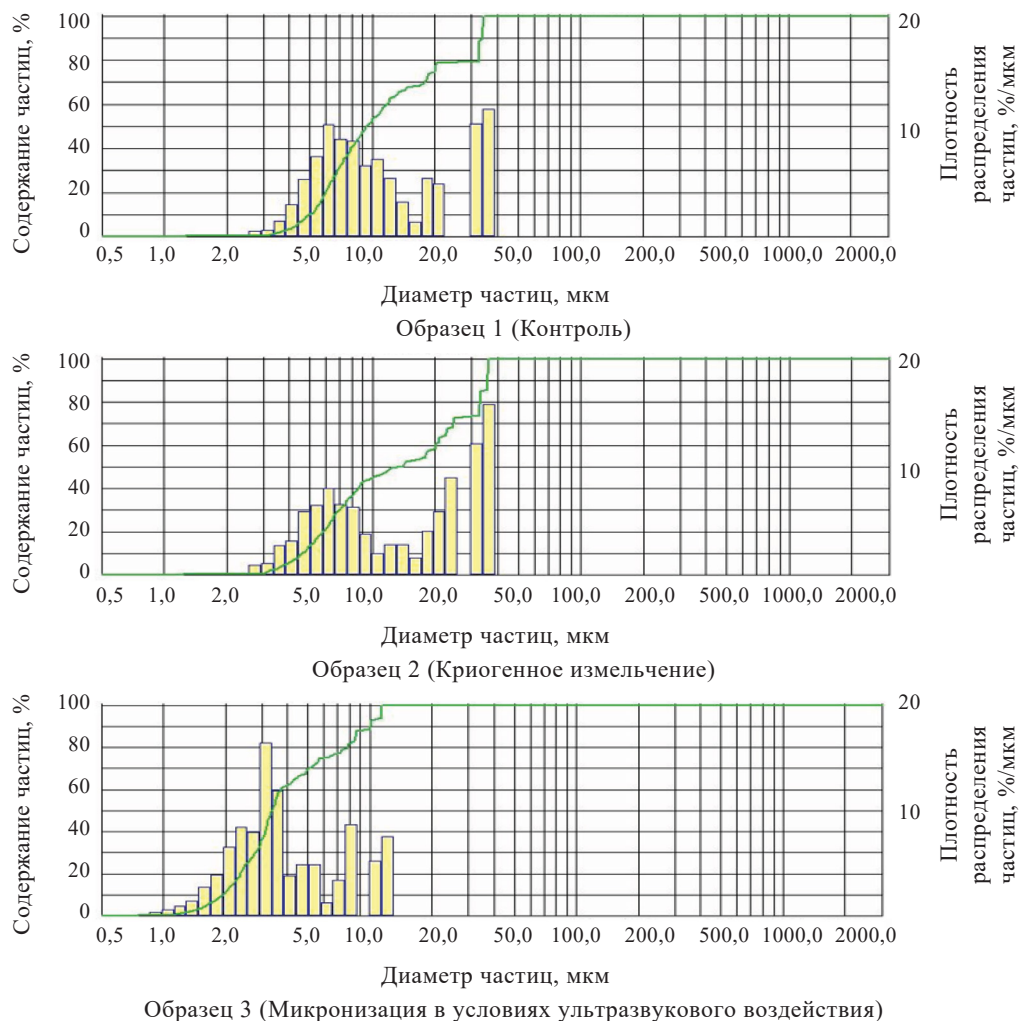


Рисунок 7. Дисперсный состав и распределение частиц по размерам суспензии образцов флавоноидной фракции, полученные методом электронной микроскопии

Figure 7. Disperse composition and particle size distribution of suspensions of flavonoid fraction samples: electron microscopy

Таблица 4. Содержание индивидуальных соединений в составе образцов флавоноидной фракции ($M \pm m, n = 3$), %

Table 4. Individual compounds in flavonoid fraction samples ($M \pm m, n = 3$), %

Соединение	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Рутин	0,14 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Кверцетин	35,11 ± 0,02	34,33 ± 0,02	34,30 ± 0,02
Кемпферол	1,72 ± 0,01	0,85 ± 0,01	0,80 ± 0,01
Изорамнетин	62,12 ± 0,02	64,14 ± 0,02	64,20 ± 0,02
Нарциссин	0,30 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,30 ± 0,01
Мирицетин	0,61 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,01

при 15 000 об/мин. в течение 15 мин. с последующим высушиванием в сушильном шкафу при температуре 50 ± 5 °С до влажности порядка 3,5 %, при этом в результате микронизации в условиях ультразвукового воздействия порошок приобретает ярко выра-

женный желтый оттенок и менее выраженный цвет с сероватым оттенком в результате криоизмельчения. Образцы не имеют вкуса, запах слабовыраженный, свойственный плодам облепихи, посторонние примеси не обнаружены. Образцы, полученные в результате микронизации, характеризуются высоким содержанием основного вещества (суммы флавоноидов) – 96 %, зольность – 0,04 %, токсичные элементы и посторонняя микрофлора не обнаружены, что свидетельствует об их высоком качестве и безопасности.

Несмотря на близкие размерные характеристики получаемых частиц флавоноидной фракции и их компонентный состав, преимуществом ультразвуковой технологии микронизации является относительно простая конструкция излучателя ультразвуковых волн, простота обслуживания оборудования, отсутствие необходимости поддержания экстремально низких температур до -197 °С, что облегчает масштабирование процесса. В связи с этим дальнейшие исследования по растворимости и консервирующей способности

флавоноидной фракции проводились с образцом 3, полученным в результате микронизации в условиях ультразвукового воздействия.

Для достижения максимальной растворимости компонентов флавоноидной фракции рассмотрены зависимости растворимости от температуры и продолжительности растворения.

Наибольшая растворимость компонентов флавоноидной фракции в воде составляет: до микронизации –

74,52 мг/л, после микронизации – 77,62 мг/л и достигается при температуре растворения – 100 °С, продолжительности – 35 мин. Процесс микронизации позволяет увеличить растворимость в воде на 4,16 % (рис. 8).

Компоненты флавоноидной фракции плохо растворимы в подсолнечном масле: максимальная растворимость достигается при растворении МОФФ ОШ при температуре 100 °С в течение 35 мин. и составляет 1,38 мг/л (рис. 9).

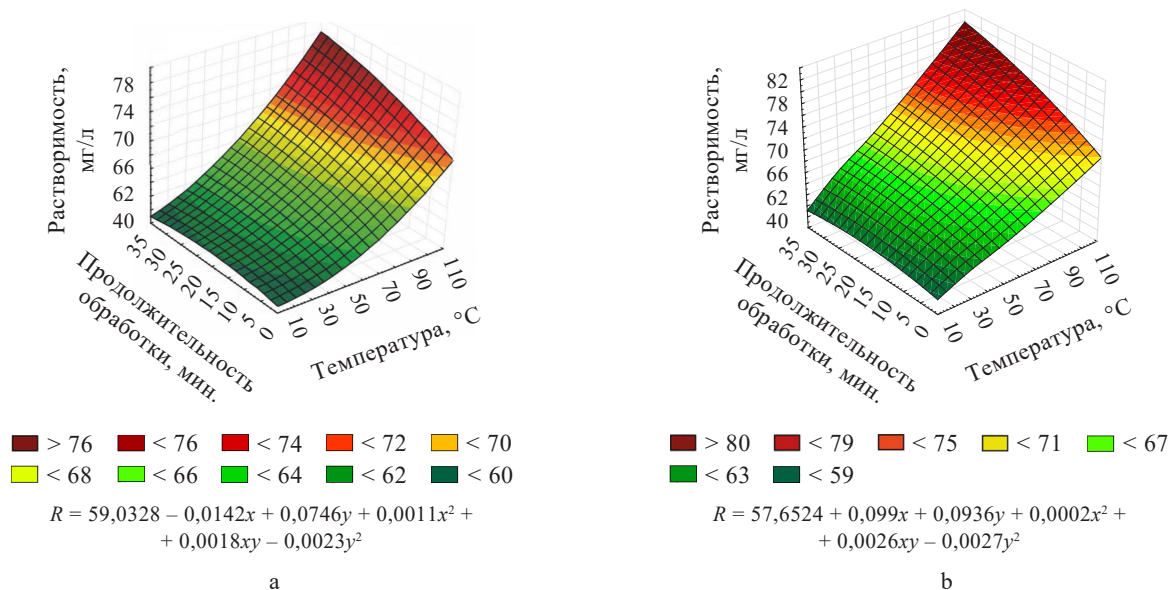


Рисунок 8. Графики поверхности отклика, показывающие влияние температуры и продолжительности растворения на растворимость компонентов флавоноидной фракции в воде

Figure 8. Effect of temperature and dissolution time on water solubility of flavonoid fraction components: a – Sample 1; b) – Sample 3

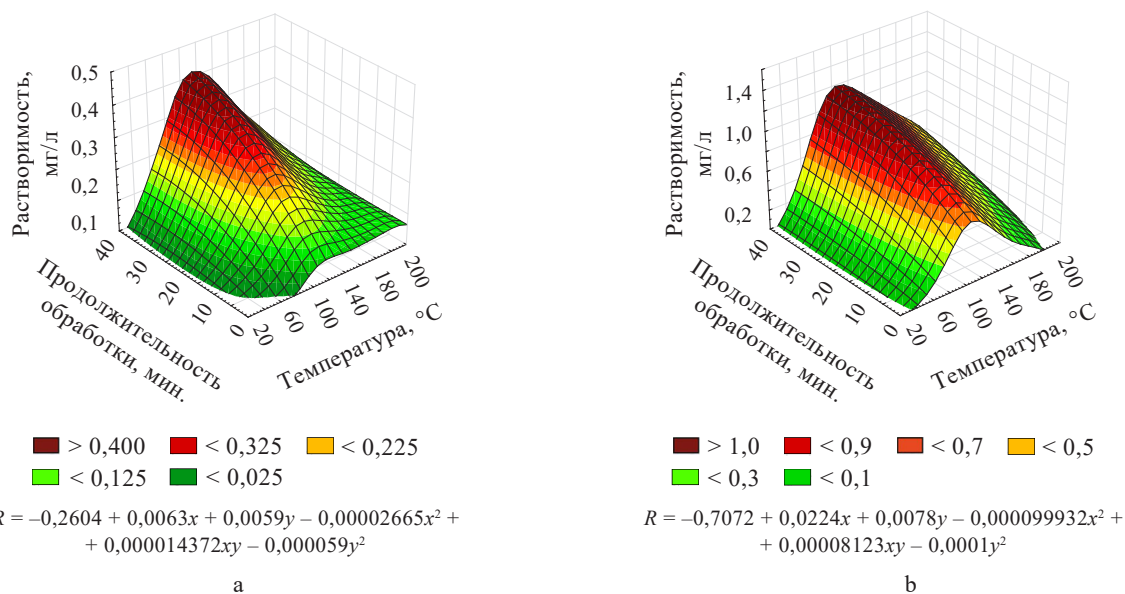


Рисунок 9. Графики поверхности отклика, показывающие влияние температуры и продолжительности растворения на растворимость компонентов флавоноидной фракции в подсолнечном масле: а – образец 1; б – образец 3

Figure 9. Effect of temperature and dissolution time on sunflower oil solubility of flavonoid fraction components: a – Sample 1; b – Sample 3

Наибольшая растворимость компонентов флавоноидной фракции наблюдается в спирте этиловом 96 % об. и составляет: до микронизации – 97,71 мг/л (температура растворения – 78 °С, продолжительность – 35 мин.), после микронизации – 100,43 мг/л (температура растворения – 40 °С, продолжительность – 30 мин.); процесс микронизации позволяет увеличить растворимость на 3 % (рис. 10); при этом растворимость компонентов флавоноидной фракции в спирте этиловом не зависит от температуры, но проявляет сильную зависимость от продолжительности растворения.

Таким образом, МОФФ ОШ имеет достаточно хорошую растворимость для минорных компонентов в пищевых растворителях, что позволяет рекомендовать ее в качестве пищевой добавки для использования в различных пищевых матрицах. Варьируя соотношение сред и другие условия, можно добиться максимальной растворимости компонентов в задан-

ных условиях. Микронизация положительно влияет на растворимость компонентов флавоноидной фракции как в полярных растворителях (вода, этиловый спирт), так и в неполярных (растительное масло), поэтому является одним из важнейших этапов ее получения.

Доказательством эффективности микронизации являются результаты исследования антиоксидантной активности образцов флавоноидной фракции (табл. 5).

В результате микронизации образец МОФФ ОШ (образец 3) увеличивает скорость каталазной реакции – на 19 % по отношению к немикронизированному образцу (образец 1) при постоянстве скорости глутатионредуктозной реакции, что способствует увеличению антиоксидантной активности образца МОФФ ОШ в четыре раза.

При микробиологическом исследовании установлено, что образцы флавоноидной фракции обладают антимикробной (бактериостатической) активностью

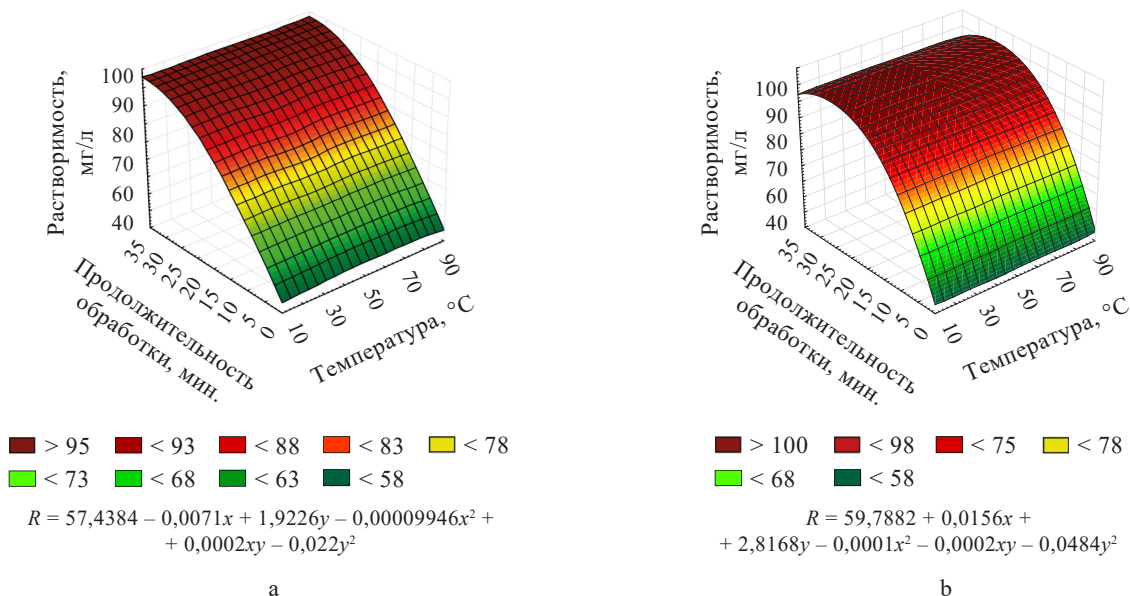


Рисунок 10. Графики поверхности отклика, показывающие влияние температуры и продолжительности растворения на растворимость компонентов флавоноидной фракции в этиловом спирте 96 % об.

Figure 10. Effect of temperature and dissolution time on 96%-ethyl solubility of flavonoid fraction components, a – Sample 1; b – Sample 3

Таблица 5. Антиоксидантная активность образцов флавоноидной фракции ($M \pm m$, $p \leq 0,05$)

Table 5. Antioxidant activity of flavonoid fraction samples ($M \pm m$, $p \leq 0.05$)

Наименование показателя	Без флавоноидов	Образец 1	Образец 3
Антиоксидантная активность, мг/г	0	0,125	0,500
Скорость глутатионредуктазной реакции: – мкмоль/(мин на мг белка) – %	2,92 ± 0,06 100	4,41 ± 0,10 151*	4,35 ± 0,21 144*
Скорость каталазной реакции – мкмоль/(мин на мг белка) – %	1,50 ± 0,02 100	1,56 ± 0,02 104	1,85 ± 0,09 123*

* Значения достоверны при $p < 0,05$

Таблица 6. Антимикробная активность образцов флавоноидной фракции ($M \pm m$, $n = 3$), $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ Table 6. Antimicrobial activity of flavonoid fraction samples ($M \pm m$, $n = 3$), $\mu\text{g}/\text{cm}^3$

Штаммы микроорганизмов	Образец 1	Образец 3
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3000 \pm 20	3000 \pm 20
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (209-P)	2000 \pm 20	2000 \pm 20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	3000 \pm 20	2000 \pm 20
Дрожжеподобные грибы: <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1000 \pm 10	1000 \pm 10

в отношении грамотрицательных *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 и грамположительных *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (209-P) бактерий, а также фунгистатической активностью в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans* ATCC 10231 в концентрациях 1000–3000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ (табл. 6).

Согласно данным таблицы 6 микронизация не оказывает существенного влияния на антимикробную активность флавоноидов облепихи в отношении условно-патогенной микрофлоры, за исключением синегнойной палочки (*P. aeruginosa*), необходимая концентрация флавоноидной фракции для проявления бактериостатического действия которой снизилась в 1,5 раза, что свидетельствует об увеличении эффективности МОФФ ОШ (образец 3) в отношении этого вида микроорганизмов.

Совокупность полученных результатов доказывает возможность использования МОФФ ОШ в различных пищевых системах в качестве натуральной пищевой добавки, выполняющей технологическую функцию консерванта.

Выводы

В результате экспериментальных исследований подобраны рациональные режимы микронизации очищенной флавоноидной фракции для дальнейшего использования в производственных процессах: при микронизации в условиях ультразвукового воздействия для получения частиц диаметром 1400 нм необходима обработка 0,5 % суспензии при наложении ультразвуковых колебаний мощностью 50 Вт в течение 10 мин.; при измельчении в шаровой криомельнице 0,1 % суспензии достижение размера частиц 1200 нм происходит за 15 мин. Несмотря на близкие размерные характеристики получаемых частиц, показаны эффективность и преимущества ультразвуковой технологии микронизации: относительно простая конструкция излучателя ультразвуковых волн, простота обслуживания оборудования, возможность масштабирования процесса, отсутствие необходимости поддержания экстремально низких температур (до -197°C) и получение суспензии с более высокой концентрацией флавоноидов 0,5 %.

Установили, что микронизация в условиях ультразвукового воздействия положительно влияет на растворимость компонентов флавоноидной фракции как в полярных растворителях (вода, этиловый спирт), так и в неполярных (растительное масло), поэтому является одним из важнейших этапов ее получения.

Доказали, что образцы очищенной флавоноидной фракции облепихового шрота обладают антимикробной (бактериостатической) активностью в отношении грамотрицательных *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 и грамположительных *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (209-P) бактерий, фунгистатической активностью в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans* ATCC 10231 в концентрациях 1000–3000 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Микронизация не оказывает влияние на антимикробную активность флавоноидов облепихи в отношении условно-патогенной микрофлоры, за исключением синегнойной палочки (*P. aeruginosa*), необходимая концентрация очищенной флавоноидной фракции для проявления бактериостатического действия которой снизилась в 1,5 раза, что свидетельствует об увеличении эффективности микронизированного образца в отношении этого вида бактерий. В условиях ультразвукового воздействия образец флавоноидной фракции (образец 3) увеличивает скорость каталазной реакции на 19 % по отношению к немикронизированному образцу (образец 1), при постоянстве скорости глутатионредуктазной реакции, что способствует увеличению антиоксидантной активности микронизированного образца в четыре раза.

Таким образом, образец очищенной флавоноидной фракции облепихового шрота, полученный микронизацией в условиях ультразвукового воздействия, может быть рекомендован для использования в качестве природного консерванта в различных пищевых матрицах.

Критерии авторства

Е. В. Аверьянова – руководство исследованием, проведение экспериментального исследования и написание рукописи. М. Н. Школьникова – разработка концепции и консультация в ходе эксперимента, написание и редактирование рукописи. Н. В. Павлова – обработка и анализ полученных данных. Е. Д. Рожнов – литературный обзор, оформление статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

E.V. Averyanova supervised the research, conducted the experiments, and wrote the manuscript. M.N. Shkolnikova developed the research concept, provided consultations during the experiment, and edited the manuscript.

N.V. Pavlova processing and analyzed the obtained data.
E.D. Rozhnov provided the literature review and designed the illustrations.

Conflict of interest
The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Moiseyak MB, Ilyashenko NG, Grishin AG. Microbiological safety in food production. Bulletin of the Medical Institute of Continuing Education. 2022;(3):64–67. (In Russ.). https://doi.org/10.463930/27821714_2022_3_64; <https://elibrary.ru/WPCMJF>
2. Teshome E, Forsido SF, Rupasinghe HP, Olika Keyata E. Potentials of natural preservatives to enhance food safety and shelf life: a review. The Scientific World Journal. 2022;(1):9901018. <https://doi.org/10.1155/2022/9901018>
3. Batiha GES, Hussein DE, Algammal AM, George TT, Jeandet P, Al-Snafi AE, *et al.* Application of natural antimicrobials in food preservation: recent views. Food Control. 2021;126:108066. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108066>
4. Fenoglio D, Soto Madrid D, Alarcón Moyano J, Ferrario M, Guerrero S, Matiacevich S. Active food additive based on encapsulated yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract: effect of drying methods on the oxidative stability of a real food matrix (mayonnaise). Journal of Food Science and Technology. 2021;58:1574–1584. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04669-y>
5. Blagoveshchenskaya DB, Merzlyakov AS. Studying toxic properties of widespread modern preservatives. Journal of New Medical Technologies. 2011;18(2):501–502. (In Russ.). [Благовещенская Д. Б., Мерзляков А. С. Исследование токсических свойств распространенных современных консервантов // Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. 18. № 2. С. 501–502.]. <https://elibrary.ru/OCYLJJ>
6. Samoylov AV, Suraeva NM, Zaytseva MV, Rachkova VP, Kurbanova MN, Petrov AN. Comparative assessment of sorbic and benzoic acid via express biotest. Foods and Raw Materials. 2020;8(1):125–133. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-125-133>; <https://elibrary.ru/PULKJG>
7. Prakash B, Singh PP, Gupta V, Raghuvansh TS. Essential oils as green promising alternatives to chemical preservatives for agri-food products: new insight into molecular mechanism, toxicity assessment, and safety profile. Food and Chemical Toxicology. 2024;183:114241. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.114241>
8. Kumari PK, Akhila S, Rao YS, Devi BR. Alternative to artificial preservatives. Systematic Reviews in Pharmacy. 2019;10(1):99–102. <https://doi.org/10.5530/srp.2019.1.17>
9. Muthuvelu KS, Ethiraj B, Prammik S, Raj NK, Venkataraman S, Rajendran DS, *et al.* Biopreservative technologies of food: an alternative to chemical preservation and recent developments. Food Science and Biotechnology. 2023;32:1337–1350. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01336-8>
10. Moo CL, Yang SK, Osman MA, Yuswan MH, Loh JY, Lim WM, *et al.* Antibacterial activity and mode of action of β -caryophyllene on. Polish Journal of Microbiology. 2020;69(1):49–54. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-007>
11. Corpuz MR. Phytochemical Screening and Antibacterial Properties of Indigenous Vegetables in Cagayan Valley, Philippines. LINKER: The Journal of Engineering Application. 2020;3(2):1–6.
12. Lee N-K, Paik H-D. Status, antimicrobial mechanism, and regulation of natural preservatives in livestock food systems. Korean Journal for Food Science of Animal Resource. 2016;36(4):547–557. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.4.547>
13. Bouarab Chibane L, Degraeve P, Ferhout H, Bouajila J, Oulahal N. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2019;99(4):1457–1474. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9357>
14. Shah MA, Mir SA. Plant extracts as food preservatives. In: Mir SA, Manickavasagan A, Shah MA, editors. Plant extracts: Applications in the food industry. Academic Press; 2022. pp. 127–141. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822475-5.00010-7>
15. Chen T, Zhang M, Bhandari B, Yang Z. Micronization and nanosizing of particles for an enhanced quality of food: a review. Critical reviews in food science and nutrition. 2018;58(6):993–1001. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1236238>
16. Averyanova EV, Shkolnikova MN, Malakhova AV, Rozhnov ED. Method for producing a complex of bioflavonoids from defatted sea-buckthorn extraction cake. Russia patent RU 2711728C1. 2019. [Способ получения комплекса биофлавоноидов из обезжиренного облепихового шрота: пат. 2711728C1 Рос. Федерация. № 2019126682 / Аверьянова Е. В. [и др.]; заявл. 22.08.2019; опубл. 21.01.2020. 9 с. Бюл. № 3.].
17. Mironov AN. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Moscow: Grif and K; 2012. 944 p. (In Russ.). [Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.].
18. Lupanova IA, Mizina PG, Martynchik IA, Rogozhnikova EP. Comparative study of the biological activity of plant tinctures. Russian Journal of Biopharmaceuticals. 2020;12(4):45–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/2073-8099-2020-12-4-45-49>; <https://elibrary.ru/ZVDLWZ>
19. Potoroko IYu, Uskova DG, Pajmulina AV, Bagale U. Ultrasound micronization of fucoidan vegetable ingredient for the use in food production technology. Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology. 2019;7(1):58–70. (In Russ.). <https://doi.org/10.14529/food190107>; <https://elibrary.ru/YYIRMD>
20. Averyanova EV, Shkolnikova MN, Rozhnov ED. Technological Aspects of Improving the Efficiency of Phytocomposition Based on Sea Buckthorn Meal Flavonoids. KSTU News. 2023;(68):57–70. (In Russ.). <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2023-68-57-70>; <https://elibrary.ru/TRQBCV>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2523>
<https://elibrary.ru/SQHURU>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Анализ отношений стабильных изотопов легких элементов в отдельных компонентах мёда



Л. А. Оганесянц¹, А. Л. Панасюк¹, Д. А. Свиридов¹,
М. Ю. Ганин^{1,*}, А. А. Шилкин¹, О. В. Серебрякова²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности^{ROR}, Москва, Россия

² Научный центр пчеловодства, Рыбное, Россия

Поступила в редакцию: 10.04.2024

Принята после рецензирования: 13.05.2024

Принята к публикации: 04.06.2024

*М. Ю. Ганин: labvin@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-0518-1181>

Л. А. Оганесянц: <https://orcid.org/0000-0001-8195-4292>

А. Л. Панасюк: <https://orcid.org/0000-0002-5502-7951>

Д. А. Свиридов: <https://orcid.org/0000-0002-5595-0455>

А. А. Шилкин: <https://orcid.org/0000-0003-1223-0703>

О. В. Серебрякова: <https://orcid.org/0000-0002-8337-2322>

© Л. А. Оганесянц, А. Л. Панасюк, Д. А. Свиридов, М. Ю. Ганин,
А. А. Шилкин, О. В. Серебрякова, 2024



Аннотация.

Мёд, благодаря своим органолептическим качествам и питательным свойствам, является ценным ингредиентом в пищевой промышленности. Однако мёд стал одним из самых фальсифицируемых продуктов. Нарушение технологии при производстве мёда является одной из главных проблем, угрожающих стабильному развитию и деятельности пчеловодческой отрасли. Разработка способов определения подлинности мёда и продуктов на его основе является востребованным направлением исследований. С целью идентификации мёда авторами проведен анализ отношений стабильных изотопов легких элементов в его отдельных компонентах.

В ходе исследования изучили 36 образцов мёда различного географического и ботанического происхождения, а также 5 образцов сахарных сиропов из различного сырья. Для установления числовых значений показателей изотопных характеристик легких элементов применяли изотопный масс-спектрометр Delta Advantage V (США – Германия), с дополнительными модулями Flash IRMS и ConFlo IV.

В исследуемых образцах измерили значения показателей отношений стабильных изотопов углерода: в мёде (брутто) $\delta^{13}\text{C}$ и азота $\delta^{15}\text{N}$ в его белковой фракции, а также показатели $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^2\text{H}$ этанола, выделенного из ферментированного мёда. Анализ значений показателей $\delta^{13}\text{C}$ брутто и $\delta^{13}\text{C}$ белковой части мёда позволяет рассчитать количество внесенных сахаров, полученных из кукурузы и тростника. В двух образцах были обнаружены экзогенные сахара в количестве 6,5 и 18 % в пересчёте на тростниковый сахар.

Проведенные исследования показали, что использование метода изотопной масс-спектрометрии позволяет выявить образцы мёда, содержащие экзогенные сахара. На основании методики АОАС 998.12., в 2 образцах мёда из 36 было выявлено присутствие экзогенных сахаров из С4-типа растений. Однако данный метод не позволяет выявить присутствие внесенных сахаросодержащих веществ из С3-типа растений. Были проведены исследования значений показателей $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^2\text{H}$ этанола, выделенного из ферментированного мёда. Установлено, что показатель $\delta^{18}\text{O}$ может выступать в качестве идентификационного критерия при установлении присутствия сахаров из С3-типа растений в мёде. Изучение отношений изотопов азота в белковой части мёда может быть полезным инструментом для определения его подлинности и дополнительным критерием идентификации пчеловодческой продукции. В ходе работы был получен патент (RU2809285C1) по определению экзогенных сахаросодержащих веществ в пчелином мёде.

Ключевые слова. Мёд, продукты пчеловодства, идентификация, фальсификация, изотопная масс-спектрометрия легких элементов

Для цитирования: Анализ отношений стабильных изотопов легких элементов в отдельных компонентах мёда / Л. А. Оганесянц [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 522–531. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2523>

Light Stable Isotopes and Their Ratios in Honey Components

Lev A. Oganesyants¹, Alexander L. Panasyuk¹,
Dmitriy A. Sviridov¹, Mikhail Yu. Ganin^{1,*},
Alexey A. Shilkin¹, Oksana V. Serebryakova²

¹ All-Russian Research Institute of Brewing Non-Alcoholic and Wine Industry^{ROR}, Moscow, Russia

² Scientific Center of Beekeeping, Rybnoye, Russia

Received: 10.04.2024
Revised: 13.05.2024
Accepted: 04.06.2024

*Mikhail Yu. Ganin: labvin@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-0518-1181>

Lev A. Oganesyants: <https://orcid.org/0000-0001-8195-4292>
Alexander L. Panasyuk: <https://orcid.org/0000-0002-5502-7951>
Dmitriy A. Sviridov: <https://orcid.org/0000-0002-5595-0455>
Alexey A. Shilkin: <https://orcid.org/0000-0003-1223-0703>
Oksana V. Serebryakova: <https://orcid.org/0000-0002-8337-2322>

© M.Yu. Ganin, L.A. Oganesyants, A.L. Panasyuk, D.A. Sviridov,
A.A. Shilkin, O.V. Serebryakova, 2024



Abstract.

Honey possesses excellent sensory and nutritional properties, which makes it a valuable food ingredient. However, the same qualities make it one of the most often adulterated products in the world. Constant violations of processing technology threaten the beekeeping industry. In this regard, new authenticity criteria are a popular area of honey studies. The article introduces a method for establishing ratios of light stable isotopes in honey.

The study featured 36 samples of honey of various geographical origins and botanical profiles, as well as five samples of sugar syrups from various raw materials. The quantitative profiles were obtained using a Delta Advantage V isotope mass spectrometer (USA – Germany) with additional Flash IRMS and Conflo IV modules.

The experiment involved the ratios of stable carbon isotopes in honey $\delta^{13}\text{C}$ (gross) and nitrogen $\delta^{15}\text{N}$ in its protein fraction, as well as the values of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$, and $\delta^2\text{H}$ of ethanol isolated from fermented honey. The values of $\delta^{13}\text{C}$ (gross) and $\delta^{13}\text{C}$ of honey proteins made it possible to calculate the amount of added sugar of corn and cane origin. Exogenous sugars in the amounts of 6.5% and 18% cane sugar were detected in two samples.

Isotope mass spectrometry was able to identify honey samples with exogenous sugars of C4-plant origin. However, the method failed to detect sugar-containing substances from C3-type plants. The $\delta^{18}\text{O}$ index demonstrated some prospects as an identification criterion for sugars from C3-plants in honey. Nitrogen isotope ratios in honey proteins proved to be an efficient tool for determining honey authenticity and an additional criterion for identifying bee products. The research resulted in a patent (RU2809285C1) for a new method of determining exogenous sugar-containing substances in honey.

Keywords. Honey, bee products, identification, falsification, isotope mass spectrometry

For citation: Oganesyants LA, Panasyuk AL, Sviridov DA, Ganin MYu, Shilkin AA, Serebryakova OV. Light Stable Isotopes and Their Ratios in Honey Components. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):522–531. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2523>

Введение

Мёд – природный продукт, обладающий высокой физиологической ценностью. Физико-химический состав мёда представлен углеводной составляющей (в первую очередь, глюкоза и фруктоза), водой, небольшим количеством белков, минералов, витаминов, ферментов, органических кислот и аминокислот. Следует отметить, что пчелиный мёд ценен в силу его антиоксидантных и противомикробных свойств [1]. Однако мёд стал одним из самых фальсифицируемых

продуктов в мире. Недавнее исследование, проведенное Объединенным исследовательским центром в Европейском Союзе, показало, что из 320 проб мёда, взятых на границах Европейского союза, 46 % образцов, вызвали серьезные сомнения в их подлинности [2]. Из-за мирового спроса и высокой цены на мёд, добавление более дешевых инвертных сиропов, производимых из тростникового сахара, кукурузы и риса, а также неправильная маркировка географического происхождения являются одними из распространенных мошеннических

практик на международных и отечественных рынках [3]. Фальсификация и неправильное указание ботанического и географического происхождения мёда будут иметь и негативные экономические последствия для производителей натурального мёда, желающих работать в честной конкуренции. Производство мёда, не отвечающего установленным требованиям, угрожает эффективной деятельности и даже выживанию пчеловодческой отрасли [4].

Необходимо отметить, что мёд используется не только в свежем виде, но также является ингредиентом при производстве выпечки, десертов, а также напитков, таких как медовуха, сбитни, медовая комбуча и др. Поэтому проведение исследований, направленных на определение критериев, подтверждающих подлинность мёда и продуктов на его основе, является ключевым для обеспечения населения качественной пищей и защиты интересов честных производителей пчеловодства.

Решение вопросов обеспечения качества и безопасности пищевой продукции является приоритетной задачей, стоящей перед контролирующими органами исполнительной власти. Из-за сложности химической структуры и большого разнообразия сортов мёда, трудно определить, является ли мёд натуральным или поддельным. С другой стороны, с увеличением количества подделок возникает необходимость внедрения новых современных методов по обнаружению различного рода фальсификаций.

Можно выделить следующие, наиболее распространенные способы подделки (фальсификации) мёда:

- фальсификация путем добавления воды в мёд с целью увеличения его количества;
- фальсификация путем добавления различных сахаросодержащих веществ в мёд с целью увеличения его количества;
- фальсификация при производстве мёда путем кормления пчел сахарными сиропами;
- фальсификация путем нагревания мёда, искусственно создавая более привлекательный вид;
- фальсификация путем производства искусственного мёда (подделки) под видом натурального;
- ассортиментная фальсификация (неверное указание ботанического и географического происхождения).

Среди указанных видов фальсификации наиболее широкое распространение получили подделки, произведенные путем внесения сахаросодержащих веществ непосредственно в продукт. Показатели физико-химического состава фальсифицированных образцов, в том числе соотношение глюкозы и фруктозы соответствует аналогичным показателям натурального мёда, что значительно усложняет процесс идентификации. Часто практикуется кормление пчёл во время основного сбора нектара с целью увеличения урожайности мёда в ульях. Сахароза расщепляется до глюкозы и фруктозы при помощи инвертазы, содержащейся в натуральном мёде. Такие сахарные вещества счи-

таются наиболее подходящим для пчел, так как легко перерабатывается насекомыми и позволяют добиться увеличения объема выделяемого мёда пчёлами. В таком случае обнаружить данный факт подкормки становится сложнее. В России подобная практика, при которой конечный продукт не соответствует юридическому определению мёда, установленному новыми поправками в Федеральном законе № 490-ФЗ «О пчеловодстве в Российской Федерации» не редкость. Для указанных методов фальсификации обычно применяются недорогие виды сахара или промышленные сиропы. Наиболее популярные сахарные добавки это различного рода сиропы, среди которых стоит выделить такие как, кукурузный сироп CS, сироп глюкозы GS, сироп сахарозы, кукурузный сироп с высоким содержанием фруктозы HFC, инвертный сироп IS с высоким содержанием фруктозы HFIS, получаемый из сахарного тростника или сахарной свёклы [5]. Добавление данных сиропов к мёду с целью удешевления его производства приводят к изменению некоторых физико-химических и биохимических контролируемых показателей, таких как активность нативных ферментов, снижение содержания аминокислоты пролина, золы. Однако при анализе этих показателей необходимо учитывать естественную изменчивость. Некоторые химические показатели, такие как содержание оксиметилфурфуrolа, ранее использовавшиеся для определения наличия инвертных сиропов в мёде, могут давать неоднозначные результаты. Дело в том, что оксиметилфурфуrol и ферментативная активность могут различаться в разных типах мёда и могут изменяться в образцах при нагревании или неправильном хранении в теплой среде [6].

На сегодняшний день, при выявлении фальсификатов мёда, наибольшее распространение получили следующие методы:

- физико-химический анализ и меллисопалинологический анализ пыльцы;
- методы разделения, например, определение профиля углеводов с помощью жидкостной хроматографии или газовой хроматографии;
- спектрометрические методы, в том числе жидкостной хроматографии с последующей масс-спектрометрией высокого разрешения и газовая хромато-масс-спектрометрия для определения профиля аромата;
- спектроскопические методы, включая инфракрасное преобразование Фурье;
- спектроскопия в ближней инфракрасной области и ядерно-магнитного резонанса;
- профилирование микроэлементов с помощью масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.

Стоит отметить, что указанные методы не позволяют дать однозначный ответ о подлинности мёда.

Одним из передовых и наиболее эффективных методов по определению как добавления экзогенных сахаросодержащих веществ, так и географического/ботанического происхождения является метод изотопной масс-спектрометрии.

Метод изотопной масс-спектрометрии имеет ключевое значение при выявлении фальсификатов и подтверждении географического происхождения продуктов питания. Числовые значения отношений стабильных изотопов компонентов мёда (углерода, кислорода, азота и водорода) могут быть использованы для проверки указанной на этикетке маркировки (страны происхождения) и подлинности продуктов, связанной с правилами производства, например, с использованием экзогенных сахаросодержащих сиропов. Ряд стран приняли метод измерения соотношения стабильных изотопов углерода АОАС для обнаружения намеренно добавленных «растительных сахаров C4 в мёд» [7]. Принцип метода основан на различиях в значениях изотопных характеристиках углерода ($\delta^{13}\text{C}$) мёда брутто (полученного из нектара растений C3) и фальсифицированного мёда (смешанного с сахаром, полученным из растений C4, например, тростниковая сахароза или инвертированный кукурузный сахарный сироп). В таких случаях разница в значениях $\delta^{13}\text{C}$ между совокупностью всех соединений мёда (брутто исследование) и его белковой части являются важным инструментом для качественного и количественного определения фальсификации мёда [8–10]. Авторы в статье утверждают, что вышеупомянутый метод не применим для обнаружения сахаросодержащих добавок, произведенных из растений типа C3 [11].

Значения показателей изотопных отношений углерода, азота, водорода и кислорода в перспективе могут быть полезны для аутентификации географического и ботанического происхождения, поскольку на значения изотопных характеристик легких элементов структурных компонентов мёда влияют условия окружающей среды и способы ведения сельского хозяйства [12].

В настоящей работе описаны результаты исследования образцов мёда разного географического и ботанического происхождения с использованием метода изотопной масс-спектрометрии. Рассмотрена возможность использования дополнительных критериев для определения подлинности мёда, таких как соотношение изотопов азота в белковой части мёда, а также изотопные характеристики углерода, кислорода и водорода в этиловом спирте, полученном путем ферментации исследуемых образцов различного происхождения. Данный метод получил широкое применение и доказал свою эффективность в идентификации винодельческой продукции и других алкогольных напитков, а также при выявлении фальсификации органической продукции [13–19]. Данная работа является продолжением исследования по идентификации пчеловодческой продукции, но с большей выборкой образцов, а также более широким географическим охватом [19].

Объекты и методы исследования

Были изучены и проанализированы 36 образцов мёда из различных регионов (РФ, США и Австралии), а также 5 различных сиропов, произведенных из кукурузы, риса, свекловичного и тростникового сахара, а

также из мелассы. По ботаническому происхождению образцы мёда были заявлены как липовый, акациевый, гречишный, падевый, женьшень, манука, кориандровый, донниковый и разнотравье.

Для выделения белковой фракции мёда использовался европейский протокол АОАС 998.12. [11, 20, 21]. В случае, когда белок не выделялся в процессе пробоподготовки, то уже можно было говорить о признаке фальсификации [22]. Белки и свободные аминокислоты не играют значительной роли в повышении пищевой ценности мёда, так как они не являются основными компонентами этого продукта. Однако они необходимы для образования ароматических веществ, которые характерны только для мёда, так как ферменты, содержащие белки, формируют и поддерживают состав мёда. В натуральном мёде обычно содержится белковая составляющая, за исключением некоторых редких видов цитрусовых мёдов.

В целях установления значений соотношения изотопов углерода и азота использовался изотопный масс-спектрометр Delta Advantage V (США – Германия), с дополнительными вспомогательными модулями Flash IRMS и Conflo IV. Пробы вводились в элементный анализатор с помощью твердотельного автодозатора. Время анализа одной пробы занимало порядка 10 мин. В качестве эталонов использовали стандарты МАГАТЭ и геологической службы США (USGS), таких как кофеин IAEA 600, масла NBS22, вьетнамского мёда USGS82 и канадского мёда USGS83.

Для определения значений изотопных характеристик углерода, кислорода и водорода в этиловом спирте, пробы подготавливались следующим образом. Мёд или сахарные сиропы растворяли в соотношении 20 г на 100 мл воды. Для отгонки этилового спирта из полученного продукта использовали чистые и высушенные винные дрожжи. В круглодонную колбу объемом 50 см³ добавляли 25 см³ исследуемой пробы и производили экстракцию этилового спирта. Когда происходило достижение стабильной температуры паров, обычной для азеотропной смеси этанола и воды 78,2–78,5 °С, начинали сбор дистиллята, который прекращали при повышении температуры. Сбор дистиллята продолжали до полного выделения азеотропной смеси этанола и воды.

В целях установления значений изотопного состава элементов этилового спирта использовался изотопный масс-спектрометр Delta Advantage V с дополнительными модулями, описанными выше только с автосамплером для жидких проб AI-AS 1300. В качестве эталонов сравнения использовали стандарты воды МАГАТЭ-USGS и спирта: SLAP2, USGS47, VSMOW2, BCR656.

Результаты и обсуждение

В ареале обитания пчёл, как правило, произрастают растения-медоносы C3-типа фотосинтеза. Именно тип фотосинтеза растения, в первую очередь, определяет значения показателя $\delta^{13}\text{C}$ структурных составляющих продуктов, вырабатываемых из растительного сырья.

Поэтому натуральный мёд имеет диапазон значений показателя $\delta^{13}\text{C}$ (брутто) от -29 до -24 ‰. Если мёд разбавлен сиропом, который содержит кукурузный или сахарный тростниковый сироп со средними значениями показателей $\delta^{13}\text{C}$ от -13 до -11 ‰, или если пчёлы были подкормлены сахаром, полученным из растений типа С4, то изотопный состав углерода в общих углеводах мёда будет находиться в промежутке между -29 и -11 ‰. Учитывая вышеизложенное, наиболее популярные и традиционные сорта мёда, такие как акациевый, липовый, гречишный и другие, должны иметь значения показателя $\delta^{13}\text{C}$ (брутто), характерные для высших растений типа С3. Например, в некоторых научных работах отмечается, что если значения изотопных характеристик углерода в мёде (брутто) превышают $-23,5$ ‰, то образец становится сомнительным и требует проведения дополнительных исследований [23, 24]. Зная об этом критерии, некоторые нечестные производители мёда начали добавлять различные компоненты (содержащие сахар, искусственные подсластители, ароматизаторы, глицерин и т. д.) к мёду, чтобы значение изотопного показателя углерода в мёде (брутто) было ниже $-23,5$ ‰. Когда сахаросодержащие компоненты добавляются в мёд, изотопные характеристики углерода в мёде (брутто) изменяются, но изотопные характеристики углерода в белковой части (фракции) мёда остаются неизменными. Это объясняется тем, что белок является естественным (нативным) компонентом, образующимся в процессе производства мёда, и добавление внешних сахаров не влияет на значения изотопного показателя углерода в белковой составляющей.

Согласно методике, мёд считается с добавками экзогенных сахаров, если процент содержания сахаров-сиропов, произведенных из растений С4-типа в образце, больше 7 % [23]. Для расчета содержания сахаров-сиропов в ‰, используется формула 1:

$$\text{С4 сахара} = \left(\frac{\delta^{13}\text{C}_\sigma - \delta^{13}\text{C}_\text{м}}{\delta^{13}\text{C}_\sigma - (-9,7)} \right) \times 100 \quad (1)$$

где, $\delta^{13}\text{C}_\text{м}$ – значение $\delta^{13}\text{C}$ для мёда (брутто); $\delta^{13}\text{C}_\sigma$ – значение $\delta^{13}\text{C}$ для белковой части мёда; $(-9,7)$ – среднее значение $\delta^{13}\text{C}$ для кукурузного сиропа.

Формула, разработанная Международной ассоциацией аналитической химии, была утверждена как основная методика. В качестве эталона для расчета был выбран кукурузный сироп с высоким содержанием фруктозы. Данная формула разработана для определения содержания добавок сахара мёда в странах, где есть высокое потребление сахаросодержащих веществ, произведенных из кукурузы.

В нашей стране сиропы, полученные из кукурузы, не так популярны, поскольку сахар обычно производят из сахарной свёклы и в малой степени из тростникового сахара-сырца. В предыдущей работе было предложено заменить значения показателей отношений изотопов углерода для кукурузного сиропа на значение для тростникового сахара (сиропов) в формуле [19] (1):

$$\text{С4 сахара} = \left(\frac{\delta^{13}\text{C}_\sigma - \delta^{13}\text{C}_\text{м}}{\delta^{13}\text{C}_\sigma - (-12)} \right) \times 100 \quad (2)$$

где $\delta^{13}\text{C}_\text{м}$ – значение $\delta^{13}\text{C}$ для мёда (брутто); $\delta^{13}\text{C}_\sigma$ – значение $\delta^{13}\text{C}$ для белковой части мёда; (-12) – среднее значение $\delta^{13}\text{C}$ для сиропа из тростникового сахара.

На основании результатов нашей статьи можно сделать вывод, что внесение всего лишь 6 % инвертного тростникового сиропа в мёд приводит к разнице в значениях $\delta^{13}\text{C}$ между мёдом (в целом) и его белковой фракцией в диапазоне 0,9–1 ‰ [19].

В ходе исследования было отобрано 36 образцов мёда разных сортов и географического происхождения. Были изучены показатели изотопных отношений углерода $\delta^{13}\text{C}$ в мёде (брутто) и показатели $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ в белковой части (фракции) мёда.

Для анализа степени добавки инвертного тростникового сиропа в образцах мёда использовалась формула (2). Итоговые значения показателей $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ представлены в таблице 1.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что значения показателя отношений изотопов углерода мёда в целом (брутто) лежат в диапазонах от $-29,17$ до $-24,0$ ‰, а значения $\delta^{13}\text{C}$ белковой части от $-29,17$ до $-24,22$ ‰.

Таблица 1. Значения показателей $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ образцов мёда

Table 1. Values of $\delta^{13}\text{C}$ and nitrogen $\delta^{15}\text{N}$ in honey samples

№	Наименование образцов мёда	Год сбора	Место происхождения	$\delta^{15}\text{N}_{\text{белок}}$, ‰	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB, (брутто)}}$, ‰	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB, белок}}$, ‰	Степень добавки (содержание добавки тростникового инв. сиропа, ‰). Если менее 6 ‰, то «без добавления»
1	Мёд	2020	Алтайский край, пос. Березовка Усть-Коксинский район	8,72	-27,17	-27,25	без добавления
2	Мёд, Манука	2021	Австралия	4,89	-26,04	-26,16	без добавления
3	Мёд, весенний	2020	Дальний восток, Уссурийский район	5,69	-26,09	-26,05	без добавления

Продолжение таблицы 1.

№	Наименование образцов мёда	Год сбора	Место происхождения	$\delta^{15}\text{N}_{\text{Air}}$, ‰, белок	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰, мед (брутто)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰, белок	Степень добавки (содержание добавки тростникового инв. сиропа, %). Если менее 6 %, то «без добавления»
4	Мёд	2020	Рязанская область, Захаровский район	5,41	-27,35	-27,28	без добавления
5	Мёд	2019	Башкирия, Уфимский район, село Николаевка	7,73	-29,17	-29,17	без добавления
6	Мёд	2019	США, штат Невада	1,46	-27,30	-27,21	без добавления
7	Мёд	2020	США, штат Аризона	5,01	-26,75	-26,67	без добавления
8	Мёд	2020	Дальний восток, Хабаровск	3,78	-26,68	-26,56	без добавления
9	Мёд, липовый	2018	Дальний Восток, Уссурийский район	5,85	-25,58	-25,52	без добавления
10	Мёд, разнотравье	2019	Дальний Восток, пос. Житково	5,37	-28,08	-28,04	без добавления
11	Падевый мёд	2018	Якутия	1,94	-26,52	-26,51	без добавления
12	Мёд, диморфант	2019	Приморский край, пос. Санаторная	-0,71	-25,32	-25,60	без добавления
13	Мёд, женьшень	2020	Дальний Восток	1,54	-25,74	-25,76	без добавления
14	Мёд	2019	Дальний Восток, Леспедия, Уссурийский район	0,69	-26,20	-26,17	без добавления
15	Мёд, падевый	2018	Якутия, г. Мирный	1,97	-27,03	-27,06	без добавления
16	Мёд, разнотравье	2019	Воронеж, пос. Алое Поле	1,85	-28,81	-28,30	без добавления
17	Мёд, лесное разнотравье	2020	Дальний Восток, Уссурийск	-0,46	-26,79	-26,70	без добавления
18	Мёд, подсолнечниковый	2018	Рязанская обл.	3,10	-25,46	-25,65	без добавления
19	Мёд, кориандровый (58 % – пыльц. зерен кориандра)	2020	Краснодарский край	1,95	-25,03	-25,16	без добавления
20	Мёд, разнотравье с кориандром (23 % – пыльц. зерен кориандра)	2019	Краснодарский край	3,20	-26,60	-26,59	без добавления
21	Мёд, акациевый	2022	Краснодарский край, Александровский хутор	9,29	-24,13	-24,22	без добавления
22	Мёд, липовый	2021	Краснодарский край	6,99	-25,65	-25,68	без добавления
23	Мёд	2021	Россия	2,39	-25,86	-26,07	без добавления
24	Мёд	2021	Россия	0,37	-26,53	-26,63	без добавления
25	Мёд	2019	Чеченская республика	2,49	-24,91	-25,31	без добавления
26	Мёд	2021	Дагестан	-0,61	-27,57	-27,71	без добавления
27	Мёд, разнотравье + падевый,	2019	Якутия	-2,78	-26,53	-26,58	без добавления
28	Мёд, акациевый	2020	Краснодарский край, г. Сочи	-2,72	-24,73	-25,02	без добавления
29	Мёд, разнотравье	2019	Смоленская область, дер. Агеевщина	3,57	-26,84	-26,76	без добавления
30	Мёд	2018	Приморский край, Уссурийская область	1,96	-26,34	-26,47	без добавления
31	Мёд, разнотравье	–	Киргизия, Джумгал	2,18	-26,04	-25,98	без добавления
32	Мёд, гречишный	2020	Рязань, г. Касимов	6,21	-27,39	-27,23	без добавления
33	Мёд, липа + подсолнечник	2017	Республика Адыгея	-1,66	-25,60	-25,64	без добавления
34	Мёд, донниковый,	2020	Рязанская область, Скопинский район	4,24	-27,61	-27,21	без добавления
35	Мёд	2021	Россия	5,09	-24,01	-26,57	18
36	Мёд	2021	Россия	4,46	-27,06	-28,10	6,5

Значения показателя отношений изотопов азота белковой части (фракции) находится в диапазоне от $-2,72$ до $9,29$ ‰.

Согласно уравнению (2), 34 образца укладываются в нормы, поэтому можно сказать, что изученные образцы не были разбавлены сиропом, полученным из С3-типа растений. А образцы под номером 35 и 36, согласно полученным результатам, содержат 18 и 6,5 % экзогенных сахаров в пересчёте на тростниковый.

Значения показателя $\delta^{15}\text{N}$ в ряде образцов (№ 1, 5, 21, 22, 32) имеют высокие значения, превышающие + 6 ‰. Значения показателя $\delta^{15}\text{N}$, в образцах 12, 17, 26, 27, 28, 33 находятся в области отрицательных чисел. Информации о применении данного идентификационного показателя в научных статьях крайне мало. Из публикаций [25, 26] можно получить некоторые ответы на данный вопрос. Авторы считают, что лесные массивы и количество годовых осадков существенно влияют на значение изотопных характеристик отношений изотопов азота. Изотопные отношения азота и углерода отражают воздействие землепользования и изменений климата на популяцию пчёл. Ученые утверждают, что данные отношения могут служить показателями состояния окружающей среды в местах обитания пчёл. Ученые из Германии по значениям показателя $\delta^{15}\text{N}$ в выделенном белке из мёда сделали вывод о возможности использования метода изотопной масс-спектрометрии для выявления фальсификации маточного молочка [27]. Мёд с маточным молочком, используется и в качестве лакомства, и как лекарственное средство. Однако этот продукт имеет высокую цену, его часто подделывают или заменяют другими схожими по цвету и консистенции продуктами.

Для оценки алкогольных напитков широко применяется метод измерения соотношения стабильных изотопов углерода, водорода и кислорода в этиловом спирте исследуемого образца [13–17]. В силу того, что методы анализа изотопных соотношений углерода (брутто), углерода и азота белковой составляющей мёда не всегда дают полную информацию о добавлении растительных сахаров С3-типа, было решено использовать анализ изотопных соотношений углерода, кислорода и водорода этанола, предварительно выделенных из сброженных образцов мёда и сахаросодержащих веществ. За основу данного метода был взят патент (RU2809285C1) по определению экзогенных сахаросодержащих веществ в пчелином мёде на основе анализа изотопных характеристик углерода, водорода и кислорода в этиловом спирте ферментированных образцов. Данные результаты представлены в таблице 2.

Полученные данные 41 образцов выявили, что значения показателя отношений изотопов углерода в этиловом спирте ферментированных 36 образцов мёда лежат в диапазоне от $-28,36$ до $-22,13$ ‰, а пяти образцов сахаросодержащих веществ в диапазоне от $-28,33$ до $-11,29$ ‰. Значения $\delta^{13}\text{C}$ выделенного этанола после ферментации сахаросодержащих до-

бавок из кукурузы и тростника лежат в диапазоне от $-11,95$ до $-11,29$ ‰. Внесение таких добавок в мёд приведет к существенному изменению значений в сторону большего содержания «тяжёлого» изотопа ^{13}C , значение показателя $\delta^{13}\text{C}$ будет смешаться к числовым характеристикам тростникового или кукурузного сиропа, среднее значение которого составляет -11 ‰. В случае с добавлением в мёд свекловичного сахара, свекловичной мелассы или рисового сиропа, установить присутствие таких добавок с использованием значений $\delta^{13}\text{C}$ не представляется возможным, так как диапазон значения $\delta^{13}\text{C}$ совпадает со значениями соответствующего показателя натурального мёда (брутто).

Значения показателя отношений изотопов кислорода в этиловом спирте, выделенного из исследуемых образцов мёда, лежат в диапазоне от $3,48$ до $15,33$ ‰. В тоже время, значения показателя отношений изотопов кислорода этилового спирта, выделенного из ферментированных образцов мёда (за исключением образцов № 16, 27 и 29) укладываются в диапазон от 7 до $15,5$ ‰. Значения показателя $\delta^{18}\text{O}$ этанола, выделенного из ферментированных сахаросодержащих веществ (сахар свекловичный, меласса свекловичная, рисовый сироп), не попадают в указанный диапазон. Сахара свекловичного происхождения характеризуются высоким содержанием «лёгкого» изотопа ^{16}O , а в случае рисового сиропа, значения смешаются в сторону уменьшения «лёгкого» изотопа ^{16}O . Соответственно, показатель $\delta^{18}\text{O}$ может выступать в качестве идентификационного критерия при установлении присутствия свекловичных сахаров или рисовых сиропов в мёде.

Значения показателя отношений изотопов водорода в этиловом спирте, выделенного из исследуемых образцов мёда, лежат в диапазоне от $-308,1$ до $-259,98$ ‰. Значения показателя $\delta^2\text{H}$ этилового спирта, выделенного из продуктов брожения свекловичного сахара, мелассы, рисового сиропа, кукурузного сиропа и сиропа из тростникового сахара (№ 37–41), лежат в диапазоне от $-283,64$ до $-220,31$ ‰. Стоит отметить, что большая часть исследуемых образцов мёда намного «легче» по изотопным характеристикам водорода по сравнению с кукурузным и тростниковым сиропом, диапазон значений которых составляет от $-226,7$ до $-220,31$ ‰. Внесение таких добавок в мёд приведет к изменению значений $\delta^2\text{H}$ в сторону более «тяжёлых» значений, что может позволить выявить присутствие экзогенных сахаров такого типа в продукте.

Следует отметить, что анализ этилового спирта в ферментированных образцах мёда и сахаросодержащих веществ, согласно разработанному нами патенту, может быть более точным и быстрым методом, чем анализ образцов мёда с твердофазным автосамплером, с последующей инкапсуляцией. Перенастройка оборудования для анализа твердых образцов требует значительного времени, поэтому данный способ полезен и применим, когда оборудование настроено для анализа жидких проб. В рамках данного патента начата раз-

Таблица 2. Значения показателя $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^2\text{H}$ в этиловом спирте ферментированных проб меда и сахаросодержащих веществ

Table 2. Values of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$, and $\delta^2\text{H}$ in ethyl of fermented samples of honey and sugar syrups

№	Наименование образца с последующей ферментацией	Год сбора	Место происхождения	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$, ‰	$\delta^2\text{H}_{\text{VSMOW}}$, ‰
1	Мёд	2020	Алтайский край, пос. Березовка Усть-Коксинский район	-26,89	7,83	-278,06
2	Мёд, Манука	2021	Австралия	-26,34	14,57	-269,21
3	Мёд, весенний	2020	Дальний восток, Уссурийский район	-25,18	11,83	-278,08
4	Мёд	2020	Рязанская область, Захаровский р-н	-27,88	9,69	-287,86
5	Мёд	2019	Башкирия, Уфимский район, село Николаевка	-28,36	7,28	-297,88
6	Мёд	2019	США, штат Невада	-26,69	8,07	-263,73
7	Мёд	2020	США, штат Аризона	-25,74	15,33	-261,2
8	Мёд	2020	Дальний восток, Хабаровск	-26,03	11,7	-278,98
9	Мёд, липовый	2018	Дальний Восток, Уссурийский район	-24,85	14,37	-276,76
10	Мёд, разнотравье	2019	Дальний Восток, пос. Житково	-26,94	13,05	-290,59
11	Падевый мёд	2018	Якутия	-26,01	13,63	-308,1
12	Мёд, деморфант	2019	Приморский край, пос. Санаторная	-24,52	10,24	-268,37
13	Мёд, женьшень	2020	Дальний Восток	-24,99	14,56	-275,82
14	Мёд	2019	Дальний Восток, Леспедечия, Уссурийский район	-25,46	9,33	-280,3
15	Мёд, падевый	2018	Якутия, г. Мирный	-26,23	7,89	-281,73
16	Мёд, разнотравье	2019	Воронеж, пос. Алое Поле	-28,17	3,48	-272,98
17	Мёд, лесное разнотравье	2020	Дальний Восток, Уссурийск	-26,53	12,57	-288,33
18	Мёд, подсолнечниковый	2018	Рязанская обл.	-24,66	12	-292,7
19	Мёд, кориандровый (58 % – пыльц.зерен кориандра)	2020	Краснодарский край	-22,05	9,81	-283,01
20	Мёд, разнотравье с кориандром (23 % – пыльц.зерен кориандра)	2019	Краснодарский край	-24,97	11,18	-298,72
21	Мёд, акациевый	2022	Краснодарский край, Александровский хутор	-22,59	10,26	-261,68
22	Мёд, липовый	2021	Краснодарский край	-24,22	13,3	-278,35
23	Мёд	2021	Россия	-24,18	10,55	-272,92
24	Мёд	2021	Россия	-23,63	13,55	-264,08
25	Мёд	2019	Чеченская республика, Грозный	-22,4	8,02	-270,91
26	Мёд	2021	Дагестан	-25,78	8,13	-283,07
27	Мёд, разнотравье + падевый,	2019	Якутия	-24,29	4,96	-289,52
28	Мёд, акациевый	2020	Краснодарский край, г. Сочи	-22,13	11,35	-259,98
29	Мёд, разнотравье	2019	Смоленская область, дер. Агеевщина	-25,9	6,25	-286,17
30	Мёд	2018	Приморский край, Уссурийская обл.	-25,92	9,86	-277,71
31	Мёд, разнотравье	–	Киргизия, Джумгал	-25,83	11,07	-279,98
32	Мёд, гречишный	2020	Рязань, г. Касимов	-26,63	9,59	-281,96
33	Мёд, липа + подсолнечник	2017	Республика Адыгея	-25,27	13,18	-274,32
34	Мёд, донниковый	2020	Рязанская область, Скопинский район	-26,87	12,5	-287,98
35	Мёд	2021	Россия	-23,87	10,03	-287,62
36	Мёд	2021	Россия	-25,32	10,47	-286,73
37	Сахар свекловичный (кат. ТС2)	2020	Россия	-26,47	6,23	-270,8
38	Меласса свекловичная	2015	Россия	-26,46	3,76	-283,64
39	Рисовый сироп	2021	Европа	-28,33	15,8	-262,01
40	Кукурузный сироп	2017	Европа	-11,29	12,55	-226,7
41	Сироп из тростникового сахара	2021	Европа	-11,95	8,65	-220,31

работка методики измерений, отсутствующая на территории Российской Федерации. Внедрение данной методики с применением масс-спектрометрии позволит выявлять более сложные фальсификаты, изготовленные из сиропов имитирующих профиль сахаров мёда:

Поскольку некоторые сорта мёда из экологически чистых районов страны с защищенным географическим наименованием считаются более ценными, в будущем планируется использовать метод изотопной масс-спектрометрии для определения места происхождения мёда. Наиболее перспективными показателями являются изотопные характеристики кислорода и водорода мёда (брутто), а также качественный и количественный состав микро- и макроэлементов [28, 29].

Выводы

Проведенные исследования показали, что использование метода изотопной масс-спектрометрии позволяет выявить образцы мёда, содержащие в своем составе экзогенные сахара. На основании методики АОАС 998.12, в 2 образцах мёда из 36 было выявлено присутствие экзогенных сахаров из С4-типа растений в количестве 18 и 6.5 % в пересчете на тростниковый сахар. Однако данный метод не позволяет выявить присутствие внесенных сахаросодержащих веществ из С3-типа растений. В связи с этим были проведены исследования значений показателей $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^2\text{H}$ этанола, выделенного из ферментированного мёда. Показали, что свекловичные сахар и меласса характеризуются более высоким содержанием «лёгкого» изотопа ^{16}O . Для рисового сиропа, значения $\delta^{18}\text{O}$ смешаются в сторону меньшего содержания «лёгкого» изотопа ^{16}O . Таким образом, показатель $\delta^{18}\text{O}$ может выступать в качестве идентификационного критерия при установлении присутствия сахаров в мёде из С3-типа растений. Данный способ выявления фальсифицированной продукции основан на полученном

патенте РФ RU2809285C1 по определению экзогенных сахаросодержащих веществ в пчелином мёде.

Изучение отношений изотопов азота в белковой части мёда может быть полезным инструментом для определения его подлинности и дополнительным критерием идентификации пчеловодческой продукции. Стоит отметить, что, если в пробе мёда не выделяется белок в процессе ее подготовки, это может свидетельствовать о достаточно грубой фальсификации, так как в натуральном мёде всегда присутствует белковая составляющая.

Критерии авторства

Л. А. Оганесянц – идея и научное руководство. А. Л. Панасюк – обзор литературы. Д. А. Свиридов, О. В. Серебрякова – подготовка образцов к анализам, обработка результатов экспериментальных исследований. М. Ю. Ганин, А. А. Шилкин – подготовка текста, анализ образцов на изотопном масс-спектрометре.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

L.A. Oganesyants developed the research concept and provided scientific guidance. A.L. Panasyuk reviewed scientific publications. D.A. Sviridov and O.V. Serebryakova prepared the samples and processed the experimental research results. M.Yu. Ganin and A.A. Shilkin drafted the manuscript and performed the isotope mass spectrometry.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Khatun MA, Yoshimura J, Yoshida M, Suzuki Y, Huque R, Kelly SD, et al. Isotopic characteristics ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, and $\delta^{18}\text{O}$) of honey from Bangladesh retail markets: Investigating sugar manipulation, botanical and geographical authentication. Food Chemistry. 2024;435:137612. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137612>
2. Ždiniaková T, Lörchner C, De Rudder O, Dimitrova T, Kaklamanos G, Breidbach A, et al. EU Coordinated action to deter certain fraudulent practices in the honey sector. JRC Technical Report. 2023. <https://data.europa.eu/doi/10.2760/184511>
3. Kovalev AM. Beekeeper's Textbook: Textbook for rural vocational technical school. Moscow: Kolos; 1973. 432 p. (In Russ.). [Ковалев А. М. Учебник пчеловода: Учебник для сельского профессионального технического училища. Москва: Колос, 1973. 432 с.]
4. 70 percent of honey in Russia may be adulterated: how to recognize deception [Internet]. [cited 2024 Jan 15]. Available from: <https://www.gastronom.ru/text/nepravilnyj-med-do-70-meda-v-rossii-mozhet-okazatsya-falsificirovannym-1017587>.
5. Tosun M. Detection of adulteration in honey samples added various sugar syrups with $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio analysis method. Food Chemistry. 2013;138(2–3):1629–1632. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.068>.
6. Ajlouni S, Sujirapinyokul P. Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. Food Chemistry. 2010;119(3):1000–1005. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.057>
7. Chen C-T, Chen B-Y, Nai Y-S, et al. Novel inspection of sugar residue and origin in honey based on the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio and protein content. Journal of Food and Drug Analysis. 2019;27(1):175–183. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.08.004>

8. Kawashima H, Suto M, Suto N. Stable carbon isotope ratios for organic acids in commercial honey samples. *Food Chemistry*. 2019;289:49–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.053>
9. Cabañero AI, Recio JL, Rupérez M. Liquid Chromatography Coupled to Isotope Ratio Mass Spectrometry: A New Perspective on Honey Adulteration Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(26):9719–9727. <https://doi.org/10.1021/jf062067x>
10. Xu JZ, Liu X, Wu B, Cao YZ. A comprehensive analysis of ^{13}C isotope ratios data of authentic honey types produced in China using the EA-IRMS and LC-IRMS. *Journal Food Science Technology*. 2020;57(4):1216–1232. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04153-2>
11. Vetrova OV, Melkov VN, Simonova GV, Kalashnikova DA. Detection of honey adulterations with sugar syrups by stable isotope mass spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*. 2017;72(7):756–760. <https://doi.org/10.1134/S1061934817070152>
12. Tsagkaris AS, Koulis GA, Danezis GP, Martakos I, Dasenaki M, Georgioud CA, *et al.* Honey authenticity: analytical techniques, state of the art and challenges. *RSC Advances*. 2021;11:11273–11294. <https://doi.org/10.1039/d1ra00069a>
13. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Kharlamova LN. Determination of the carbon isotope $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in ethanol of fruit wines in order to define identification characteristics. *Food and raw materials*. 2016;4(1):141–147. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-141-147>
14. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Sviridov DA, Ganin MYu, Shilkin AA. Traditional siders and perry identification by isotope mass spectrometry. *Food Industry*. 2021;4:55–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/0235-2486-2021-4-0036>; <https://www.elibrary.ru/XLXEAU>
15. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Ganin MYu. Isotopes of Carbon, Oxygen, and Hydrogen Ethanol in Fruit Wines. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(4):717–725. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-717-725>; <https://www.elibrary.ru/TRNZXN>
16. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Sviridov DA. Geographical place of origin influence on isotope characteristics of ethanol elements and wine aquatic component. *Food industry*. 2020;(12):78–80. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10152>; <https://www.elibrary.ru/MVIQNZ>
17. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Peschanskaya VA. Application features of isotopic mass spectrometry when analyzing carbon ethanol in cognac and cognac distillates. *Winemaking and viticulture*. 2016;3:4–7. (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/0235-2486-2021-4-0036>; <https://www.elibrary.ru/WFSBFD>
18. Talibova A, Kolesnov A. Quality and safety assessment of food products by isotope mass spectrometry. *Analytics*. 2011;(1):44–48. (In Russ.). [Талибова А., Колеснов А. Оценка качества и безопасности пищевой продукции методом изотопной масс-спектрометрии // Аналитика. 2011. № 1. С. 44–48.]. <https://www.elibrary.ru/PIEIFJ>
19. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Sviridov DA, Ganin MYu, Shilkin AA. Using the isotope mass spectrometry method to detect the presence of exogenous sugars in honey. *Food Industry*. 2023;(12):105–113. (In Russ.). <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.12.12.021>; <https://www.elibrary.ru/BHHQJQ>
20. AOAC official methods of analysis. Method 998.12: C-4 plant sugars in honey, internal standard stable carbon isotope ratio method, AOAC Int. Gaithersburg MD USA. 1999;44:27–30.
21. Rogers KM, Cook JM, Krueger D, Beckmann K. Modification of AOAC *Official Method* SM 998.12 to Add Filtration and/or Centrifugation: Interlaboratory Comparison Exercis. *Journal of AOAC International*. 2013;96(3):607–614. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.12-386>
22. Bocian A, Buczkowicz J, Jaromin M, Hus KK, Legáth J. An Effective Method of Isolating Honey Proteins. *Molecules*. 2019;24(13):2399. <https://doi.org/10.3390/molecules24132399>
23. White JW, Doner LW. The $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio in honey. *Journal of Apicultural Research*. 1978;17:94–99. <https://doi.org/10.1080/00218839.1978.11099910>
24. Trifkovic J, Andric F, Ristivojevic P, Guzelmeric E, Yestilada E. Analytical Methods in Tracing Honey Authenticity. *Journal of AOAC in International*. 2017;100(4):827–839. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0142>
25. Kalashnikova DA, Simonova GV. Ratios of stable isotopes $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in samples of dead honey bees and beekeeping products. *Journal of Analytical Chemistry*. 2021;76(4):359–368. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S004445022104006X>; <https://www.elibrary.ru/JHBSUQ>
26. Taki H, Ikeda H, Nagamitsu T, Yasuda M, Sugiura S, Maeto K, *et al.* Stable nitrogen and carbon isotope ratios in wild native honeybees: the influence of land use and climate. *Biodivers Conserv*. 2017;26:3157–3166 <https://doi.org/10.1007/s10531-016-1114-x>
27. Stocker A, Rossmann A, Kettrup A, Bengsch E. Detection of royal jelly adulteration using carbon and nitrogen stable isotope ratio analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2005;20(2):181–184. <https://doi.org/10.1002/rcm.2287>
28. Dinca O-R, Ionete RE, Popescu R, Costinel D, Radu G-L. Geographical and Botanical Origin Discrimination of Romanian Honey Using Complex Stable Isotope Data and Chemometrics. *Food Analytical Methods*. 2015;8:401–412. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9903-x>
29. Izol E, Kaya E, Karahan D. Investigation of Some Metals in Honey Samples Produced in Different Regions of Bingöl Province by ICP-MS. *Mellifera*. 2021;21:1–17.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2526>
<https://elibrary.ru/LFIBYF>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Биохимический, минеральный и витаминный состав семян льна масличного белорусской селекции



В. Г. Лобанов¹, Ю. Ф. Росляков^{1,*}, М. Е. Маслинская²,
И. М. Почицкая³, Н. В. Комарова³

¹ Кубанский государственный технологический университет^{ROR}, Краснодар, Россия

² Республиканское научное дочернее унитарное предприятие «Институт льна», Устье, Беларусь

³ Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию, Минск, Беларусь

Поступила в редакцию: 20.02.2024

Принята после рецензирования: 26.04.2024

Принята к публикации: 07.05.2024

*Ю. Ф. Росляков: lizaveta_ros@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-1431-4804>

В. Г. Лобанов: <https://orcid.org/0000-0003-2838-3253>

М. Е. Маслинская: <https://orcid.org/0000-0001-8960-6460>

И. М. Почицкая: <https://orcid.org/0000-0001-5347-6676>

Н. В. Комарова: <https://orcid.org/0000-0002-8281-7975>

© В. Г. Лобанов, Ю. Ф. Росляков, М. Е. Маслинская,
И. М. Почицкая, Н. В. Комарова, 2024



Аннотация.

Семена льна масличного являются перспективными источниками биологически ценных веществ, незаменимых аминокислот, пищевых волокон, витаминов, антиоксидантов, эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот. Целью исследования является изучение биохимического, минерального и витаминного состава семян льна масличного сортов белорусской селекции для выявления наиболее пригодных в качестве компонентов при создании продуктов питания функционального назначения.

Объекты исследования – семена 10 сортов льна масличного (Илим, Опус, Брестский, Салют, Фокус, Альянс, Дар, Визирь, Славянин, Бонус). В 2020–2021 гг. авторами были заложены полевые опыты в РУП «Институт льна» (аг. Устье, Республика Беларусь) согласно общепринятой методике на делянках площадью 1 м² в трехкратной повторности. Для определения содержания микронутриентов в семенах применяли стандартные и общепринятые методы.

Установлено, что семена льна масличного могут служить источником растительного жира (до 44,8 %), белка (до 25,1 %) и клетчатки (до 26,0 %). Максимальное содержание α -линоленовой кислоты отмечено у сортов Салют (63,0 %), Визирь (61,4 %) и Бонус (61,8 %). Анализ минерального состава семян льна показал, что среднее содержание в них калия составило 7500,0–10625,0 мг/кг, фосфора 5700,0–7522,5 мг/кг, магния 2300,0–2605,0 мг/кг, кальция 1200,0–1922,5 мг/кг, железа 45,0–56,0 мг/кг, натрия 124,5–190,0 мг/кг соответственно. По максимальному содержанию витамина В₁ выделены сорта Салют (0,91 мг/100г) и Брестский (1,08 мг/100 г), витамина В₂ – Дар (0,058 мг/100 г), Илим (0,057 мг/100 г), Брестский (0,056 мг/100 г), витамина Е (токоферола) Салют (12,6 мг/100 г), Дар (12,07 мг/100 г) и Опус (12,35 мг/100 г). Хранение молотых семян при комнатных условиях для получения качественной пищевой муки из семян льна не допустимо из-за увеличения кислотного числа на 64–73 %.

Проведённые исследования подтверждают высокую биологическую ценность льна масличного и возможность его использования в качестве высокоактивного функционального ингредиента при создании новых видов продуктов питания.

Ключевые слова. Лён масличный, вегетационный период, биохимический состав, микронутриенты, витамины, микроэлементы, антиоксиданты, клетчатка, белок, вариабельность

Финансирование. Работа выполнена в рамках НИР 4 «Обоснование использования семян сортов льна масличного белорусской селекции для создания продуктов функционального назначения» задания 5.4 «Исследование и установление механизмов повышения качества, потребительской ценности и конкурентоспособности пищевых продуктов для различных категорий потребителей, разработка стратегии, направленной на совершенствование конкурентоустойчивости перерабатывающих отраслей пищевой промышленности» Государственной программы научных исследований «Сельскохозяйственные технологии и продовольственная безопасность» на 2021–2025 годы» за счет средств республиканского бюджета.

Для цитирования: Биохимический, минеральный и витаминный состав семян льна масличного белорусской селекции / В. Г. Лобанов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 532–545. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2526>

Biochemical, Mineral, and Vitamin Composition of Belarusian Linseed Cultivars



Vladimir G. Lobanov¹, Yuri F. Roslyakov^{1,*},
Margarita E. Maslinskaya², Irina M. Pochitskaya³,
Natalia V. Komarova³

¹ Kuban State Technological University^{ROR}, Krasnodar, Russia

² Institute of Flax, Ustye, Belarus

³ Applied Research Center, Belarus National Academy of Food Sciences, Minsk, Belarus

Received: 20.02.2024
Revised: 26.04.2024
Accepted: 07.05.2024

*Yuri F. Roslyakov: lizaveta_ros@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-1431-4804>
Vladimir G. Lobanov: <https://orcid.org/0000-0003-2838-3253>
Margarita E. Maslinskaya: <https://orcid.org/0000-0001-8960-6460>
Irina M. Pochitskaya: <https://orcid.org/0000-0001-5347-6676>
Natalia V. Komarova: <https://orcid.org/0000-0002-8281-7975>

© V.G. Lobanov, Y.F. Roslyakov, M.E. Maslinskaya, I.M. Pochitskaya,
N.V. Komarova, 2024



Abstract.

Linseeds are a promising source of biologically valuable substances, essential amino acids, dietary fiber, vitamins, antioxidants, and essential polyunsaturated fatty acids. The article describes the biochemical, mineral, and vitamin composition of Belarusian flax varieties. The research objective was to select cultivars for functional food production.

The study featured ten linseed cultivars, i.e., Ilim, Opus, Brestskiy, Salut, Fokus, Allyans, Dar, Vizir, Slavyanin, and Bonus. In 2020–2021, the authors planted plots of 1 m² in triplicate for each cultivar. The experimental field belonged to the Institute of Flax, Ustye, Republic of Belarus. The study followed standard methods to determine the content of micronutrients.

All flax varieties proved to be a reliable source of vegetable fat (≤44.8%), protein (≤25.1%), and fiber (≤26.0%). The maximal content of α -linolenic acid belonged to Salut (63.0%), Vizir (61.4%), and Bonus (61.8%). The average mineral content was as follows: 7,500.0–10,625.0 mg/kg potassium, 5,700.0–7,522.5 mg/kg phosphorus, 2,300.0–2,605.0 mg/kg magnesium, 1,200.0–1,922.5 mg/kg calcium, 45.0–56.0 mg/kg iron, and 124.5–190.0 mg/kg sodium. The maximal content of vitamin B₁ was registered in the samples of Salut (0.91 mg/100 g) and Brestskiy (1.08 mg/100 g); the maximal content of vitamin B₂ belonged to the samples of Dar (0.058 mg/100 g), Ilim (0.057 mg/100 g), and Brestskiy (0.056 mg/100 g); the maximal content of vitamin E (tocopherol) was found in the samples of Salut (12.6 mg/100 g), Dar (12.07 mg/100 g), and Opus (12.35 mg/100 g). The linseeds were not suitable for high-quality food flour production after room temperature storage because the acid number increased by 64–73%.

The excellent biological value of Belarusian flax cultivars demonstrated good prospects as highly active functional ingredients in new functional foods.

Keywords. Linseed, cultivars, growing season, biochemical composition, micronutrients, vitamins, microelements, antioxidants, fiber, protein, variability

Funding. The study was part of the state-funded Scientific Research Program of Agricultural Technologies and Food Security for 2021–2025, Project 4: Linseeds of Belarusian selection in functional products; Task 5.4: Improving the quality, consumer value, and competitiveness of food products for various categories of consumers to raise the competitiveness of the food industry.

For citation: Lobanov VG, Roslyakov YuF, Maslinskaya ME, Pochitskaya IM, Komarova NV. Biochemical, Mineral, and Vitamin Composition of Belarusian Linseed Cultivars. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):532–545. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2526>

Введение

Значительная роль в жизни человека отводится здоровому питанию. В настоящее время во всем мире растет интерес к продуктам на растительной основе,

в связи с этим семена льна масличного и продукты его переработки становятся привлекательным пищевым сырьем [1–3]. Они содержат примерно 40 % липидов, 30 % пищевых волокон и 20 % белка. Химический

состав их значительно различается у разных сортов, а также зависит от условий окружающей среды, в которых выращивается растение. Семена льна являются источниками биологически ценных веществ, таких как незаменимые аминокислоты, пищевые волокна, витамины, антиоксиданты, эссенциальные полиненасыщенные жирные кислоты [4–7]. Льняное масло составляет примерно 30–48 % от массы семени и состоит из триглицеридов (природных органических соединений, полных сложных эфиров глицерина и одноосновных жирных кислот) и смеси жирных кислот. Уникальность состава льняного масла обусловлена высоким содержанием в нем незаменимых жирных кислот – полиненасыщенной альфа-линоленовой кислоты (ω -3) и линолевой кислоты (ω -6) и низким содержанием насыщенных жирных кислот [8, 9]. Протеины в семенах льна являются вторым компонентом после липидов по содержанию (18–25 %), что позволяет считать это сырье перспективным для получения разнообразных белковых продуктов. Известно, что содержание белка в семенах льна определяется сортом, а также зависит от региона и года выращивания [10, 11].

Для организма человека жизненно необходимыми являются микронутриенты: витамины и минеральные вещества. Микронутриенты относятся к незаменимым пищевым веществам. Они необходимы для нормального осуществления обмена веществ, роста и развития организма, защиты от болезней и вредных факторов внешней среды, надежного обеспечения всех жизненных функций и должны поступать в организм регулярно, в полном наборе и количествах, соответствующих физиологической потребности человека [12]. Анализ структуры питания населения нашей страны за последние годы свидетельствует о тенденции неуклонного снижения потребления белка животного происхождения, что обусловлено высокой себестоимостью продуктов животноводства в сравнении с продукцией растениеводства [13]. По оценкам специалистов количество продукции с семенами льна может составить от 10 до 20 % от общего объема хлебобулочных изделий [14, 15]. По составу витаминов и минералов семена льна близки к зерновым культурам [16]. Ценность извлекаемых из льна биологически активных веществ может достигать 80 000 долларов США на 1 тонну перерабатываемого льняного сырья [14–18]. Анализ практического использования семян льна в пищевой промышленности выявил, что функционально-технологические свойства пищевых ингредиентов семян льна позволяют улучшить технологические и органолептические свойства пищевых продуктов, повысить их пищевую ценность [19–23].

Семена льна оказывают положительное воздействие на профилактику сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета, обладают антибактериальным и антиоксидантным действием и т. д. Содержащиеся в семенах льна полисахариды (кроме крахмала), благодаря своим антигиперхолестеринемическим, антиканце-

рогенным и контролирующим метаболизм глюкозы эффектам могут предотвратить или снизить риск различных важных заболеваний, таких как сахарный диабет II типа, волчаночный нефрит, атеросклероз и гормонозависимые онкологические заболевания. Отмечалось значительное снижение липидного профиля, общего холестерина и липопротеинов низкой плотности в крови и антропометрических показателей (окружность талии и соотношение талии к бедрам) в группе пациентов, принимавших порошок льняного семени по сравнению с группой, принимавших плацебо [24].

Семена льна способствуют снижению уровня глюкозы и могут использоваться для лечения диабета II типа. Биоактивные компоненты этих семян, такие как диглюкозид секоизолярицирезинола, участвуют в лечении резистентности к инсулину или выработке инсулина. В различных исследованиях на мужчинах и женщинах с преддиабетом и ожирением, употребление определенных количеств экстрактов этих семян приводило к лучшему гликемическому контролю, что свидетельствует о том, что эти семена обладают антидиабетическими свойствами [25].

Льняное семя обладает антиоксидантным и противовоспалительным действием, способствует ускорению процессов регенерации, что обуславливает его рекомендацию при симптоматическом лечении таких аутоиммунных заболеваний, как артрит. Ежедневное употребление в течение 12 недель семян льна в количестве 30 г способствовало снижению тяжести боли, утренней скованности и ощущения болезненности и улучшению показателей инвалидности и качества жизни у пациентов с ревматоидным артритом в сравнении с группой пациентов, не принимавших его [26]. Исследования показали положительное действие измельченного льняного семени (30 г), льняного масла (10 г) на уровни маркеров воспаления в сыворотке крови, метаболические параметры и тяжесть заболевания у пациентов с язвенным колитом [27].

Известно, что семена льна обладают онкопротекторными свойствами. Они являются важным источником лигнанов, типа фитоэстрогена, который известен своими свойствами подавлять рост гормоночувствительных видов рака, таких как рак молочной железы и простаты, препятствуя воздействию эстрогена на эти ткани. Лигнаны льняного семени могут быть перспективными химиотерапевтическими/химиопрофилактическими средствами. Противоканцерогенез лигнанов семян льна достигается за счет множества молекулярных механизмов, включающих биохимические вещества, такие как клеточные киназы, медиаторы клеточного цикла, факторы транскрипции, воспалительные цитокины, активные формы кислорода и переносчики лекарств. Большое содержание ненасыщенных жирных кислот, оказывающих противовоспалительное действие, потенциально снижают риск развития рака, а также препятствуют или ограничивают пролиферацию и распространение определенных типов раковых

клеток. Белки льняного семени могут обладать антиангиогенными свойствами, препятствуя образованию новых кровеносных сосудов, необходимых для роста опухоли [28, 29].

В связи с этим актуальным является проведение комплексных исследований, направленных на анализ, выбор и отбор определенных сортов льна масличного по целевому назначению, для регулирования технологических процессов их переработки и улучшения пищевой ценности и потребительских свойств готовой продукции.

Целью работы является исследование биохимического, минерального и витаминного состава разных сортов семян льна масличного белорусской селекции, отбор сортов, пригодных в качестве компонентов для создания продуктов функционального назначения в пищевой промышленности.

Объекты и методы исследования

Исходный материал – сорта льна масличного белорусской селекции Илим, Опус, Брестский, Салют, Фокус, Альянс, Дар, Визирь, Славянин, Бонус.

Сорт Брестский. Позднеспелый, голубоцветковый сорт, содержание масла в семенах 46 %, содержание альфа – линоленовой кислоты – 56,95 %. Поражение болезнями 24,6 %. Устойчивость к полеганию 5,0 балла (по 5-ти балльной шкале). Средняя урожайность семян – 20,8 ц/га, масса 1000 семян – 6,3 г. Год районирования – 2012. *Сорт Опус*. Позднеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые. Содержание масла в семенах 44,6 %. Поражение болезнями 12,1 %. Устойчивость к полеганию 5,0 балла (по 5-ти балльной шкале). Средняя урожайность семян – 22,9 ц/га. Год районирования – 2013. *Сорт Илим*. Среднеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые. Содержание масла в семенах 47,6 %. Поражение болезнями 16,6 %. Устойчивость к полеганию 4,7 балла (по 5-ти балльной шкале). Средняя урожайность семян – 21,1 ц/га, масса 1000 семян – 6,9 г. Год районирования – 2013. *Сорт Салют*. Позднеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые, крупные. Содержание масла в семенах 50,5 %. Поражение болезнями 21,1 %. Устойчивость к полеганию 5,0 балла. Средняя урожайность семян – 18,9 ц/га. Год районирования – 2014. *Сорт Фокус*. Раннеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые, крупные. Средняя урожайность семян 22,1 ц/га, содержание масла 45,3 %. Сбор масла составил 8,5 ц/га. Год районирования – 2017. *Сорт Дар*. Среднеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые, крупные, с массой 1000 семян – 5,4–6,7 г. Максимальная урожайность 23,2 ц/га получена на Бобруйском ГСУ, содержание жира – 42,4 %, содержание α -линоленовой кислоты составило 40,1 %. Преимущество сорта – измененный жирнокислотный состав. Сорт пригоден для получения высококачественного пищевого масла и жмыха (шрота), а также масло образца подходит для использования в медицине и парфюмерии. *Сорт Альянс*. Раннеспелый, голубоцветковый сорт, семена корич-

невые. Средняя урожайность семян – 23,9 ц/га, содержание масла – 45,2 %. Сбор масла 9,50 ц/га. Год районирования – 2021. *Сорт Визирь*. Среднеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые, крупные. Средняя урожайность семян – 24,0 ц/га, содержание масла – 45,71 %. Сбор масла 9,43 ц/га. Год районирования – 2021. *Сорт Славянин*. Позднеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые, крупные. Средняя урожайность семян составила 21,6 ц/га, содержание масла 41,95 %. Сбор масла составил 10,8 ц/га. Год районирования – 2022. *Сорт Бонус*. Среднеспелый, голубоцветковый сорт, семена коричневые, крупные. Средняя урожайность семян составила 21,4 ц/га, содержание масла 43,45 %. Сбор масла составил 10,9 ц/га. Год районирования – 2022.

Для решения поставленной задачи были заложены полевые опыты в РУП «Институт льна» (аг. Устье, Республика Беларусь) согласно общепринятой методике на делянках площадью 1 м² в трехкратной повторности в 2020–2021 гг. [30, 31]. Почва опытных участков для закладки питомников в годы исследований дерново-подзолистая, среднесуглинистая, развивающаяся на лессовидном суглинке, подстилаемая с глубины 1 м моренным суглинком, предшественники – яровые зерновые. Агрохимическая характеристика почв следующая: рН (KCl) – 5,0–5,5, подвижных форм фосфора (P₂O₅) – 186–190 мг/кг почвы, калия (K₂O) – 210 мг/кг почвы; содержание органического вещества почвы – 1,6 %. Посев, уход осуществляли согласно отраслевому регламенту по возделыванию льна масличного [32]. Метеорологические условия места проведения исследований проанализированы по данным метеостанции города Орши Витебской области, Республика Беларусь [33]. Исследование биохимического состава и микронутриентного состава семян льна осуществляли в Республиканском контрольно-испытательном комплексе по качеству и безопасности продуктов питания РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию».

При проведении научно-исследовательской работы применяли стандартные методы определения показателей, в частности: содержание масла по ГОСТ 10857-64, белка – по ГОСТ 13496.4-2019, клетчатки – по ГОСТ 13496.2-91, золы – по ГОСТ 26312.5-84, суммарное содержание токоферолов – по ГОСТ EN 12822-2011, массовую долю витамина B₂ (тиамина) – по ГОСТ EN 14152-2020; массовую долю витамина B₁ (тиамина) по ГОСТ EN 14122-2020 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Метод основан на экстракции тиамин из пробы путем кислотного гидролиза, последующем ферментативном дефосфорилировании тиамин и его количественном определении с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением предварительной, либо послеколонной конверсии в тиохром. Жирнокислотный состав определяли согласно СТБ ИСО 15304-2007

методом газовой хроматографии с использованием капиллярных колонок. Данный метод разработан для определения содержания трансизомеров, образованных в процессе (высокотемпературной) очистки или в процессе гидрогенизации растительных масел или жиров, с использованием капиллярной газовой хроматографии. При анализе исследуемого образца данным методом возможно определение всех других жирных кислот (например, для получения полного состава жирных кислот и общего количества насыщенных жирных кислот, мононенасыщенных жирных кислот и полиненасыщенных жирных кислот). Содержание макро- и микроэлементов изучали методом атомной эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной аргоновой плазмой по МУК 4.1.1482-2003. Методика основана на окислительно-кислотной «мокрой» минерализации проб исследуемых семян и на последующем анализе ее на требуемые химические элементы методом атомно-эмиссионной спектроскопии с использованием в качестве источника возбуждения высокочастотной индуктивно связанной аргоновой плазмы. Сочетание высокой избирательности и последовательного по длинам волн способа измерений позволяет определять до 20–30 элементов из одной подготовленной пробы в течение 4–5 мин.

Обработку экспериментальных данных проводили с использованием программ Microsoft Excel-2016 и Statistica 2010.

Результаты и их обсуждение

Продолжительность межфазных и вегетационных периодов являются показателями того, насколько растения обеспечены необходимыми условиями для прохождения стадий развития. В 2020 г. температурный фон при проведении посева растений находился на уровне 9,1 °С, что значительно ниже нормы (на 5,4 °С), количество осадков составило 7,8 мм (39 % от нормы),

в 2021 г. данный период характеризовался повышенными температурами (на 1,8 °С выше нормы) и количеством осадков 31,9 мм (160 % от нормы). Появление всходов в 2020 г. отмечено на 7–10 сутки после проведения посева, в 2021 г. на 5–7 сутки. Высокие температуры 1–3 декад июня как в 2020, так и в 2021 г. вызвали раннее зацветание растений, массовое цветение отмечено в период с 17 по 27 июня 2020 г. и в период с 22 по 29 июня 2021 г. В июле 2020 г. зафиксированы температуры на уровне и ниже нормы, период вегетации образцов составил 83–91 суток. В июле 2021 г. установилась жаркая и засушливая погода с незначительным количеством осадков. Сложившиеся условия способствовали быстрому созреванию растений и формированию урожая, имеющего невысокие качественные характеристики. Общая продолжительность вегетационного периода у сортов льна масличного белорусской селекции составила 80–86 суток.

Анализ биохимического состава семян позволил выявить сортовые различия по содержанию в них масла и белка (табл. 1). Более высокое процентное содержание масла отмечено в семенах льна урожая 2020 г., среднее значение данного показателя составило 36,5 % при интервале варьирования 29,2–44,8 %, в 2021 г. 34,2 % и 28,1–39,6 % соответственно. Как наиболее высокомасличные в оба года исследований следует выделить сорта Салют со средним содержанием масла в семенах 39,2 % и Фокус, среднее значение изучаемого показателя у которого составило 41 %.

Для установления доли вклада генотипа (сорта), внешних условий (год) и взаимодействия между ними по показателю «содержание масла в семенах» проведен двухфакторный дисперсионный анализ, в результате которого были выявлены высокие достоверные различия между изучаемыми факторами. Полученные данные свидетельствуют о значительном влиянии на формирование изучаемого показателя генотипа

Таблица 1. Содержание масла и белка в семенах исследуемых сортов льна масличного, 2020–2021 гг.

Table 1. Oil and protein in various linseed cultivars, 2020–2021

Наименование сорта	Содержание масла, %			Содержание белка, %		
	2020 г.	2021 г.	среднее	2020 г.	2021 г.	среднее
Салют	40,1	38,3	39,2	20,1	21,0	20,5
Альянс	36,2	32,6	34,4	20,4	21,9	21,1
Фокус	44,8	37,2	41,0	19,9	22,1	21,0
Визирь	38,2	32,5	35,35	21,4	21,5	21,5
Бонус	34,6	31,4	33,0	21,2	25,1	23,2
Дар	29,2	31,4	30,3	21,7	20,2	21,0
Славянин	32,1	28,1	30,1	19,8	24,0	21,9
Брестский	–	33,3	33,3	–	22,5	22,5
Илим	–	39,6	39,6	–	22,0	22,0
Опус	–	37,9	37,9	–	22,8	22,8
НСР ₀₅	1,96	1,19		0,29	0,45	

Примечание: «–» – не определялось.

Note. (–) means no data available.

(доля фактора – 74,5 %), влияние условий выращивания составило – 14,3 %), взаимодействия между данными факторами – 10,3 % [33].

Анализ содержания белка в семенах сортов льна масличного позволил установить интервал варьирования в 2021 г. в зависимости от сорта 20,3–25,1 % при среднем значении 22,3 %. Более низкие значения отмечены в семенах урожая 2020 г. и составило 19,8–21,7 % при среднем значении 20,6 %. Максимальные значения в оба года исследований отмены у сортов Бонус (23,2 %) и Славянин (21,9 %).

В результате дисперсионного анализа установлено, что в формировании белковости семян, доля влияния генотипа на проявление изучаемого признака составляет 23,4 %, условий года возделывания 25,2 %, взаимодействия между данными факторами – 32,9 %.

В льняном масле изучаемых сортов идентифицирован состав жирных кислот и проведен его анализ (рис. 1).

Многие исследователи утверждали, что насыщенные жирные кислоты вредны для здоровья человека, но научные открытия опровергли данный факт. В рациональном количестве данные кислоты благоприятно влияют на состояние кожи и терморегуляцию организма [34].

Пальмитиновая кислота относится к длинноцепочечным насыщенным жирным кислотам. Избыток в пище кислоты формирует состояние низкой биодоступности эссенциальных полиеновых жирных кислот, и клетки перестают их активно поглощать. Данные патобиохимические процессы характерны для атеросклероза, ожирения и синдрома инсулинорезистентности [35]. В масле из семян изучаемых сортов выявлено 4,2 (сорт Салют) – 5,8 % (сорт Дар) пальмитиновой кислоты.

Стеариновая кислота – это одно из наиболее распространенных в природе веществ своего рода. Она не растворяется в воде, но зато прекрасно разбавляется диэтиловым эфиром. Процент данной кислоты в масле семян изучаемых сортов льна составляет 2,6 (сорт Салют) – 4,5 % (сорт Опус).

Бегеновая и арахидоновая кислоты обнаружены в незначительных количествах 0,1 и 0,2 % соответственно.

При оценке качества семян масличных культур большое значение имеет содержание в их составе ненасыщенных жирных кислот. В растительных маслах наиболее значимыми являются два представителя семейств полиненасыщенных жирных кислот – линолевая и линоленовая кислоты. Исследования последних лет показали, что полиненасыщенные жирные кислоты семейства омега-3 нормализуют жировой обмен, повышают пластичность кровеносных сосудов, уменьшают вязкость крови, активизируют иммунитет [36]. Дефицит полиненасыщенных жирных кислот является одним из главных нарушений в питании современного человека [37]. Полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая C18:2(ω -6), линоленовая C18:3(ω -3), арахидоновая C20:4(ω -6)) являются важным эссенциальным фактором питания: в организме они не синтезируются и поэтому должны поступать с пищей. Эти кислоты по своим биологическим свойствам относятся к жизненно необходимым веществам и обозначаются как витамин F.

Сорта урожая 2021 г. характеризовались более высоким содержанием линолевой кислоты (интервал варьирования составил 14,0–28,9 %, среднее содержание 17,6 % при значениях данного показателя в условиях 2020 г. 12,9–25,9 % и среднем содержании 15,6 % (табл. 2). Следует отметить значительное снижение содержания полиненасыщенной α -линоленовой кислоты, среднее значение данного показателя в 2020 г. составило 63,7 %, в 2021 г. – 54,9 % при варьировании значений 51,4–66,7 и 41,1–61,1 % соответственно.

Более высокое содержания олеиновой кислоты выявлено в масле семян льна урожая 2021 г.: интервал варьирования составил 16,4–21,4 %, среднее содержание – 18,2 % при значениях данного показателя в условиях 2020 г. – 11,1–13,9 % и среднем содержании 12,4 %.

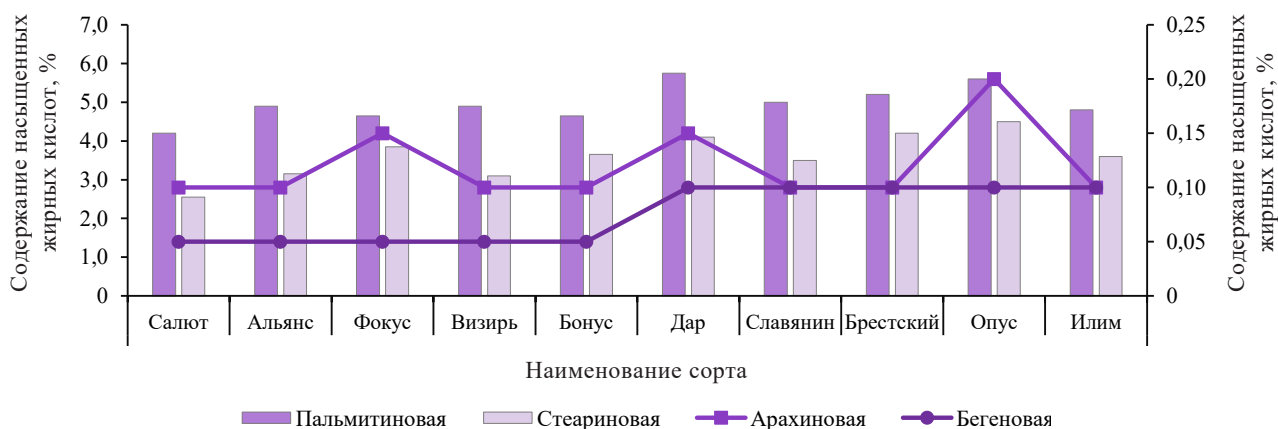


Рисунок 1. Содержание насыщенных жирных кислот в семенах исследуемых сортов льна масличного

Figure 1. Saturated fatty acids in various linseed cultivars

Таблица 2. Содержание полиненасыщенных жирных кислот в семенах льна масличного разных сортов, %

Table 2. Polyunsaturated fatty acids in various linseed cultivars, %

Наименование жирной кислоты	Год исследований	Наименование сорта									
		Салют	Альянс	Фокус	Визирь	Бонус	Дар	Славянин	Брестский	Опус	Илим
Линолевая (ω -6)	2021	14,3	14,6	14	14,2	13,5	25,9	12,9	–	–	–
	2022	15,2	18	17	16,9	15,2	28,9	18,2	14,0	16,6	15,4
	среднее	14,8	16,3	15,5	15,6	14,4	27,4	15,6	14,0	16,6	15,4
α -линоленовая (ω -3)	2021	64,8	63,7	66,1	66,4	66,7	51,4	66,6	–	–	–
	2022	61,1	53,5	55,9	56,4	56,8	41,1	50,7	59,7	55,9	57,4
	среднее	63,0	58,6	61,0	61,4	61,8	46,3	58,7	59,7	55,9	57,4
Олеиновая	2021	13,2	13,9	11,8	11,1	11,8	12,9	12,2	–	–	–
	2022	17,1	19,3	17,3	18,2	18,4	19,0	21,4	16,4	16,6	18,3
	среднее	15,2	16,6	14,6	14,7	15,1	16,0	16,8	16,4	16,6	18,3

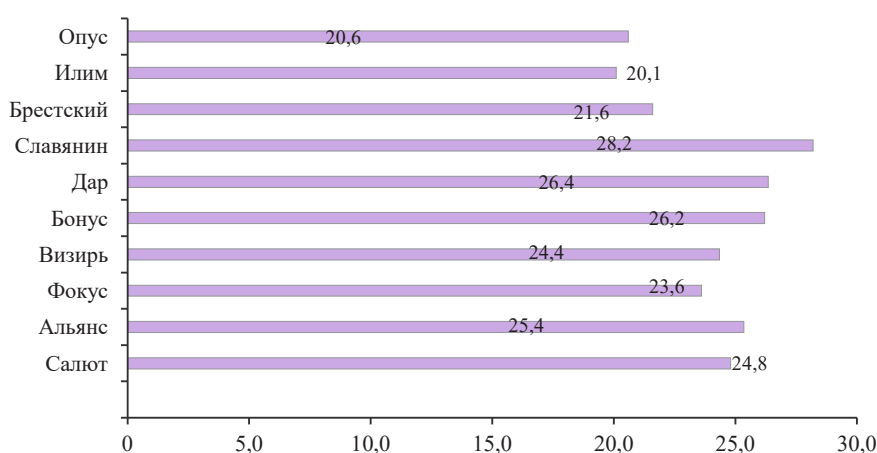


Рисунок 2. Среднее содержание клетчатки в семенах разных сортов льна масличного, % (среднее, 2020–2021 гг.)

Figure 2. Average fiber content in various linseed cultivars in 2020–2021, % mean value

Проведен двухфакторный дисперсионный анализ с целью установления влияния метеорологических условий и сортовых особенностей на накопление основных жирных кислот: α -линоленовой, линолевой и олеиновой. Установлено значительное влияние как генотипа (доля фактора – 49,8 %), так и условий исследований (доля фактора – 44,9 %) на накопление α -линоленовой кислоты, при взаимодействии данных факторов было незначительным (доля фактора – 4,8 %). Накопление линоленовой кислоты обусловлено в значительной мере сортовыми особенностями, доля влияния фактора составила – 87,4 %, при незначительном влиянии года и взаимодействия изучаемых факторов, доля влияния – 9,8 и 2,0 % соответственно. Значительное влияние условий года установлено на накопление олеиновой кислоты (доля фактора – 86,8 %) при незначительном влиянии других изученных факторов: сорта – 6,3 %, года – 5,0 %.

Клетчатка представляет собой оболочки клеток и состоит из полисахаридов, крахмала и нерастворимых полимеров фенольного ряда и лигнинов [38].

В семенах исследуемых сортов содержание данного компонента различалось в зависимости от года исследований (рис. 2). Отмечено более высокое содержание клетчатки с семян урожая 2020 г. – 29,0 % при интервале варьирования 24,8 (Сорт Фокус) – 33,3 % (сорт Славянин). В 2021 г. процентное содержание составило 20,1 (сорт Илим) – 23,1 % (сорт Славянин) при среднем значении 21,7 %.

Сырая зола участвует практически во всех основных процессах жизнедеятельности организма, от минерализации костей и водного баланса до метаболизма мышц, нервной активности и в работе ферментов [39]. Более высокое содержание золы в семенах сортов льна масличного урожая 2020 г. – среднее значение в процентах составило 4,0 % при средней величине данного показателя в 2021 г. – 3,4 % (табл. 3).

Данные минерального состава сортов льна масличного показывают, что основными макроэлементами являются калий, фосфор, магний и кальций (табл. 4). Калий – внутриклеточный элемент, который регулирует кислотно-щелочное равновесие крови.

Таблица 3. Содержание золы в семенах исследуемых сортов льна масличного, % (2020–2021 гг.)

Table 3. Ash content in various linseed cultivars in 2020–2021, %

Год исследований	Наименование сорта									
	Салют	Альянс	Фокус	Визирь	Бонус	Дар	Славянин	Брестский	Илим	Опус
2020	3,92	4,16	3,91	3,91	3,81	4,02	4,02	–	–	–
2021	3,43	3,58	3,36	3,41	3,67	3,22	3,37	3,43	3,27	3,18
среднее	3,68	3,87	3,64	3,66	3,74	3,62	3,70	3,43	3,27	3,18

Таблица 4. Минеральный состав семян льна масличного разных сортов, 2020–2021 гг.

Table 4. Mineral content in various linseed cultivars in 2020–2021, mg/kg

Наименование сорта	Минеральный состав, мг/кг											
	Кальций			Магний			Фосфор			Калий		
	2020	2021	Среднее	2020	2021	Среднее	2020	2021	Среднее	2020	2021	Среднее
Салют	2055,0	1500,0	1777,5	2810,0	2400,0	2605,0	8335,0	6000,0	7167,5	10000,0	7900,0	8950,0
Альянс	2125,0	1300,0	1712,5	2750,0	2200,0	2475,0	9045,0	6000,0	7522,5	11250,0	10000,0	10625,0
Фокус	2345,0	1500,0	1922,5	2725,0	2300,0	2512,5	8265,0	5700,0	6982,5	10200,0	7400,0	8800,0
Визирь	1995,0	1400,0	1697,5	2680,0	2300,0	2490,0	7945,0	6200,0	7072,5	11200,0	8200,0	9700,0
Бонус	1800,0	1500,0	1650,0	2590,0	2200,0	2395,0	6935,0	4700,0	5817,5	10600,0	6800,0	8700,0
Дар	1975,0	1500,0	1737,5	2605,0	2300,0	2452,5	7030,0	5900,0	6465,0	10835,0	8600,0	9717,5
Славянин	1790,0	1200,0	1495,0	2645,0	2200,0	2422,5	7185,0	4500,0	5842,5	11500,0	8600,0	10050,0
Брестский	–	1800,0	1800,0	–	2500,0	2500,0	–	6600,0	6600,0	–	8500,0	8500,0
Илим	–	1200,0	1200,0	–	2300,0	2300,0	–	5700,0	5700,0	–	7500,0	7500,0
Опус	–	1900,0	1900,0	–	2400,0	2400,0	–	6400,0	6400,0	–	8500,0	8500,0
НСР ₀₅	72,6	72,7		30,3	31,5		300,4	215,0		212,3	277,3	

Примечание: «–» – нет данных.

Note. (–) means no data available.

Содержание данного компонента в семенах урожая 2020 г. составило 10000,0 (сорт Салют) – 11500,0 (сорт Славянин) мг/кг, в семенах урожая 2021 г. количество его было ниже, значения варьировали в пределах 7400 (сорт Фокус)–10000,0 (сорт Салют) мг/кг. Максимальное содержание в оба года исследований отмечено у сорта Альянс.

Кальций составляет основу костной ткани, а также активизирует жизнедеятельность ряда важных ферментов. Содержание его в семенах в 2020 году варьировало в пределах 1790,0–2345,0 мг/кг при среднем значении 2012,0 мг/кг, в 2021 г. – 1200,0–1900,0 мг/кг при среднем значении 1480,0 мг/кг. Наиболее высокое содержание данного компонента отмечено у сортов Фокус, Брестский, Опус.

Магний – элемент, участвующий в формировании костей, регуляции работы нервной ткани, обмене углеводов, а также энергетическом обмене. Содержание данного компонента у сортов льна масличного составило 2590,0–2810,0 мг/кг в 2020 г., 2200,0–2500,0 мг/кг в 2021 г. Максимальные значения в оба года исследований зафиксированы у сортов Фокус и Салют.

Фосфор – элемент, входящий в состав белков, фосфолипидов, нуклеиновых кислот. Содержание фосфора в семенах урожая 2020 г. составило 6935,0–9035,0 мг/кг,

урожае 2021 г. – 4500–6600 мг/кг, выделены сорта Салют и Альянс. У белорусских сортов содержание калия в 2020 г. изменялось в пределах 10000,0–11500,0 мг/кг, в 2021 г. – 6800,0–10000,0 мг/кг. У сортов Альянс и Славянин отмечены максимальные значения в оба года исследований.

Определено содержание железа и натрия в семенах (рис. 3). Железо является элементом, участвующим в образовании гемоглобина крови и некоторых ферментов. В условиях 2020 г. количество железа составило 48–67 мг/кг, 2021 г. 43–54 мг/кг, выделены сорта Салют и Альянс.

Натрий – один из важнейших микроэлементов, необходимый для нормального функционирования организма. Он играет существенную роль в регуляции водного и кислотно-щелочного баланса, а также в работе нервной и мышечной систем. Более высокое содержание натрия отмечено в семенах льна урожая 2021 г. – 140–210 мг/кг при соответствующих значениях, в 2020 г. – 99–141 мг/кг. По количеству данного компонента в оба года исследований выделены сорта Альянс и Славянин.

Марганец защищает стенки артерий, делая их устойчивыми к образованию атеросклеротических бляшек. Он жизненно важен для функции мозга, для образо-

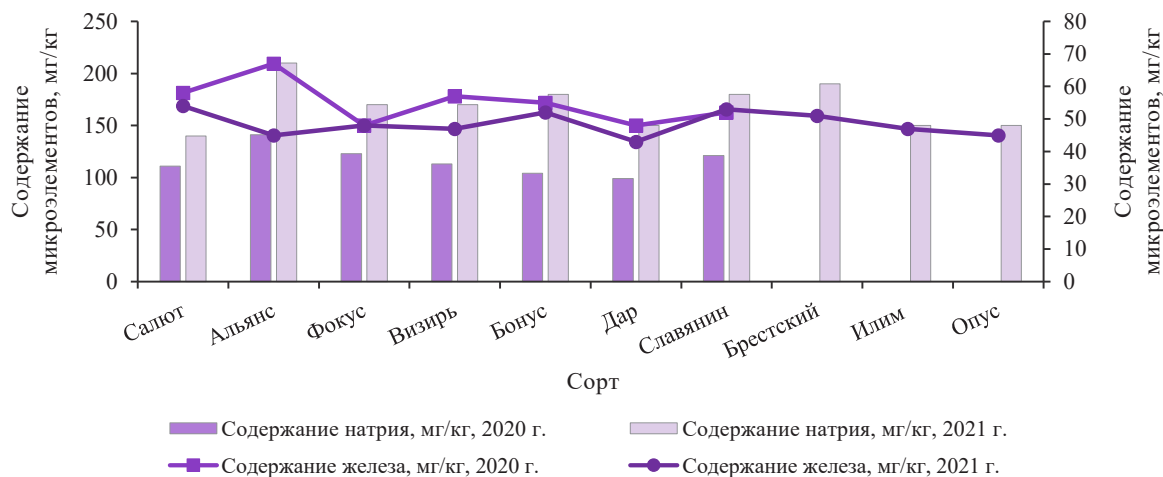


Рисунок 3. Содержание железа и натрия в семенах льна масличного разных сортов, 2020–2021 гг.

Figure 3. Iron and potassium in various linseed cultivars in 2020-2021, mg/kg

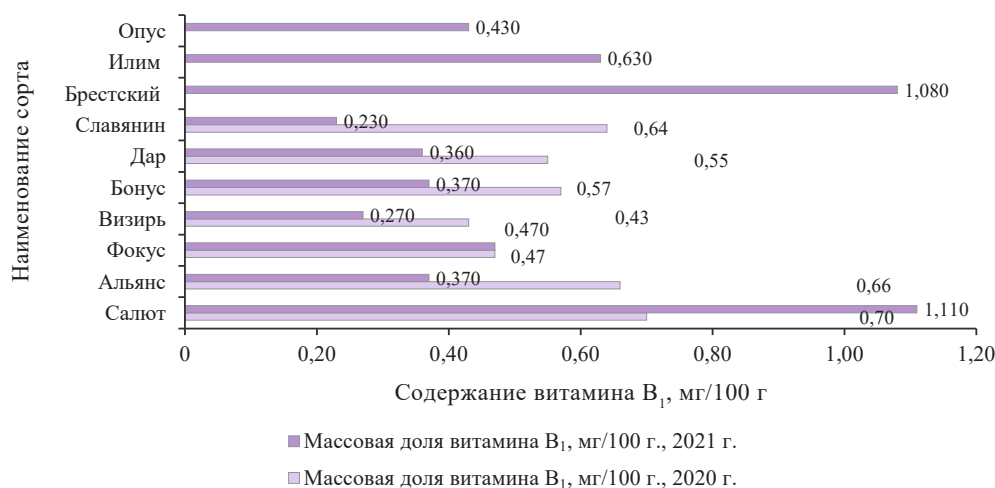


Рисунок 4. Содержание витамина B₁ в семенах льна масличного разных сортов, 2020–2021 гг.

Figure 4. Vitamin B₁ in various linseed cultivars in 2020–2021, mg/100g

вания кожного пигмента, входит в состав белков и ферментов. Обладает выраженной антиоксидантной активностью. Содержание марганца в семенах сортов изменялось в пределах 18–37 мг/кг, максимальное количество отмечено у сортов Бонус (35 мг/кг) и Дар (37 мг/кг).

Медь является жизненно важным микроэлементом, играющим существенную роль в синтезе гемоглобина и активации ферментов дыхательной цепи. Он входит в состав костей, хрящевой и соединительной ткани и миелиновых оболочек. В семенах изучаемых сортов, количество данного элемента составило 14–21 мг/кг, максимальное содержание меди отмечено у сорта Визирь.

Цинк относится к минералам, осуществляющим поддержку роста и иммунной системы. Он позво-

ляет организму вырабатывать белки и ДНК, способствует заживлению ран и играет значительную роль в росте и развитии детей, обладает антиоксидантными свойствами. Содержание цинка в семенах белорусских сортов льна масличного составило 35–51 мг/кг. Наиболее высокое количество отмечено в семенах сортов Альянс (47 мг/кг) и Бонус (53 мг/кг).

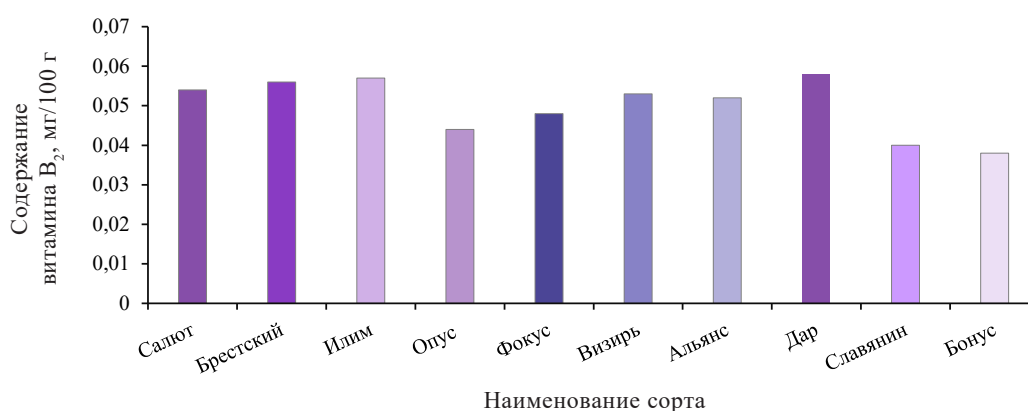
Следует отметить, что 100 г исследуемых семян льна масличного полностью удовлетворяют суточную потребность в марганце и меди. Семена льна можно считать источником для взрослого человека магния, фосфора, цинка.

Витамин B₁ (тиамин) участвует в регулировании углеводного обмена. Содержание его в условиях 2020 г. составило 0,430–0,700 мг/100 г, в условиях 2021 г. – 0,230–1,1 мг/100 г (рис. 4). Наиболее вы-

Таблица 5. Содержание токоферолов (витамина Е) в семенах льна масличного разных сортов

Table 5. Vitamin E (tocopherols) in various linseed cultivars, mg/100g

Наименование сорта	Токоферолы (витамин Е), мг/100 г			
	Суммарное содержание	α -токоферол	β -токоферол + γ -токоферол	δ -токоферол
Салют	12,66	0,30	12,28	0,08
Альянс	11,63	0,26	11,31	0,08
Фокус	10,39	0,29	10,03	0,07
Визирь	9,04	0,21	8,77	0,06
Бонус	10,28	0,20	10,02	0,06
Дар	12,07	0,26	11,72	0,09
Славянин	7,82	0,21	7,55	0,06
Брестский	9,47	0,25	9,13	0,09
Илим	12,06	0,31	11,66	0,09
Опус	12,35	0,28	11,97	0,10

Рисунок 5. Содержание витамина B₂ в семенах льна масличного разных сортов, мг/100 гFigure 5. Vitamin B₂ in various linseed cultivars, mg/100g

сокие средние значения данного компонента отмечены у сортов Салют (0,91 мг/100г) и Брестский (1,08 мг/100 г).

Токоферолы в масличных семенах и растительных маслах находятся в активной форме в виде смеси их гомологов. В растительных маслах γ -токоферол ведет себя как более сильный антиоксидант по сравнению с α -токоферолом [40]. Большая часть суммарного содержания токоферолов в подсолнечном масле приходится на α -токоферол (80 %), в кукурузном и соевом – на γ -токоферол (60–80 %) [41]. Суммарное содержание токоферолов в семенах льна масличного урожая 2021 г. составило 7,82–12,66 мг/100 г, массовая доля α -токоферола варьировала в пределах 0,20–0,31 мг/100 г, β -токоферола + γ -токоферола – 7,55–12,28 мг/100 г, δ -токоферола – 0,06–0,10 мг/100 г (табл. 3).

Более 90 % от суммы токоферолов приходится на сумму β -токоферол + γ -токоферолов. Благодаря наличию значительного количества этих антиоксидантов, семена льна имеют большой срок годности и длительное время сохраняют свой компонентный состав.

Общее содержание токоферолов в исследуемых семенах составляет 72 % от среднесуточной нормы потребления для взрослого человека. По наиболее высокому содержанию витамина Е выделены сорта Салют, Дар и Опус.

Рибофлавин (витамин B₂) участвует в окислении и биосинтезе жирных кислот, липидов и в превращении сахаров. Содержание его в семенах сортов изменялось в пределах 0,038–0,058 мг/100 г (рис. 5). Максимальное содержание данного компонента отмечено в семенах сортов Дар (0,058 мг/100 г), Илим (0,057 мг/100 г), Брестский (0,056 мг/100 г).

Проведенный анализ корреляционных взаимосвязей между содержанием витамина B₁ (тиамина), витамина Е (токоферолов), витамина B₂ (рибофлавина) и минеральным составом семян исследуемых сортов установил прямые зависимости средней силы между содержанием рибофлавина и магния ($r = 0,664$), содержанием кальция и магния ($r = 0,672$), кальция и фосфора ($r = 0,613$), фосфора и меди ($r = 0,683$), железа и цинка ($r = 0,569$), обратные зависимости средней силы между содержанием натрия и марганца

Таблица 6. Корреляционные взаимосвязи между содержанием витаминов и минеральным составом семян льна масличного разных сортов

Table 6. Vitamin content vs. mineral composition in various linseed cultivars

	Витамины, мг/100 г			Микро и макроэлементов, мг/кг								
	Токоферолы	Рибофлавин	Тиамин	Ca	Mg	P	K	Fe	Na	Mg	Cu	Zn
Токоферолы	1,000											
Рибофлавин	-0,217	1,000										
Тиамин	0,143	0,420	1,000									
Ca	0,096	0,379	0,057	1,000								
Mg	-0,004	0,664	0,388	0,672	1,000							
P	0,202	0,460	0,127	0,613	0,779	1,000						
K	-0,293	0,438	-0,369	0,235	0,379	0,494	1,000					
Fe	-0,238	0,443	0,263	-0,012	0,489	0,392	0,460	1,000				
Na	-0,308	0,263	0,392	0,025	-0,089	0,117	0,015	0,171	1,000			
Mg	0,282	0,060	-0,329	-0,176	-0,126	-0,111	0,231	0,069	-0,539	1,000		
Cu	0,286	0,000	-0,071	0,028	0,404	0,683	0,346	0,237	-0,259	0,216	1,000	
Zn	-0,231	0,232	-0,240	-0,371	-0,057	-0,190	0,406	0,569	-0,284	0,733	0,020	1,000

Примечание: достоверно при $p = 0,05$.

Note. – significant at $p = 0.05$.

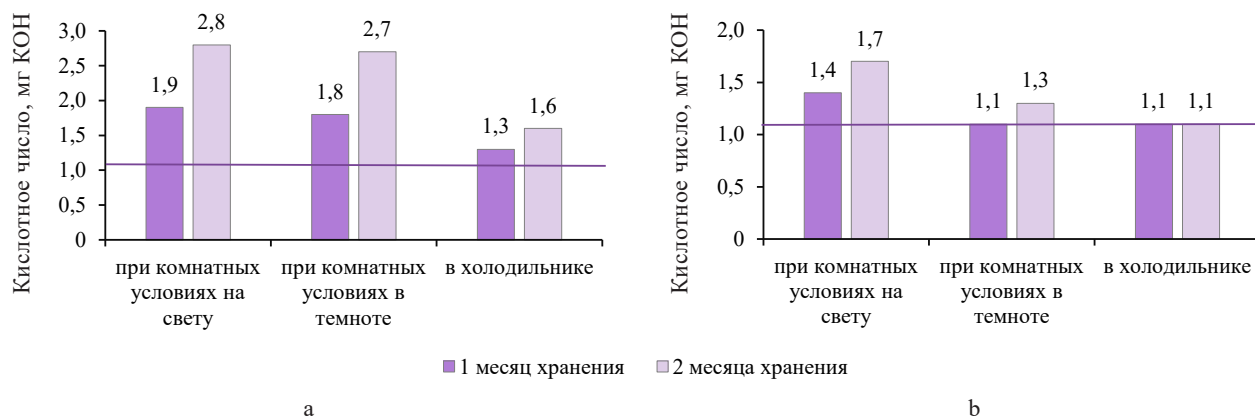


Рисунок 6. Рисунок 6. Изменение кислотного числа семян льна масличного при различных условиях хранения: а – молотые семена; б – целые семена

Figure 6. Acid number in various linseed cultivars under different storage conditions: a – ground seeds; b – whole seeds

($r = -0,539$) (табл. 6). Сильные взаимосвязи отмечены лишь между содержанием фосфора и магния в семенах исследуемых сортов ($r = 0,779$).

Высокая склонность льняного масла/семян к прогорканию требует исследования динамики изменения кислотного числа семян льна (целых и молотых) при различных условиях их хранения. Целые и молотые семена хранились в герметичных условиях при комнатной температуре 20 ± 3 °C и в холодильнике 4 ± 2 °C. Предварительные результаты хранения целых и измельченных семян льна представлены на рисунке 6.

Анализ результатов установил, что наихудшие условия хранения семян в измельченном состоянии как на свету, так и в темноте при комнатной температуре, кислотное число образца увеличивается более чем в 2 раза. Не изменилось кислотное число при хра-

нении целых семян в холодильнике и практически не изменилось значение кислотного числа целых семян, хранившихся в темноте при комнатной температуре. Можно заключить, что хранение семян льна в измельченном виде характеризуется ростом кислотного числа относительно первоначального значения. При хранении в условиях пониженных температур $+2 \dots +4$ °C кислотное число в измельченных семенах вырастает на 18,2 % в первый месяц хранения, и на 45,5 % при хранении в течение 2-х месяцев. Это необходимо учитывать при создании продуктов, в которых будут использованы молотые семена (льняная мука).

Выводы

Годы проведения исследований различались как по температурному режиму, так и количеству осадков, что сказалось на продолжительности вегетационного

периода: в 2020 г. – 83–91 суток, в 2021 г. – 80–86 суток. Анализ химического состава и пищевой ценности сортов льна масличного позволил установить варьирование содержания масла 29,2–44,8 % в 2020 г., 28,1–39,6 % в 2021 г. Наибольшим накоплением масла отличались семена масличного льна сортов Салют (39,2 %) и Фокус (41,0 %). Выделены сорта с содержанием белка более 24 %: Бонус (25,1 %) и Славянин (24,0 %) что составляет более 30 % от среднесуточной нормы потребления взрослого человека в 100 грамм семян.

Идентифицирован состав жирных кислот и проведен его анализ. Выявлено следующее процентное содержание насыщенных кислот: пальмитиновой – 4,2 (сорт Салют) – 5,8 % (сорт Дар), стеариновой – 2,6 (сорт Салют) – 4,5 % (сорт Опус), бегеновая и арахидоновая кислоты обнаружены в незначительных количествах 0,1 и 0,2 % соответственно.

Сорта урожая 2021 г. характеризовались более высоким содержанием линолевой и олеиновой кислот (среднее содержание 17,6 и 18,2 %). Отмечено значительное снижение содержания полиненасыщенной α -линоленовой кислоты, среднее значение данного показателя в 2020 г. составило 63,7 %, в 2021 г. – 54,9 %).

Семена льна сортов Славянин, Бонус и Дар отличаются высоким содержанием клетчатки (более 26 %). Средняя зольность семян составила 3,18 (сорт Опус) – 3,87 % (сорт Альянс).

Исследование минерального состава семян льна масличного позволило выделить основные макроэлементы и их варьирование в зависимости от года исследований. Содержание калия в семенах урожая 2020 г. составило 10000,0–11500,0 мг/кг, в семенах урожая 2021 г. 7400,0–10000,0 мг/кг, фосфора – 6935–9035 мг/кг и 4500–6600 мг/кг, магния – 2590,0–2810,0 мг/кг и 2200–2500 мг/кг, кальция – 1790,0–2345,0 мг/кг и 1200–1900 мг/кг соответственно. Максимальное содержание макроэлементов отмечено в семенах сортов Салют, Альянс и Фокус. Более низкое содержание железа (43–54 мг/кг) и натрия (99–141 мг/кг) установлено в семенах урожая 2021 г. Количество марганца варьировало в пределах 18–35 мг/кг, меди – 14–21 мг/кг, цинка – 35–53 мг/кг. Таким образом, 100 г исследуемых семян льна масличного полностью удовлетворяют суточную потребность в марганце и меди, их также можно считать источниками для взрослого человека магния, фосфора, цинка.

Наиболее высокие средние значения содержания тиамин в оба года исследований отмечены у сортов Салют (0,91 мг/100г) и Брестский (1,08 мг/100 г) при варьировании по годам исследований 0,430–

0,700 мг/100 г (2020 г.), 0,230–1,11 мг/100 г (2021 г.). Суммарное содержание токоферолов в семенах льна масличного составило 7,82–12,66 мг/100 г, более 90 % от суммы токоферолов приходится на сумму β -токоферол + γ -токоферолов. Максимальное содержание компонента отмечено в семенах сортов Салют, Дар и Опус. Общее содержание токоферолов в исследуемых семенах составляет 72 % от среднесуточной нормы потребления для взрослого человека. Содержание рибофлавина в семенах белорусских сортов варьировало в пределах 0,038 – 0,058 мг/100 г. По наиболее высокому его количеству выделены сорта Дар, Илим и Брестский.

С целью получения качественной пищевой муки из семян льна, недопустимо хранение молотых семян. При необходимости использования измельченных семян льна рекомендуется их применять свежемолотыми.

Результаты исследований биохимического, минерального и витаминного состава семян сортов льна масличного белорусской селекции подтверждают высокую биологическую ценность семян данной культуры и возможность их использования в качестве высокоактивного, функционального ингредиента при создании новых видов продуктов питания.

Критерии авторства

В. Г. Лобанов – анализ полученных результатов, Ю. Ф. Росляков – обзор литературы, анализ данных, подготовка текста; И. М. Почичкая, М. Е. Маслинская – постановка, научное руководство проектом задания и обработка экспериментальных данных, Н. В. Комарова – проведение исследований, обработка экспериментальных данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.G. Lobanov analyzed the results, Yu.F. Roslyakov reviewed scientific publications, analyzed the data, and drafted the manuscript; I.M. Pochitskaya and M.E. Maslinskaya developed the research concept, supervised the research, and processed the experimental data; N.V. Komarova performed the research and processed the experimental data.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/ Список литературы

1. Bolgova MA, Kleymenova NL, Bolgova IN, Kopylov MV. Nutrient study of brown and white flax seeds. Polzunovskiy Vestnik. 2021;(3):13–20. (In Russ). <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2021.03.002>; <https://elibrary.ru/ZMZIWW>
2. Renzyaeva TV, Tuboltseva AS, Renzyaev AO. Various flours in pastry production technology. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(2):407–416. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2373>

3. Zubtsov VA, Zverev SV, Roslyakov YuF, Gonchar VV. Efficiency of flax seeds disintegration in the centrifugal hulling machine. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*. 2019;(1):89–92. (In Russ.). <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2019.1.22>; <https://www.elibrary.ru/VWEDRX>
4. Hussain MS, Kaur G, Mohapatra C. Nutritional composition and functions of flaxseed (*Linum usitatissimum linn.*). *Food Ther Health Care*. 2021;3(4):88–91; <https://doi.org/10.53388/FTHC2021030488>
5. Shirazi SA, Nia AP, Asl MRS, Naghipour F, Tavakolipour H. Antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts of *Salvia leriifolia* L. and *Linum usitalissimum* L. subjected to a pulsed electric field. *Foods and Raw Materials*. 2020;8(1):186–195; <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-186-195>
6. Troshchynska Y, Bleha R, Synytsya A, Štetina J. Chemical composition and rheological properties of seed mucilages of various yellow-and brown-seeded flax (*Linum usitatissimum* L.). Cultivars. *Polymers*. 2022; 14(10):2040. <https://doi.org/10.3390/polym14102040>
7. Begalina A, Baitelenova A, Wangyu FU, Kipshakbaeva G, Tleppeeva A. Qualitative indicators of oily flax varieties of the chinese breeding in the conditions of the dry steppe zone of Northern Kazakhstan. *Herald of Science of S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University*. 2021;(3):30–39. (In Russ.). [https://doi.org/10.51452/kazatu.2021.3\(110\).730](https://doi.org/10.51452/kazatu.2021.3(110).730); <https://www.elibrary.ru/BJDLTC>
8. Hasanov JaH, Mirzaxmedov ShD, Sulstonova EM, Salikhov ShI. Effect of moisture content on the quality and quantity of screw-pressed flax seed oil. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023;53(2):309–315. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-2-2434>; <https://www.elibrary.ru/VQPHTN>
9. Lupova YeI, Novikova AV, Polyakov AV, Vinogradov DV. Yield and quality of flax seeds of sunlin oil variety. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2019;(6):110–119. (In Russ.). <https://doi.org/10.34677/0021-342x-2019-6-110-119>; <https://www.elibrary.ru/EOCLPO>
10. Minevich IE, Goncharova AA, Ushchapovsky VI. The influence of varietal diversity on the efficiency of protein water extraction from whole flaxseeds. *Processes and Food Production Equipment*. 2023;(1):3–9. (In Russ.). <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2023-16-1-3-9>; <https://elibrary.ru/OFDTNB>
11. Xin-Pei YE, Ming-Feng XU, Zhen-Xing TANG, Hang-Jie CHEN, Dan-Ting WU, et al. Flaxseed protein: extraction, functionalities and applications. *Food Science and Technology*. 2022;42(6):e22021. <https://doi.org/10.1590/fst.22021>
12. Zakharova IN, Tvorogova TM. Correction of micronutrient deficiency is one of the priority areas in the practical work of a pediatrician. *Medical Council*. 2019;(17):24–35. (In Russ.). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-17-24-35>
13. Varivoda AA. Promising use of oil and fat raw materials for functional food products. *Polzunovsky Bulletin*. 2019;(2):75–79. (In Russ.). [Варивода А. А. Перспективное использование масложирового сырья для функциональных продуктов питания // Ползуновский вестник. 2019. № 2. С. 75–79.]. <https://elibrary.ru/LWQQNZ>
14. Merenkova SP, Semizdralova VV, Paimulina AV. Analysis of the influence of flaxseed flour on the structural and mechanical properties of meat products. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food And Biotechnology*. 2018; 6(4):42–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.14529/food180406>; <https://elibrary.ru/YOKHGP>
15. Zhukova YuS, Lybenko ES, Marinina AYu. Prospects for the development of the flax subcomplex of the Kirov region. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2020;(3):55–60. (In Russ.). [Жукова Ю. С., Лыбенко Е.С., Маринина А. Ю. Перспективы развития льняного подкомплекса Кировской области // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. № 3. С. 55–60.]. <https://elibrary.ru/MEKSLV>
16. Madhagy SA, Ashmawy NS, Mamdouh A, Eldahshan OA, Farag MA. A comprehensive review of the health benefits of flaxseed oil in relation to its chemical composition and comparison with other omega-3-rich oils. *European Journal of Medical Research*. 2023;28:240. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01203-6>
17. Maslinskaya ME, Savelyev NS, Sosnovskaya AA. Linseed as a raw material for the production of biologically active additives. *Food Industry: Science and Technologies*. 2022;15(1):21–30. (In Russ.). [https://doi.org/10.47612/2073-4794-2022-15-1\(55\)-21-30](https://doi.org/10.47612/2073-4794-2022-15-1(55)-21-30); <https://elibrary.ru/EUQAFN>
18. Minevich IE. Functional significance of flax seeds and practice of their use in food technologies. *Health, Food and Biotechnology*. 2019;1(2):97–120. (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s224>; <https://elibrary.ru/NCTPWG>
19. Tsyganova TB, Minevich IE, Osipova LL. Flaxseed polysaccharides: practical application. *Storage and Processing of Farm Products*. 2019;(2):24–33. (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/spfp.2019.151>; <https://elibrary.ru/PBPBOO>
20. Minevich IE, Osipova LL, Tsyganova TB. The use of flax seeds and flax flour in the technology of flour confectionery. *Baking in Russia*. 2018;(3):38–41. (In Russ.). [Миневич И. Э., Осипова Л. Л., Цыганова Т. Б. Использование семян льна и льняной муки в технологии мучных кондитерских изделий // Хлебопечение России. 2018. № 3. С. 38–41.]. <https://elibrary.ru/VRLOY Y>
21. Kaur M, Kaur R, Punia S. Characterization of mucilages extracted from different flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) cultivars: A heteropolysaccharide with desirable functional and rheological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;117:919–927. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.010>
22. Liu W-Y, Feng M-Q, Wang M, Wang P, Sun J, Xu X-L, et al. Influence of flaxseed gum and NaCL concentrations on the stability of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2018;79:371–381. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.010>

23. Al-Hassawi F, Al-Ghanim J, Al-Foudari M, Al-Othman A, Sidhu JS. Effects of flaxseed on the nutritional and sensory qualities of pan and Arabic flat breads. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(2):272–281. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-571>
24. Haghghatsiar N, Askari G, Saraf-Bank S, Feizi A, Keshmiri H. Effect of flaxseed powder on cardiovascular risk factor in dyslipidemic and hypertensive patients. *International Journal of Preventive Medicine*. 2019;10:218. https://doi.org/10.4103%2Fijpvm.IJPVM_563_17
25. Askarpour M, Karimi M, Hadi A, Ghaedi E, Symonds ME, Miraghajani M, *et al.* Effect of flaxseed supplementation on markers of inflammation and endothelial function: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2020;126:154922. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154922>
26. Ghaseminasab-Parizi M, Nazarinia M-A, Akhlaghi M. The effect of flaxseed with or without anti-inflammatory diet in patients with rheumatoid arthritis, a randomized controlled trial. *European Journal of Nutrition*. 2022;61(3):1377–1389. <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02707-9>
27. Morshedzadeh N, Shahrokh S, Aghdae HA, Pourhoseingholi MA, Chaleshi V, Hekmatdoost A, *et al.* Effects of flaxseed and flaxseed oil supplement on serum levels of inflammatory markers, metabolic parameters and severity of disease in patients with ulcerative colitis. *Complementary Therapies in Medicine*. 2019;46:36–43. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.07.012>
28. Merkher Y, Kontareva E, Alexandrova A, Javaraiah R, Pustovalova M, Leonov S. Anti-Cancer Properties of Flaxseed Proteome. *Proteomes* 2023;11(4):37; <https://doi.org/10.3390/proteomes11040037>
29. Mueed A, Deng Z, Korma S.A, Shibli S, Jahangir M. Anticancer potential of flaxseed lignans, their metabolites and synthetic counterparts in relation with molecular targets: current challenges and future perspectives. *Food Function*. 2023; (5):2286–2303. <https://doi.org/10.1039/D2FO02208G>
30. Dospikhov BA. Field experiment methodology. Moscow: Alyans; 2011. 350 p. (In Russ.). [Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М: Альянс, 2011. 350 с.]
31. Prudnikov VA. Cultivation of linseed. Standard technological processes. Minsk: Research and Practical Center of National Academy of Sciences of the Republic of Belarus for Arable Farming; 2022: 470 p. (In Russ.). [Прудников В. А. Возделывание льна масличного. Типовые технологические процессы. Минск: Научно-практический центр Национальной академии наук Республики Беларусь по земледелию, 2022. 470 с.]
32. Klintsevich OM, Gomonova TS. Bulletin of Agrometeorology. Minsk:Ministry of Natural Resources and Environmental Protection of the Republic of Belarus; 2021. 70 p. (In Russ.). [Клинцевич О. М., Гомонова Т. С. Минск: Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, 2021. 70 с.]
33. Maslinskaya ME. Cumulation of oil in linseeds depending on the meteorological conditions of the year. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2023;(1):70–79. (In Russ.). <https://doi.org/10.5281/zenodo.7898468>; <https://elibrary.ru/CBTAJG>
34. Volovik VT, Leonidova TV, Korovina LM, Blokhina NA, Kasarina NP. Comparison of fatty acid composition of different edible oils. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2019;(5):147–152. (In Russ.). [Сравнение жирнокислотного состава различных пищевых масел / В. Т. Воловик [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019. № 5. 147–152.]. <https://elibrary.ru/JUKLLQ>
35. Titov VN, Dygai AM, Kotlovskiy MYu, Kurdoyak YeV, Yakimenko AV, Yakimovich IYu, *et al.* Palmitic and oleic acids and their role in pathogenesis of atherosclerosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2014;13(5):149–159. (In Russ.). [Пальмитиновая, олеиновая кислоты и их роль в патогенезе атеросклероза / В. Н. Титов [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. 2014. Т. 13. № 5. С. 149–159]. <https://elibrary.ru/TGDKIN>
36. Podzolkov VI, Pisarev MV. Role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in cardiovascular risk management. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(3):86–94. (In Russ.). <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2020-2589>; <https://elibrary.ru/FRBPYM>
37. Shagina VN, Blokhina II, Serov IS. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in women’s reproductive health. *Young Scientist* 2020;(35):34–35. (In Russ.). [В. Н. Шагина, И. И. Блохина, И. С. Серов. Роль омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в репродуктивном здоровье женского организма // Молодой ученый. 2020. № 35. С. 34–35.]. <https://elibrary.ru/ZASSZG>
38. Kurdyukov EE, Semenova EF, Gavrilova NA, Ponomareva TA, Sheludyakova YuB. Chemical composition of linseed. *Vestnik of Penza State University*. 2019;(4):81–84. (In Russ.). [Особенности химического состава льна семян / Е. Е. Курдюков [и др.] // Вестник Пензенского государственного университета. 2019. № 4. С.81–84.]. <https://elibrary.ru/WIHTCV>
39. Maslinskaya ME, Pochitskaya IM, Komarova NV. Study of physical indicators and biochemical composition of seeds of belarusian linseed varietie. *Food Industry: Science and Technologies*. 2022;15(2):26–35. (In Russ.). [https://doi.org/10.47612/2073-4794-2022-15-2\(56\)-26-35](https://doi.org/10.47612/2073-4794-2022-15-2(56)-26-35); <https://elibrary.ru/XAYQJW>
40. Puligundla P, Lim S. A Review of Extraction Techniques and Food Applications of Flaxseed Mucilage. *Foods*. 2022; 11(12):1677. <https://doi.org/10.3390/foods11121677>
41. Özcan MM, Değerli Z. Effect on human health and bioactive components of linseed. *Food Industry: Science and Technologies*. 2019;12(3):85–92. <https://elibrary.ru/TNNRWY>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2527>
<https://elibrary.ru/MQDCLB>

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

Synthesis of Biodegradable Plastic from *Wak* Banana Peel Starch with Glycerol as Plasticizer



Irmayanti^{1,*}, Chairil Anwar²

¹ Universitas Serambi Mekkah^{ROR}, Aceh, Indonesia

² Politeknik Indonesia Venezuela, Aceh, Indonesia

Received: 13.02.2024

Revised: 26.02.2024

Accepted: 05.03.2024

*Irmayanti: irmayanti@serambimekkah.ac.id,

<https://orcid.org/0000-0002-0274-8894>

Chairil Anwar: <https://orcid.org/0000-0002-9395-8028>

© Irmayanti, C. Anwar, 2024



Abstract.

Biodegradable plastic from banana peel is durable and transparent. It breaks down naturally in the environment and can substitute traditional petroleum plastic, which is a source of pollution due to its slow degradation. This research is intended to improve the physical properties of biodegradable film obtained by the casting solution method from an Aceh variety of *wak* banana peel starch with glycerol as a plasticizer.

The authors relied on a factorial completely randomized design with two replications. The variables included the concentrations of *wak* banana peel starch (6, 8, and 10%) and glycerol (2, 5, and 8%). The data were subjected to the analysis of variance (ANOVA). The physical tests covered tensile strength, elongation, water absorption, and biodegradation. The functional groups of biodegradable films were analyzed using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). The morphological structure was studied by scanning electron microscopy (SEM).

The biodegradation test lasted for two and four days. The sample with less banana peel starch (6–8%) degraded faster. Higher glycerol concentrations (5–15%) affected the weight of the samples. The plastic samples with 15% glycerol degraded faster than the samples with minimal glycerol amount. A greater concentration of *wak* banana peel starch significantly affected tensile strength and elongation while the effect on water content and water absorption capacity was insignificant. Glycerol concentration affected water content and tensile strength, but had no significant effect on water absorption capacity and elongation. The ratio between the concentrations of *wak* banana peel starch and glycerol had a significant effect on tensile strength and water absorption capacity.

The best results belonged to the sample with 8% *wak* banana peel starch and 2% glycerol. The research provided new options for utilizing banana peels as biodegradable packaging and an alternative to traditional plastic. The commercialization and scalability of this ecologically friendly plastic require further research.

Keywords. Banana peel, starch, biodegradation, degradation process, permeability, plastic, extraction

For citation: Irmayanti, Anwar C. Synthesis of Biodegradable Plastic from *Wak* Banana Peel Starch with Glycerol as Plasticizer. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):546–557. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2527>

Синтез биоразлагаемого пластика из банановой кожуры с глицерином в качестве пластификатора



Ирмаянти^{1,*}, Ч. Анвар²

¹ Университет Серамби в Мекке^{ROR}, Ачех, Индонезия

² Индонезийский политехнический институт Венесуэлы, Ачех, Индонезия

Поступила в редакцию: 13.02.2024
Принята после рецензирования: 26.02.2024
Принята к публикации: 05.03.2024

*Ирмаянти: irmayanti@serambimekkah.ac.id,
<https://orcid.org/0000-0002-0274-8894>
Ч. Анвар: <https://orcid.org/0000-0002-9395-8028>

© Ирмаянти, Ч. Анвар, 2024



Аннотация.

Из банановой кожуры получается биodeградируемый пластик высокой прочности и прозрачности. Он естественным образом разлагается в окружающей среде и может заменить традиционный пластик, который, в силу своего медленного разложения, является опасным источником загрязнения. Целью данного исследования являлось изучение физических свойств биоразлагаемой пленки, изготовленной из крахмала, полученной при помощи метода литьевого раствора из банановой кожуры с глицерином в качестве пластификатора.

В исследовании применялась факторная полностью рандомизированная модель с двумя повторениями. В качестве факторов выбраны: концентрация крахмала банановой кожуры (6, 8 и 10 %) и концентрация глицерина (2, 5 и 8 %). Данные были подвергнуты дисперсионному анализу (ANOVA). В ходе эксперимента изучены: прочность на разрыв, удлинение, поглощение воды и биodeградация. Функциональные группы образцов биоразлагаемых пленок анализировали при помощи инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье. Морфологическую структуру экспериментального пластика изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии.

По результатам теста на биоразлагаемость образец с меньшим содержанием крахмала (6–8 %) разлагался быстрее. Более высокие концентрации глицерина (5–15 %) привели к утяжелению образцов. Образцы пластика с 15 % глицерина разлагались быстрее, чем образцы с минимальным содержанием глицерина. Высокая концентрация крахмала из банановой кожуры существенно влияла на прочность и удлинение, а влияние на содержание воды и водопоглощающую способность оказалось незначительным. Концентрация глицерина оказала значительное влияние на содержание воды и прочность, при этом эффект на водопоглощающую способность и удлинение был незначительным. Соотношение между концентрацией крахмала из банановой кожуры и глицерина существенно влияло на прочность и водопоглощающую способность экспериментального образца биоразлагаемого пластика.

Наилучшие результаты продемонстрировал образец с 8 % крахмала из банановой кожуры и 2 % глицерина. Исследование выявило новые возможности использования банановой кожуры в качестве сырья для производства биоразлагаемой упаковки и альтернативы традиционному пластику. Коммерциализация и масштабируемость проекта требуют дальнейших исследований.

Ключевые слова. Банановая кожура, крахмал, биodeградация, процесс разложения, проницаемость, пластик, экстракция

Для цитирования: Ирмаянти, Анвар Ч. Синтез биоразлагаемого пластика из банановой кожуры с глицерином в качестве пластификатора // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 546–557. (На англ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2527>

Introduction

Plastic has a wide range of forms, including sheets, panels, and films, each of which has its own advantages. Depending on the application, plastic may be made more flexible, which is an industrial benefit. Plastic is more affordable than any other packaging. It is strong, aesthetically pleasing, and lightweight; in addition, it comes in a variety of sizes and shapes. However, excessive use of plastic has made it a major pollutant. It takes

plastic 500 years to deteriorate, and when it finally does, it becomes toxic. Plastic pollution of soil and water may have disastrous consequences. It affects people, e.g., by upsetting hormone balance or thyroid hormone axis. As a result, biodegradable plastic emerges as a viable remedy for every issue [1].

Starch is elastic and resembles petroleum-based polymers, which makes it a key ingredient in the production of biodegradable plastics. Starch comes from tuberous

plants, e.g., potatoes, sweet potatoes, jicama, cassava, and arrowroot. The amount of starch in the mix defines the mechanical and physical properties of the biodegradable plastic produced. The synthesis of biodegradable plastics from tuberous plants has been well investigated. New alternatives for plastic synthesis are required to obtain more variety. Banana peel is a novel and prospective source of biodegradable plastic.

Banana peel is an easily obtained byproduct of food production that is discarded as waste and has no market value. However, banana peel is rich in starch and may be utilized as a raw material for such creative food wrapper as edible film, its main advantages being rapid degradation and edibility [2].

Wak banana, or king banana, is a popular name for *Musa* (ABB Group) Pisang Awak, or *Musa paradisiaca* var. awak. Its peel contains more carbohydrates (31.8 g) than other banana cultivars, which makes it a viable alternative material for new biodegradable plastic. Its high carbohydrate content means good prospects as a plasticizer. Unfortunately, bioplastics derived from starch are of non-waterproof (hydrophilic) nature. Hydrophobic substances, e.g., chitosan and glycerol, can be added to starch-based bioplastics in order to enhance their mechanical characteristics [3].

Biodegradable film needs a plasticizer, i.e., a non-volatile substance with a high boiling point that, when added to another material, can make it more plastic. Plasticizers reduce film brittleness, enhance permeability to gases, water vapor, and solutes, as well as improve plasticity. The list of popular plasticizers used in biodegradable films includes glycerol, beeswax, polyvinyl alcohol, and sorbitol [4]. Top of Form.

Kadam and Datta proved that biodegradable film derived from banana peel was more optimal than synthetic polymers and controls [1]. Saleh and Utami, who studied *mulu bebe* banana peel starch and biodegradable plastic with chitosan and glycerol, reported a water content of 13.389–19.621%, density of 0.047–0.112 g/cm³, tensile strength of 0.983–4.790 MPa, elongation of 1.402–13.317%, and water absorption of 12.407–82.194% [3]. This research aims at improving the physical properties of biodegradable film made from starch obtained by the casting solution method from *wak* banana grown in the Province of Aceh, Sumatra, Indonesia, and glycerol as a plasticizer.

Study objects and methods

The tools used in this research included a small bucket, a knife, a blender, a small sieve, filter paper or thin cloth, a small pot, measuring glass, a stove, a spoon, an oven, a clock or stopwatch, and a digital scale. The analytical tools involved a Kao strength-testing device, a micrometer screw, an oven, an analytical balance, a tensile tester, a scanning electron microscope (SEM), and a Fourier-transform infrared (FTIR) spectrometer. The materials included green *wak* banana peel obtained

from Lambaro Market, Aceh Besar, glycerol, water, and 70% alcohol.

Making banana peel starch. The starch extraction was carried out following the method described by Saleh and Utami (3), with slight modifications. The procedural steps involved washing and peeling the bananas in running water, followed by grinding the peels in a blender. After that, we added distilled water to facilitate crushing with a banana peel-to-distilled water ratio of 200 g to 250 mL. Then, we filtered the banana peel paste through cheesecloth and placed it in a 1,000 mL beaker. The banana peel filtrate settled there for 24 h until sediment, which was separated from supernatant. The obtained sediment was then reconstituted with an additional 250 mL of distilled water and left for another 24 h until sediment formed again and was separated from supernatant. Subsequently, we dried the sediment in an oven at 70°C for 24 h and sieved it through a no.100 mesh sieve.

Making biodegradable plastic. Forming biodegradable plastic from banana peels followed a modified procedure developed by Kadam and Datta [1]. We dissolved banana peel starch at concentrations of 6, 8, and 10% in 6% acetic acid by stirring at 70°C. Once all the solutions were dissolved, the banana peel starch solution was stirred for 15 min until the mix became homogeneous. After that, we added glycerol at concentrations of 2, 5, and 8%, stirred it, and heated for 15 min until the temperature reached 70°C. Subsequently, we poured the biodegradable plastic solution into molds pre-cleaned with 96% alcohol. The molds remained in the oven at 70°C for 7 h. Upon leaving the oven, they were left to cool down to room temperature (28°C). The physical tests included such parameters as tensile strength, elongation, water absorption, and biodegradation. The functional groups of biodegradable films were analyzed using a Fourier-transform infrared (FTIR) spectrometer. The morphological structure underwent scanning electron microscopy (SEM).

Water content test. We placed 2 g of fine-ground material into a pre-weighed crucible to be dried in the oven at 100–105°C for 3–5 h, followed by cooling it in a desiccator for 15 min and re-weighing. After that, we calculated the moisture content using the formula introduced by Irmayanti et al. [5]:

$$\text{Moisture content} = (W_1 - W_2) / W_1 \times 100$$

where W_1 was the initial weight and W_2 stood for the sample weight after drying, i.e., the final weight.

Water absorption test. To test the water absorption, we placed 5 g of each sample in 100 mL of boiling water and heated them until complete gelatinization for 5 min. Once completely gelatinized, the plastic was weighed, and the water absorption was measured as the change before and after heating [6].

Tensile strength test. The samples remained in a room with standard temperature and humidity $23 \pm 2^\circ\text{C}$,

52% for 24 h. Then, they were cut into standard size pieces of 2×8 cm. The initial length before adding load was recorded, and the testing was carried out by clamping both ends of the sample.

Elongation test. Elongation measurements followed the same procedure as the tensile strength test and was expressed as a percentage.

Morphological structure analysis (SEM). The cross-sectional morphological structure of the new biodegradable film was observed using a scanning electron microscope (SEM) analyzer (ZEOL, Germany). Before testing, the samples were placed in a desiccator with 54% humidity at room temperature. The biodegradable film was prepared by breaking it down in liquid nitrogen and then observing it according to standard procedures.

Fourier transform infrared (FTIR) test. The infrared spectra of the biodegradable film samples were measured using potassium bromide (KBr) pellets with a FTIR Prestige-21 Shimadzu spectrophotometer at wave lengths between $4,000 \text{ cm}^{-1}$ and 400 cm^{-1} . The sample was placed into the set holder and searched with an appropriate spectrum. The result was obtained in the form of spectra of the relationship between the wave length and the intensity. The FTIR spectrum was recorded with the spectrometer at room temperature [7].

Statistical evaluation. Every experiment was conducted in triplicate, with a mean \pm SD. All experimental data went through SPSS 26.0 for Microsoft. The significant changes in the physicochemical and sensory properties were defined using the Duncan's Multiple Range Test, with $p \leq 0.05$.

Results and discussion

The biodegradable plastic made from the Aceh variety of *wak* banana peelstarch was similar to biodegradable plastics made from other starch raw materials. It had a clear, slightly yellowish color and a smooth soft surface. It was non-porous and did not crack.



Figure 1. Biodegradable plastic from 10% banana peel starch and 5% glycerol

Рисунок 1. Образец биоразлагаемого пластика с 10 % крахмала банановой кожуры и 5 % глицерина

Water content test. The average water content of the biodegradable plastic from banana peel starch with glycerol ranged from 47.33 to 49.00%, with an average of 80.39%. The highest water content was 49.00% and belonged to the sample with 10% banana peel starch and glycerol concentrations of 2, 5, and 8% (Samples P_3G_1 , P_3G_2 , P_3G_3 , see Table 1). The lowest water content of 47.33% was detected in the sample with 6 and 8% banana peel starch and 2 and 8% glycerol (Samples P_1G_2 and P_2G_3 , see Table 1). Table 1 demonstrates the average water content in different biodegradable plastic samples.

The analysis of variance showed that the concentration of banana peel had a significant effect ($p \leq 0.05$) on water content while the concentration of glycerol and the ratio between the concentrations of banana peel and glycerol had none ($p > 0.05$). Figure 1 illustrates the effect of the concentration of banana peel starch on the water content in the experimental biodegradable plastic.

Figure 2 shows quite clearly that a higher concentration of banana peel starch correlated with a greater water content. The phenomenon could be explained by the fact that banana peel starch possesses hydrophilic properties and easily binds water. Amalia *et al.* explained the increase in water content by the hydrophilic nature of starch, which attracts and forms hydrogen bonds with

Table 1. Average values of water content in biodegradable plastic from banana peel starch with glycerol as plasticizer

Таблица 1. Средние значения содержания воды в биоразлагаемом пластике, полученного из крахмала банановой кожуры с добавлением глицерина в качестве пластификатора

Concentration of <i>wak</i> banana peel starch (P)	Concentration of glycerol (G)		
	$G_1 = 2\%$	$G_2 = 5\%$	$G_3 = 8\%$
$P_1 = 6\%$	47.33	48.00	48.00
$P_2 = 8\%$	48.67	48.67	47.33
$P_3 = 10\%$	49.00	49.00	49.00

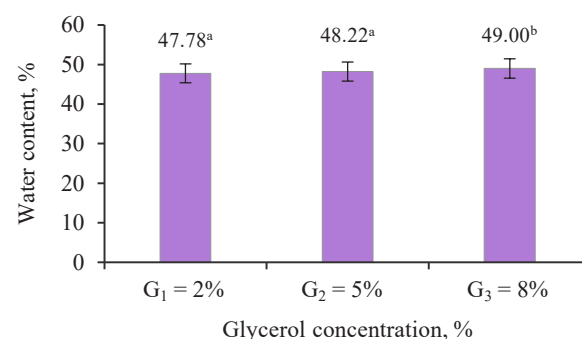


Figure 2. Effect of concentration of *wak* banana peel on water content in biodegradable plastic

Рисунок 2. Зависимость содержания воды в биоразлагаемом пластике от концентрации крахмала банановой кожуры

water molecules [8]. Fitrianti *et al.* studied biodegradable plastic made from *walur* tuber starch and reported the optimal water content of 9.45% for the combination of 78% *walur* starch and 22% glycerol [9]. The bioplastic samples containing glycerol exhibited the greatest moisture content values. This effect was described by Cerqueira *et al.*, who found that glycerol was made up of hydroxyl groups that had an attraction for water molecules, allowing the molecules to form hydrogen bonds and incorporate water in their structure [10]. According to Galietta and Di Gioia and Guilbert *et al.*, the hydrophilic nature of glycerol enables it to bind water during the polymerization process, thus increasing the water content of the polymer material as glycerol mass is employed [11, 12]. Furthermore, Amatullah *et al.* reported that the capacity of glycerol to bind water during the polymerization process also helped in the production of biodegradable plastics because it made the polymer material less brittle over time, eventually forming more flexible properties [13]. The fact that we used glycerol to modify the water content was consistent with the findings reported by Praseptiangga *et al.* [14].

Water absorption test. The water absorption analysis was conducted to determine the ability of the experimental plastic to absorb water after soaking. It was intended to show whether the novel bioplastic had properties close to those of synthetic plastic because plastic consumers prefer materials that meet specific requirements, e.g., water resistance [15].

The average water absorption of biodegradable plastic from banana peel starch with different glycerol concentrations ranged from 142.700 to 387.00%, with an average of 241.667%. The highest water absorption (387.00%) was in the sample with 6% banana peel starch and 5%

glycerol (Sample P₁G₃, see Table 2). The lowest water absorption (142.70%) was recorded in the sample with 8% banana peel and 5% glycerol (Sample P₂G₂, see Table 2). Table 2 shows the average water absorption of biodegradable plastic [15].

The variance analysis indicated that the concentration of banana peel and glycerol had no significant effect ($p > 0.05$) on water absorption while the ratio between the concentrations of banana peel and glycerol did ($p < 0.05$) (Fig. 2).

According to Figure 3, a higher concentration of banana peel starch and glycerol corresponded with a more powerful water absorption. Probably, the intermolecular mobility reduced the regularity of biodegradable plastic [16]. As the concentration of banana peel starch increased, the water absorption tended to rise. This phenomenon was evident in the samples with 2% glycerol (G₁) at 6, 8, and 10% banana peel starch, 5% glycerol (G₂) at 8 and 10% banana peel starch, and 8% glycerol (G₃)

Table 2. Average water absorption, %, values of biodegradable plastic from banana peel with glycerol as plasticizer

Таблица 2. Средние значения водопоглощения, %, биоразлагаемого пластика из крахмала банановой кожуры с добавлением глицерина в качестве пластификатора

Concentration of <i>wak</i> banana peel starch (P)	Concentration of glycerol (G)		
	G ₁ = 2%	G ₂ = 5%	G ₃ = 8%
P ₁ = 6%	218.933	387.000	232.700
P ₂ = 8%	231.500	142.700	258.133
P ₃ = 10%	277.767	195.000	231.267

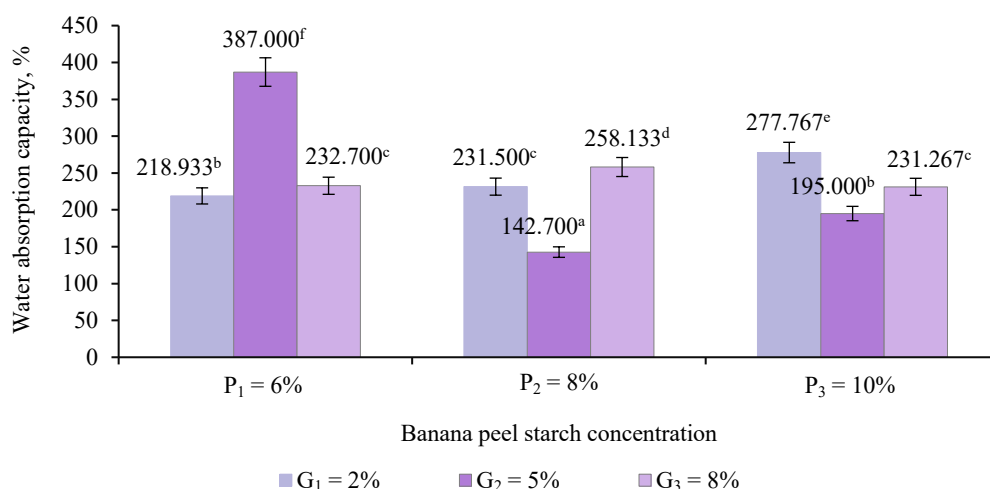


Figure 3. Effect of concentration ratio between banana peel starch and glycerol on water absorption capacity of biodegradable plastic

Рисунок 3. Зависимость водопоглощающей способности биоразлагаемого пластика от соотношения между концентрациями крахмала банановой кожуры и глицерина

at 6 and 8% banana peel starch. Higher glycerol concentrations tended to increase the water absorption, probably, because starch tends to have more hydroxyl (OH) groups, allowing it to absorb more water. According to Ermawati, Rahmadhia, high glycerol concentrations could enhance the water absorption of biodegradable plastic due to the properties of glycerol as a plasticizer [17]. Yuxia *et al.* wrote that glycerol did not bind to starch molecules at high concentrations but interacted with water molecules through hydrogen bonds, reducing the compactness of the starch matrix [18]. It happened because glycerol is a hygroscopic substance that can absorb water well. Additionally, glycerol has hydrophilic properties, indicating that a material with hydrophilic groups interacts with water quite easily [19].

An edible film is usually a mix of glycerol with a greater water vapor permeability: the thicker the edible film, the more hydrophilicity it affects, depending on the concentration [20]. In our research, the weight of the edible film rose every hour as the amount of glycerol grew. It happened because glycerol is hydrophilic and can bind water. By increasing the hydrophilic component of the membrane, producers let water vapor seep into it, speeding up the transmission of water vapor. Similarly, Musavi and Bagheripoor reported that the glycerol combination used to create edible film had a greater capacity for absorbing water [21]. Vapor transmission membrane and water barrier control water evaporation and function well as an oxygen, carbon dioxide, and lipid barrier.

Tensile strength test. Tensile strength is an important mechanical property of plastic because it is related to its ability to protect the products it covers. Plastic with high tensile strength serves as food packaging that protects food items during handling, transportation, and marketing [22].

In our research, the average tensile strength of biodegradable plastic made from banana peels with glycerol

concentration ranged from 0.40 to 3.00 MPa, with an average of 1.16 MPa. The highest tensile strength of 3.00 MPa belonged to the sample with 8% banana peel starch and 1% glycerol (Sample P₂G₁, see Table 3). The lowest tensile strength of 0.40 MPa was observed in the sample with 10% banana peel starch and 8% glycerol (Sample P₃G₃, see Table 3). Table 3 demonstrates the average tensile strength of the experimental biodegradable plastic.

The variance analysis showed that glycerol concentration had a highly significant effect ($p \leq 0.01$) on the tensile strength while the banana peel starch concentration and the ratio between banana peel and glycerol concentrations had a significant effect ($p \leq 0.05$). Figure 3 illustrates the effect of the ratio between banana peel starch and glycerol concentrations on the tensile strength of the experimental biodegradable plastic.

Figure 4 shows that a higher concentration of banana peel starch corresponded with a higher tensile strength while a higher concentration of glycerol correlated with a lower tensile strength. The dependence could be explained by the fact that excessive plasticizer concentrations made the material more elastic, which lowered its tensile

Table 3. Average tensile strength values, MPa, of biodegradable plastic from banana peel starch with glycerol as plasticizer

Таблица 3. Средние значения прочности, МПа, биоразлагаемого пластика из крахмала банановой кожуры с добавлением глицерина в качестве пластификатора

Concentration of <i>wak</i> banana peel starch (P)	Concentration of glycerol (G)		
	G ₁ = 2%	G ₂ = 5%	G ₃ = 8%
P ₁ = 6%	0.45	0.72	0.48
P ₂ = 8%	3.00	0.60	0.96
P ₃ = 10%	2.76	1.06	0.40

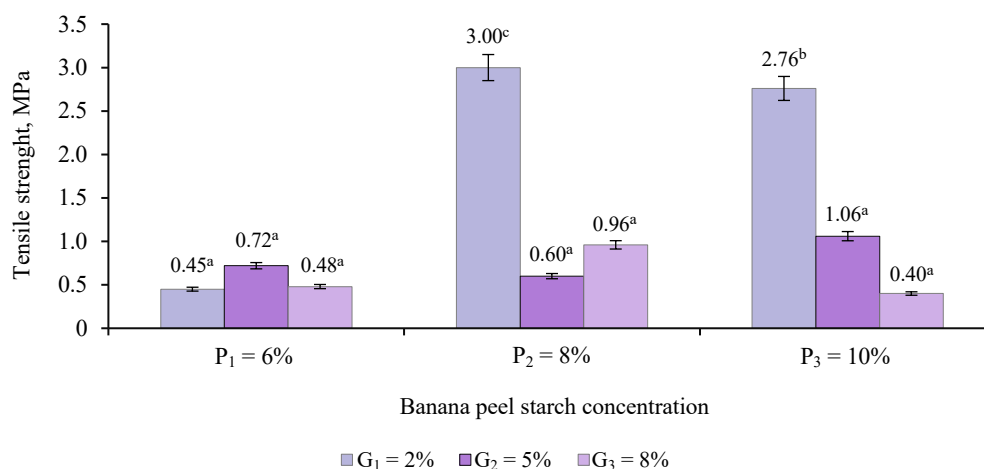


Figure 4. Effect of concentration ratio between banana peel starch and glycerol on tensile strength of biodegradable plastic

Рисунок 4. Зависимость прочности биоразлагаемого пластика от соотношения концентраций крахмала банановой кожуры и глицерина

strength [7]. The decline also occurred due to the addition of more starch, which resulted in a greater matrix formation, causing the film matrix structure to become more robust, thus providing greater strength to support external loads. As the glycerol and starch composition reached its maximum, excessive glycerol did not mix completely. This change in mechanical properties was related to the ratio between starch and glycerol. According to Echeverria *et al.* the melting temperature, tensile strength, and Young's modulus decrease as the glycerol content grows, i.e., the tensile strength decreases as the glycerol volume increases [23].

The tensile strength was highest in the samples with 2% glycerol: because the amount of glycerol added was still very small, the plastic with a high tensile strength did not break readily. It happened because stronger chemical connections that need a lot of energy to break appear when plastic contains a greater number of hydrogen bonds. In this study, the tensile strength values of the bioplastic met the specified standards. The increasing amount of glycerol without balancing the starch composition prevented some components to mix perfectly, leading to an increase and subsequent decrease in tensile strength values. Dalimunthe reported that the tensile strength values went down as the glycerol concentration increased [24]. It happened because when glycerol mixed with polymer solutions, it formed hydrogen bonds between molecules, thus reducing the interaction between polymer molecules and making polymer molecule movement easier. McHugh and Krochta reduced hydrogen bonds in the film by increasing plasticizer content [25]. As a result, it increased flexibility, causing the film to be more flexible, thus reducing tensile strength values. Sanyang *et al.* explained that the phenomenon of decreasing tensile strength due to the effect of increasing plasticizer concentration could be described through the behavior of the plasticizer, which reduces the attractive forces between starch molecules and promotes the formation of hydrogen bonds between starch and plasticizer molecules [26].

Elongation test. Elongation indicates the state of plastic after it changes in length during stretching [27]. In our research, the average elongation values of biodegradable plastic from banana peel starch with different glycerol concentrations ranged from 49.92 to 115.43%, with an average of 80.39%. The highest elongation value of 115.43% was found in the sample with 10% banana peel and 3% glycerol (Sample P_3G_1 , see Table 4). The lowest elongation value of 49.942% occurred in the sample with 6% banana peel and 8% glycerol (Sample P_1G_3 , see Table 4). Table 4 shows the average elongation values of the experimental biodegradable plastic.

The variance analysis showed that the concentration of *wak* banana peel starch significantly affected the elongation values ($p \leq 0.05$) while the concentration of glycerol and the ratio between the concentrations of banana peel starch and glycerol had no significant effect ($p > 0.05$). Figure 5 illustrates the effect of the concentra-

tion of banana peel starch on the elongation values of the experimental biodegradable plastic.

Figure 5 shows that a higher concentration of banana peel starch resulted in higher elongation values. It happened due to the increased fiber content. According to Hoque and Janaswamy, banana peels are abundant in total dietary fibers (43–50%), starch (3%), and lignocellulosic fiber [28, 29].

The high starch concentration in banana peel increased the elongation. The highest elongation was in the sample with 10% banana peel starch: at this concentration, the amount of dissolved solids in the plastic could stretch the polymer bonds in the starch, resulting in a more flexible biodegradable plastic. The stretching of starch polymer bonds as affected by glycerol and starch increased elongation. When combined with glycerol, starch with its high amylose content increased plastic elongation [30].

In our research, the elongation values were higher than those obtained by Oluwasina *et al.* [31]. In their study, the elongation values ranged from 10.85 to 24.55% while in this research it was 80.39%.

Biodegradation tests. Biodegradation tests determined how quickly the experimental plastic could degrade under the action of various microorganisms. We used soil as medium because it contains various types of decomposing microorganisms, i.e., fungi and bacteria, which fuel the degradation process [32]. In our study, the bio-

Table 4. Average elongation values, %, of biodegradable plastic from banana peel starch with glycerol as plasticizer

Таблица 4. Средние значения удлинения, %, биоразлагаемого пластика из крахмала банановой кожуры с глицерином

Concentration of <i>wak</i> banana peel (P)	Concentration of glycerol (G)		
	$G_1 = 2\%$	$G_2 = 5\%$	$G_3 = 8\%$
$P_1 = 6\%$	85.59	50.40	49.92
$P_2 = 8\%$	78.25	88.07	61.01
$P_3 = 10\%$	115.43	103.94	90.90

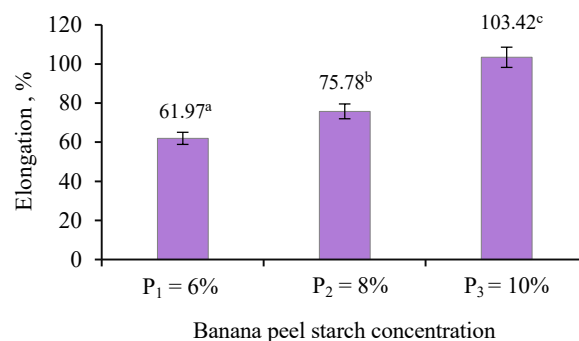


Figure 5. Effect of concentration of banana peel starch on elongation of biodegradable plastic

Рисунок 5. Зависимость удлинения биоразлагаемого пластика от концентрации крахмала банановой кожуры

degradable plastic was made from starch, which is an organic component, easily decomposed by soil microorganisms. *Aspergillus niger* is a fungus that plays a significant role in plastic degradation. It contains α -amylase that breaks glycosidic bonds in starch into shorter polymers, e.g., glucose [33]. This is what makes organic plastic environmentally friendly.

The samples of biodegradable plastic stayed in soil for 2 and 4 days. Table 5 shows the alterations that occurred during the storage of biodegradable plastic in soil.

Table 5 clearly demonstrates that samples P₃G₁, P₃G₂, and P₃G₃ remained on day 2. On days 2 and 4, all other samples degraded completely. The two-day storage proved that a combination of low starch addition (6–8%) led to faster degradation. Higher concentrations of glycerol (5–15%) affected the weight of the degraded samples. The plastic samples with 15% glycerol underwent a faster degradation process compared to the samples with a lower glycerol content.

The phenomenon could be explained by the hydrophilic nature of glycerol. It accelerates water absorption, allowing microorganisms to degrade plastic samples more quickly. Additionally, the OH groups in glycerol and starch can initiate hydrolysis reactions after absorbing water from the soil. As a result, starch degrades into small pieces until it eventually disappears in the soil. Polymers degrade due to the process of damage or a decrease in quality caused by the breaking of chain bonds in the polymer. This process depends on the ability of plastic to absorb water: more water makes it easier for the material to degrade because water serves as a medium for most microbes and bacteria. In addition, the natural degradability of the constituent components, as well as assistance from decomposing bacteria and organisms such as earthworms, can accelerate the rate of plastic degradation.

The breakdown of plastic in the soil could already be observed after the first day of planting, with a weight

reduction of 40–50% from the average initial weight of 0.17 g. On day 2, the weight reduction percentage reached 40%. By day 4, the biodegradable plastic had completely degraded.

Mueller, who also studied the degradation ability of plastic in a soil burial test, concluded that the degradation capability of synthesized plastic was affected by various factors, e.g., soil type, microbial type, and humidity [34]. A study by Rusdianto *et al.* managed to degrade plastic completely within a month using the same method but with maleic acid as a plasticizer [35]. In biodegradability tests, water should be able to penetrate the structure of the material to facilitate biological (microbial) activity [36]. This finding was further supported by Song *et al.*, in

Table 5. Plastic biodegradation test

Таблица 5. Результаты теста на биодegradацию пластика

	G ₁	G ₂	G ₃	Total
P ₁	0	0	0	0
P ₂	0	0	0	0
P ₃	40	50	52	142
	40	50	52	Mean = 47.3

Table 6. Functional group analysis by Fourier-transform infrared (FTIR) spectrometry

Таблица 6. Анализ функциональных групп по результатам инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье

Vibration type	Wave length, cm ⁻¹
	Banana peel starch + glycerol
-OH hydroxyl	3,655–3,584
CH ₃ methyl	–
C=C alkene	2,000–2,200
C=O carbonyl	–
C-O ester	–

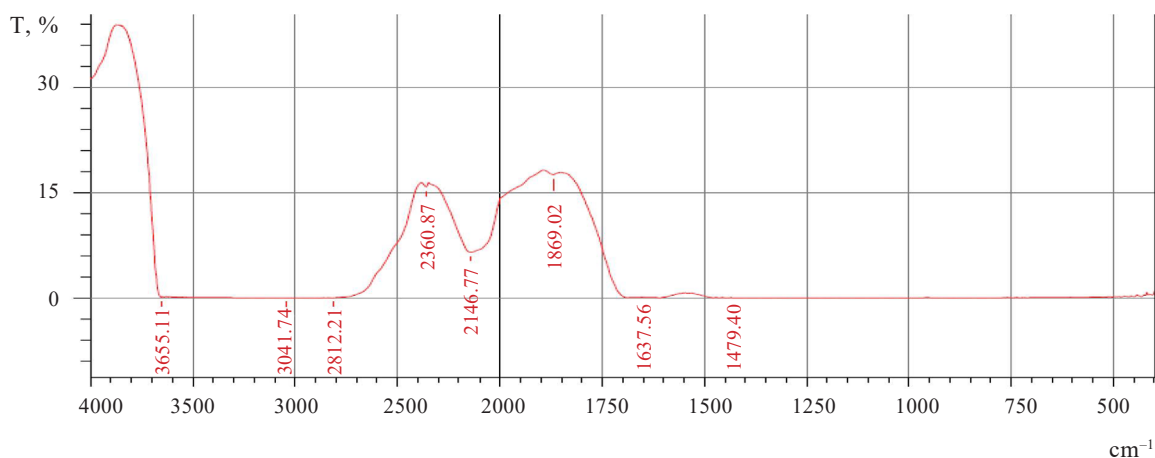


Figure 6. Effect of banana peel starch and glycerol on functional groups in biodegradable plastic

Рисунок 6. Влияние крахмала банановой кожуры и глицерина на функциональные группы биоразлагаемого пластика

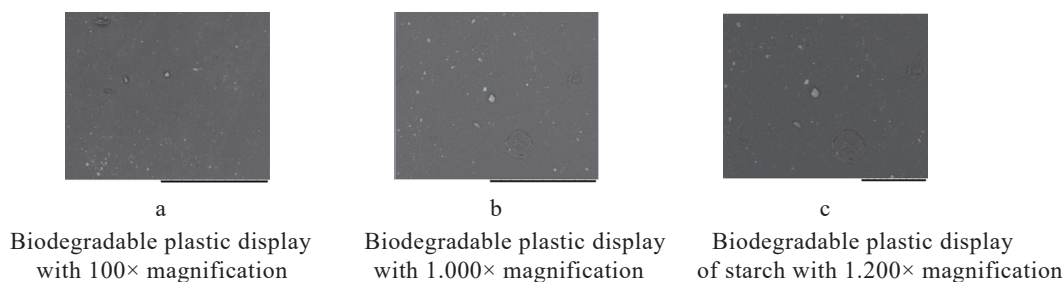


Figure 7. Morphology of biodegradable plastic from banana starch by scanning electron microscope (SEM)

Рисунок 7. Морфология биоразлагаемого пластика из бананового крахмала по результатам сканирующей электронной микроскопии

whose soil burial test the biodegradable plastic developed holes that would affect the polymer matrix and make the plastic brittle [37]. In our study, the plastic degraded more quickly because glycerol absorbed moisture from the air.

Functional group test. The functional group test involved Fourier-transform infrared (FTIR) equipment. FTIR spectrometry is widely employed to identify a compound because different (organic) compounds have different FTIR spectra. Vibrations of chemical bonds in a molecule cause absorption bands predominantly in the spectral range of $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ [38].

The synthesized biodegradable plastic was chemically characterized by analyzing the end groups using the FTIR method (Table 6).

Figure 6 illustrates the effect of concentrations of banana peel starch and glycerol containing two types of functional groups, namely hydroxyl groups (-OH) in the range of $3655\text{--}3584$, classified as alcohols and phenols. The absorption of the alkene C=C was in the range of $2000\text{--}2200$.

The FTIR spectra made it possible to analyze how monomers combine to generate polymers. The hydrogen-linked polymeric OH stretch vibrations of starch were represented by a large, strong band at 3655.11 m^{-1} , as seen in the FTIR spectra of banana peel starch [39, 40]. The prevalence of -CH_2 groups with C-H stretch peaked at 2812.21 cm^{-1} [41]. Between 600 and 1500 cm^{-1} was the starch fingerprint zone [42]. Within the fingerprint region, the distinctive starch peaks overlapped one another. As a result, bands appeared at 1637 and 1479.40 cm^{-1} , which corresponded to the C-C stretch and C-O-C glycoside linkages, respectively [39, 43]. According to Weligama Thuppahige *et al.* [42], the band at 1869.02 cm^{-1} corresponded to N-H primary amine bends of proteins linked to banana peel starch. The moisture (10–13.5%) and protein (3%) contents of starch are accepted by the codex criteria for their exceptional quality [42, 44].

Our plastic was hydrophilic because the functional groups were the same as its constituent component, i.e., starch. Thus, a physical blending process occurred. Plastic is biodegradable if the carbonyl C=O group is visible

in the absorption region of the 1600s and the C-O ester appears in the range of the 1100s. The results of the functional group analysis indicated a low transmission of infrared rays, which means that few bonds or functional groups were well-identified, resulting in a very dark sample color.

Scanning electron microscopy (SEM). Scanning electron microscopy is a method used to create images of microscopic surfaces. An electron beam with a diameter between 5 and 10 nm is passed along the sample. The interactions between them result in such phenomena as high-energy electron reflection, low-energy secondary electron formation, electron absorption, X-ray formation, or visible light formation (cathodoluminescence) [45].

Figure 7 indicates that the surface of the biodegradable plastic was smooth. However, white spots were visible in the images at all three levels of magnification. Probably, they were starch granules that did not mix homogeneously with other materials.

In the image, each particle is bound to another one, indicating excellent density and resulting in a relatively low water absorption compared to other biodegradable plastics. Almalik *et al.* conveyed a similar notion, attributing imperfect mixing and non-homogeneous morphological structure of the film to incomplete stirring and the presence of chitosan, which is insoluble in organic solvents [46].

The surface was not free from air bubbles. The formation of air cavities was caused by stirring and molding, which affected the surface structure of the biodegradable plastic. The better the molding process, the faster the evaporation of water vapor contained in the material. As a result, particles moved upwards during the water evaporation process, thus making intercellular layers merge.

Conclusion

Banana peel starch significantly affected tensile strength and elongation while having no significant effect on water content and water absorption in the experimental biodegradable plastic. Glycerol concentration had a significant effect on water content and tensile strength but none on water absorption and elongation.

The ratio between the concentrations of *wak* banana peel starch and glycerol concentrations significantly affected tensile strength and water absorption. The best results belonged to the sample with 8% banana peel starch and 2% glycerol: its water content was 48.00%, water absorption was 231.5%, tensile strength was 3 MPa, and elongation was 78.25%. The surface of the biodegradable plastic was smooth. It had two types of functional groups, namely hydroxyl groups (OH) in the range of 3655–3584 cm^{-1} , classified as alcohols and phenols. The absorption of the alkene C=C was in the range of 2000–2200 cm^{-1} . The new biodegradable plastic was hydrophilic because the functional groups were the same as in starch, which indicated physical blending. The carbonyl C=O group in the absorption region of the 1600s and the C-O ester in the range of the 1100s proved that the alternative plastic obtained from *wak* banana peel was biodegradable.

Contribution

All the authors were equally involved in the research analysis and manuscript writing.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Критерии авторства

Все авторы в равной степени принимали участие в исследовании и написании рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциальных конфликтов интересов в отношении исследования, авторства и / или публикации данной статьи.

References

1. Kadam P, Datta S. Production of Biodegradable Plastic from Banana Peel. *International Journal of Innovative Research in Science. Engineering and Technology*. 2020;9(7):6177–6185. https://www.ijirset.com/upload/2020/july/141_PRODUCTION_NC.PDF
2. Lilis K, Wahyu S, Sapta Hadi K. Characteristic of ascorbic acid in crosslinked chitosan edible film as drug delivery system membrane. *MATEC Web of Conferences*. 2018;154:01027. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201815401027>
3. Saleh ERM, Utami S. Characteristics of biodegradable plastic from mulu bebe banana peel starch with the addition of chitosan and glycerol plasticizer. *Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2023;1177:012047. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1177/1/012047>
4. Dalimunthe NF, Al Fath MT, Taslim, Samosir ML, Sianipar DJ. The effect of additional kepok banana blossom (*Musa paradisiaca normalis*) on mechanical properties of pectin-edible film as packaging. *Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2024;1352:012008. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1352/1/012008>
5. Irmayanti I, Juliani J, Anwar C, Irhami I, Aprita IR. Pengaruh penambahan tepung melinjo (*Gnetum Gnemon* linn.) dan lama pengukusan terhadap sifat fisik dan uji hedonik flakes. *Serambi Journal of Agricultural Technology*. 2023;5(1):36–46. <https://doi.org/10.32672/sjat.v5i1.6168>
6. Irmayanti I, Sunartaty R, Anwar C. Rich in fiber biscuits formulation with katuk leaf flour fortification (*Sauropus androgynus*) and roasting time variation. *Serambi Journal of Agricultural Technology*. 2019;1(2):66–73. <https://doi.org/10.32672/sjat.v1i2.1599>
7. Darni Y, Utami H. Development of Environmentally Friendly Bioplastic from Sorghum Starch: Study on Manufacturing and Characterization of Mechanical Properties. *Jurnal Teknik Kimia Universitas Diponegoro*. 2021;9(2):87–95. <https://jurnal.usk.ac.id/RKL/article/view/79/73>
8. Amalia D, Saleh D, Djonaedi E. Synthesis of biodegradable plastics using corn starch and corn husk as the fillers as well as chitosan and sorbitol. *Journal of Physics: Conference Series*. 2020;1442:012007. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1442/1/012007>
9. Fitrianti Y, Azzahra RT, Kusumawati E, Keryanti. Pengaruh Penambahan Polyvinyl Alcohol (PVOH) pada Biofoam dari Tepung Biji Nangka dan Ampok Jagung dengan Metode Thermopressing. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 2023;12(2):100–107. <https://doi.org/10.32734/jtk.v12i2.9228>
10. Cerqueira MA, Souza BWS, Teixeira JA, Vicente AA. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films – A comparative study. *Food Hydrocolloids*. 2023;27(1):175–184. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.07.007>
11. Galietta G, Di Gioia L, Guilbert S, Cuq B. Mechanical and Thermomechanical Properties of Films Based on Whey Proteins as Affected by Plasticizer and Crosslinking Agents. *Journal of Dairy Science*. 1998;81(12):3121–3130. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75877-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75877-1)
12. Abdillahi H, Chabrat E, Rouilly A, Rigal L. Influence of citric acid on thermoplastic wheat flour/poly (lactic acid) blends. II. Barrier properties and water vapor sorption isotherms. 2013;50:104–111. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.028>
13. Amatullah AN, Kemala T, Irawadi TT. The Heat Resistant Capabilities of Bioplastic Composites on Sago Hampas Starch-Al2O3. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 2022;17(2):97–103. <https://doi.org/10.23955/rkl.v17i2.25520>

14. Praseptianga D, Maimuni BH, Manuhara GJ, Muhammad DRA. Mechanical and Barrier Properties of Semi Refined Kappa Carrageenan-based Composite Edible Film and Its Application on Minimally Processed Chicken Breast Fillet. Conference Series: Materials Science and Engineering. 2018;333:012086. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/333/1/012086>
15. Arifin HR, Indiarito R, Ciptaningtiyas D. Physical characteristics of edible film from modified breadfruit starch (*Artocarpus atilis* F.) with glycerol. Conference Series: Earth and Environmental Science.2020;443:012028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/443/1/012028>
16. Ginting MHS, Hasibuan R, Lubis M, Tanjung DS, Iqbal N. Effect of Hydrochloric Acid Concentration as Chitosan Solvent on Mechanical Properties of Bioplastics from Durian Seed Starch (*Durio Zibethinus*) with Filler Chitosan and Plasticizer Sorbitol. Conference Series: Materials Science and Engineering. 2017;180:012126. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/180/1/012126>
17. Ermawati TA, Rahmadhia SN. Physico-chemical characteristics of edible film from breadfruit starch (*Artocarpus atilis*) and beeswax. Advances in Food Science, Sustainable Agriculture and Agroindustrial Engineering. 2023;6(4):325–337. <https://doi.org/10.21776/ub.afssaec.2023.006.04.1>
18. Li Y, Duan Q, Yue S, Alee M, Liu H. Enhancing mechanical and water barrier properties of starch film using chia mucilage. International Journal of Biological Macromolecules. 2024;274:133288. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133288>
19. Vijayakumar V, Nam SY. A Review of Recent Chitosan Anion Exchange Membranes for Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cells. Membranes. 2022;12(12):1265. <https://doi.org/10.3390/membranes12121265>
20. Ratna R, Hari M, Syafriandi S. Pemanfaatan Pektin Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) Untuk Pembuatan Kemasan Edible film Dengan Penambahan Gliserol Sebagai Plasticizer. Rona Teknik Pertanian. 2022;15(1):97–107. <https://doi.org/10.17969/rtp.v15i1.23820>
21. Fahrullah F, Kisworo D, Noersidiq A. Edible Film Based on Whey-Chia Seed: Physical Characterization with Addition of Different Plasticizers. Jurnal Penelitian Pendidikan IPA. 2023;9(10):8554–8565. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v9i10.4978>
22. Pitak N, Rakshit SK. Physical and antimicrobial properties of banana flour/chitosan biodegradable and self sealing films used for preserving Fresh-cut vegetables. LWT - Food Science and Technology. 2011;44(10):2310-2315. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.05.024>
23. Echeverria L, da Silva C, Danesi EDG, Porciuncula BDA, Barros BCB. Characterization of okara and rice bran and their application as fat substitutes in chicken nugget formulations. LWT. 2022;161:113383. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113383>
24. Dalimunthe NF, Al Fath MT, Taslim, Samosir ML, Sianipar DJ. The effect of additional kepok banana blossom (*Musa paradisiaca normalis*) on mechanical properties of pectin-edible film as packaging. Conference Series: Earth and Environmental Science. 2024;1352:012008. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1352/1/012008>
25. McHugh TH, Krochta JM. Sorbitol- vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1994;42(4):841–845. <https://doi.org/10.1021/jf00040a001>
26. Sanyang ML, Sapuan SM, Jawaid M, Ishak MR, Sahari J. Effect of Plasticizer Type and Concentration on Tensile, Thermal and Barrier Properties of Biodegradable Films Based on Sugar Palm (*Arenga pinnata*) Starch. Polymers. 2015;7(6):1106–1124. <https://doi.org/10.3390/polym7061106>
27. Mappamadeng AH, Amalia R. Optimization and Characterization of Physical–Mechanical Properties of Biodegradable Edible Films Based on Pectin from Breadfruit Peel for Food Packaging. Journal of Vocational Studies on Applied Research. 2022;4(1):1–6. <https://doi.org/10.14710/jvsar.v4i1.14175>
28. Hoque M, Janaswamy S. Biodegradable packaging films from banana peel fiber. Sustainable Chemistry and Pharmacy. 2024;37:101400. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101400>
29. Lai JCH, Mahesan D, Samat NASbA, Baini R. Characterization and optimization of extracted pectin from unripe banana and mango fruit peels. Materiakstoday: Proceedings. 2022;65:3020–3029. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.03.580>
30. Lilis K, Wahyu S, Kesuma SH. Characteristic of ascorbic acid in crosslinked chitosan edible film as drug delivery system membrane. MATEC Web of Conferences. 2018;154:01027. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201815401027>
31. Oluwasina OO, Olaleye FK, Olusegun SJ, Oluwasina OO, Mohallem NDS. Influence of oxidized starch on physico-mechanical, thermal properties, and atomic force micrographs of cassava starch bioplastic film. International Journal of Biological Macromolecules. 2019;135:282–293. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.150>
32. Shiwei L, Yufei Li, Zhao S, Shao Z. Biodegradation of Typical Plastics: From Microbial Diversity to Metabolic Mechanisms. International Journal Molecular Sciences.2024;25(1):593. <https://doi.org/10.3390/ijms25010593>
33. Fibriarti BL, Feliatra, Amin B, Darwis. Biodegradation of LDPE plastic by local strain of *Bacillus* sp.isolated from dump soil of Pekanbaru, Indonesia. Biodiversitas Journal of Biological Diversity. 2021;22(12):5484–5490. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d221232>
34. Mueller R-J. Biological degradation of synthetic polyesters—Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. Process Biochemistry. 2006;41(10):2124–2128. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.05.018>

35. Rusdianto AS, Usman M, Lindriati T, Ruriani E, Mahardika NS. The Characterization of Biodegradable Plastics from Cassava Starch with Varried Addition of Robusta Coffee Skin (*Coffea canefora*) and Glycerol. *International Journal on Food, Agriculture, and Natural Resources*. 2022;3(3):34-38. <https://doi.org/10.46676/ij-fanres.v3i3.68>
36. McCrum NG, Buckley CP, Bucknal CB. *Principles of Polymer Engineering*. Oxford University Press, 2021. 464 p.
37. Song JH, Murphy RJ, Narayan R, Davies GBH. Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009;364(1526):2127–2139. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0289>
38. Tanjung DA, Jamarun N, Lubis R. Optimization of malic anhydrate concentration in manufacturing PP-g-MA compatibilizer on test percent of grafting degree. *Jurnal Natural*. 2024;24(2):93–97. <https://doi.org/10.24815/jn.v24i2.35317>
39. Coates JP. Interpretation of infrared spectra: Recent advancements and applications. *Applied Spectroscopy Reviews*. 1996;31:179–192. <https://doi.org/10.1080/05704929608000568>
40. Czaikoski A, da Cunha RL, Menegalli FC. Rheological behavior of cellulose nanofibers from cassava peel obtained by combination of chemical and physical processes. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116744. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116744>
41. Charoensopa K, Thangunpai K, Kong P, Enomae T, Enomae T, Ploysri W. Extraction of Nanocellulose from the Residue of Sugarcane Bagasse Fiber for Anti-Staphylococcus aureus (*S. aureus*) Application. *Polymers*. 2024;16(11):1612. <https://doi.org/10.3390/polym16111612>
42. Thuppahige VTW, Moghaddam L, Welsh ZG, Wang T, Xiao H-W, Karim A. Extraction and characterisation of starch from cassava (*Manihot esculenta*) agro-industrial wastes. *LWT*. 2023;182:114787. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114787>
43. Ferreira DCM, Molina G, Pelissari FM. Biodegradable trays based on cassava starch blended with agroindustrial residues. *Composites Part B: Engineering*. 2020;183:107682. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107682>
44. Algar AFC, Umali AB, Tayobong RRP. Physicochemical and functional properties of starch from Philippine edible Canna (*Canna indica* L.) rhizomes. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*. 2019;9(1):34–37. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.9.1.34-37>
45. Baidurah S. Methods of Analyses for Biodegradable Polymers: A Review. *Polymers*. 2022;14(22):4928. <https://doi.org/10.3390/polym14224928>
46. Almalik A, Donno R, Cadman CJ, Cellesi F, Day PJ, Tirelli N. Hyaluronic acid-coated chitosan nanoparticles: Molecular weight-dependent effects on morphology and hyaluronic acid presentation. *Journal of Controlled Release*. 2013;172(3):1142–1150. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.09.032>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2528>
<https://elibrary.ru/MZEMQB>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Сезонная динамика липидов тканей двустворчатого моллюска *Cerastoderma glaucum* псевдолиторальной зоны



А. В. Бородина^{1,*}, К. А. Пименов¹,
Ю. О. Веляев², А. Р. Осокин²

¹ Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

² Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

Поступила в редакцию: 13.11.2023

Принята после рецензирования: 08.12.2023

Принята к публикации: 09.01.2024

*А. В. Бородина: borodinaav@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-8468-8372>

К. А. Пименов: <https://orcid.org/0009-0008-4516-6924>

Ю. О. Веляев: <https://orcid.org/0000-0003-0372-2458>

А. Р. Осокин: <https://orcid.org/0009-0003-5962-1899>

© А. В. Бородина, К. А. Пименов, Ю. О. Веляев,
А. Р. Осокин, 2024



Аннотация.

Двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum* является обитателем псевдолиторали. Исследования его липидов и механизмов адаптации представляют интерес с точки зрения потенциально промышленного объекта аквакультуры. Цель работы заключается в изучении динамики в течение года общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов и стеролов, свободных жирных кислот, триацилглицеридов и анализ состава жирных кислот *C. glaucum*, псевдолиторальной зоны верховья бухты Казачья, г. Севастополя.

Моллюски *C. glaucum*, были собраны в течение зимы, весны и осени 2021–2022 гг. Рассматривали три вида тканей: жабры, ногу и гепатопанкреас. При определении общих липидов, разделении их на классы и исследовании жирных кислот использовали ком-плексный методический подход.

Общий уровень липидов у моллюска составлял 2,4–15,1 г/100 г сырого веса ткани. В течение года динамика общих липидов в тканях ноги и жабр менялась от самых высоких значений весной ($9,6 \pm 1,6$ и $4,9 \pm 1,9$ г/100 г сырого веса соответственно) до минимальных осенью $5,5 \pm 0,5$ и $2,5 \pm 0,4$ г/100 г сырого веса. В гепатопанкреасе общий уровень липидов достиг максимума зимой и минимума осенью $19,4 \pm 1,9$ и $2,9 \pm 0,4$ г/100 г сырого веса. В зимний период во всех тканях отмечали существенное снижение уровня триацилглицеридов. Состав жирных кислот в сумме всех тканей представлен 23 видами, среди которых 9 – насыщенных 35–40 %, 8 – мононенасыщенных 15–34 % и 6 – полиненасыщенных 5,8–29 %, относящихся к семействам омега-3, 5, 6, 7, 9, 11, 13. Среди доминирующих жирных кислот отмечены пальмитиновая и олеиновая.

Сезонная динамика липидов в тканях ноги, жабр и гепатопанкреаса имела свои общие закономерности: весной наблюдались наиболее высокие значения общих липидов и равномерное распределение структурных и запасных липидов, осенью и зимой – снижение общих липидов, которое сопровождалось увеличением доли структурных липидов. Обнаруженные отличия в составе жирных кислот *C. glaucum* от видового аналога из других регионов связаны с особенностями обитания в псевдолиторальной зоне.

Ключевые слова. Общие липиды, классы липидов, жирные кислоты, двустворчатые моллюски, сезонность, церастодерма

Финансирование. Работа выполнена по теме № 121041400077-1 государственного задания ФИЦ ИнБЮМ РАН “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом”. В работе использовано оборудование НИЛ «Молекулярная и клеточная биофизика» Института перспективных исследований ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет».

Для цитирования: Сезонная динамика липидов тканей двустворчатого моллюска *Cerastoderma glaucum* псевдолиторальной зоны / А. В. Бородина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 558–570. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2528>

Seasonal Dynamics of Tissue Lipids in Bivalve Mollusk *Cerastoderma glaucum* of Supralittoral Zone



Alexandra V. Borodina^{1,*}, Konstantin A. Pimenov¹,
Yuri O. Velyaev², Alexander R. Osokin²

¹ Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia

² Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

Received: 13.11.2023
Revised: 08.12.2023
Accepted: 09.01.2024

*Alexandra V. Borodina: borodinaav@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-8468-8372>
Konstantin A. Pimenov: <https://orcid.org/0009-0008-4516-6924>
Yuri O. Velyaev: <https://orcid.org/0000-0003-0372-2458>
Alexander R. Osokin: <https://orcid.org/0009-0003-5962-1899>

© A.V. Borodina, K.A. Pimenov, Yu.O. Velyaev, A.R. Osokin, 2024



Abstract.

Cerastoderma glaucum is a bivalve mollusk that inhabits the supralittoral zone of the Black Sea. It is a potential object of commercial aquaculture, which makes its lipid profile and adaptation mechanisms a prospective research topic. The authors analyzed the annual patterns in total lipids, phospholipids, polyglycerides, diglycerides, sterols, free fatty acids, and triacylglycerides to obtain the fatty acid profile of *C. glaucum*, harvested from the supralittoral zone of the upper Kazachya Bay, Sevastopol, Russia.

The mollusks were collected in the winter, spring, and autumn of 2021–2022. This research featured their gills, foot, and hepatopancreas. An integrated methodological approach was used to determine total lipids, classify them, and study fatty acids. The total lipid level was 2.4–15.1 g/100 g raw weight. During the year, the dynamics of total lipids in the tissues of foot and gills varied from the highest values in the spring (9.6 ± 1.6 and 4.9 ± 1.9 g/100 g raw weight, respectively) to the lowest in the autumn (5.5 ± 0.5 and 2.5 ± 0.4 g/100 g raw weight, respectively). In the hepatopancreas, it peaked the winter and dropped in the autumn (19.4 ± 1.9 and 2.9 ± 0.4 g/100 g raw weight, respectively). In the winter, all tissue samples demonstrated a significant decrease in triacylglycerides. The composition of fatty acids and total lipids in all tissues included 23 types, i.e., nine saturated (35–40%), eight monounsaturated (15–34%), and six polyunsaturated (5.8–29%) from the families of omega-3, 5, 6, 7, 9, 11, and 13. Palmitic and oleic acids were among the dominant fatty acids.

Seasonal dynamics of lipids in the samples of foot, gills, and hepatopancreas of *C. glaucum* revealed some general patterns. In the spring, total lipids peaked while structural and storage lipids had a uniform distribution. In the autumn and winter, total lipids went down whereas structural lipids increased. The fatty acid profile of *C. glaucum* from the supralittoral zone of the Black Sea differed from those of the same species from other regions.

Keywords. Total lipids, lipid classes, fatty acids, bivalves, seasonality, cerastoderma

Funding. The research was part of State Assignment no. 121041400077-1: *Functional, metabolic, and toxicological aspects of hydrobionts and their populations in biotopes with different physical and chemical conditions* to Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas, Sevastopol. The experiments involved equipment of the Research Laboratory of Molecular and Cellular Biophysics, Institute of Advanced Research, Sevastopol State University, Sevastopol.

For citation: Borodina AV, Pimenov KA, Velyaev YuO, Osokin AR. Seasonal Dynamics of Tissue Lipids in Bivalve Mollusk *Cerastoderma glaucum* of Supralittoral Zone. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):558–570. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2528>

Введение

Чёрное море относится к бесприливным морям, имеющим незначительную амплитуду приливно-отливных колебаний. Псевдолиitoralь располагается в границах колебания прибойных волн, верхняя граница проходит по верхнему краю максимального заплеска, а нижней границей является отсыпь пляжа [1]. Интерес к этим

зонам моря, прежде всего связан с их малоизученностью с одной стороны, и высокой антропогенной нагрузкой с другой [1]. Сообщества гидробионтов, находящиеся в этой зоне, постоянно подвергаются наибольшей рекреационной нагрузке, частым перепадам абиотических факторов среды, в том числе температуры, особенно во время отлива, чтобы адаптироваться к таким пере-

менчивым экологическим условиям, пойкилотермные организмы, к которым относятся двустворчатые моллюски, должны обладать адаптивными механизмами, в которых важную роль выполняют липиды [2].

Липиды являются одним из классов природных соединений, важнейших для функционирования живых организмов. С точки зрения химического строения их можно отнести к веществам с четко выраженной химической структурой, в состав которых входят жирные кислоты и их производные. Общие липиды разделяют на классы, среди которых выделяют: триацилглицериды (или жиры), фосфолипиды, гликолипиды, стероиды, воска, терпены. Их строение позволяет формировать бислои в полярной среде, что сделало их важным компонентом клеточных мембран [3, 4]. Информация о содержании или изменении каждого класса в организме может дать важную информацию для исследователя, например, представление о состоянии мембран (фосфолипиды, гликолипиды и стеринны) или о степени жирового запаса (триацилглицериды). Соотношение структурных и запасных липидов у моллюсков, обитающих в приливно-отливных зонах, когда они подвергаются краткосрочной аноксии во время отлива, отличается от того же вида моллюсков из литоральной зоны [2, 5]. Запасные липиды (в частности, триацилглицериды) используются моллюсками в качестве энергетического источника во время зимнего роста, когда запасы углеводов истощены, а весной – во время активного роста гонад. С интенсивностью обмена, при возрастании общих энергетических потребностей организма, вызванных активностью организма или повышением температуры окружающей среды, возрастает роль резервных энергетических веществ, в том числе нейтральных липидов (триацилглицеридов) [5]. Изучение структурных и запасных липидов моллюсков, обитающих в зоне заплеска воды, на протяжении их годового цикла, может выявить периоды, колебаний структурных и запасных липидов, показав особенности видов, обитающих в таких зонах. Подобные мониторинговые исследования, подчеркивающие роль липидов в процессах адаптации моллюсков, крайне редки [2].

В составе липидов, встречаются группы насыщенных, моновенасыщенных, полиненасыщенных жирных кислот, играющих важную роль в регулировании основных процессов в организме [6]. Следует отметить пищевую ценность группы омега жирных кислот (омега-3, омега-6 и омега-9). Морские двустворчатые моллюски обладают повышенным содержанием триацилглицеридов, полиеновых жирных кислот *n*-3 семейства [7]. Примером таких двустворчатых моллюсков могут быть широко распространенные как в Средиземном, так и в Чёрном морях моллюски *Cerastoderma glaucum* [8, 11, 12]. Этот вид моллюсков, распространенный на Севастопольском побережье Чёрного моря, имеет свои отличия по каротиноидному составу от видового аналога Средиземноморского

и Атлантического регионов Мирового Океана [13]. Особенности и изменения в составе и содержании липидов у моллюсков из разных зон моря, могут быть вызваны не только возникновением факторов стресса (гипоксии, аноксии, сероводородного заражения и т. п.), изменением температуры, солёности, но и изменением спектра питания в местах обитания [2, 5, 7]. Помимо перечисленных факторов на моллюсков-фильтраторов могут оказывать влияние химические токсиканты, часть из которых являются следствием техногенного или антропогенного воздействия, например, пищевой мусор, топливо с морского транспорта и т. п. Компоненты этих загрязнителей могут накапливаться в гидробионтах или подвергаться дальнейшему распаду. Совокупность таких внешних факторов среды обитания в местах вылова промысловых видов двустворчатых моллюсков, может быть рассмотрена как критерий качества промысловой продукции, что находит отражение в ряде публикаций ученых средиземноморских стран [8–11]. Европейскими учеными было установлено, что жирные кислоты, входящие в состав *C. glaucum* могут выступать пищевыми маркерами места сбора этих моллюсков, в их составе были обнаружены жирные кислоты *n*-3, 5, 6, 7, 9 семейств [8–10]. О влиянии источников питания на накопления тех или иных жирных кислот в тканях мидий было отмечено в работах российских ученых [14]. Информация о липидах *C. glaucum* черноморского региона, независимо от глубины обитания, крайне ограничена [15].

Целью данной работы являлось сезонное исследование общих липидов, с последующим разделением их на классы (фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды и стеринны, свободные жирные кислоты, триацилглицериды), а также определение состава жирных кислот в тканях жабр, ноги и гепатопанкреаса) двустворчатого моллюска *C. glaucum* (Bruguère, 1789), псевдолиторальной зоны бухты Казачья Севастопольского побережья Чёрного моря.

Объекты и методы исследования

Объектом исследований являлся двустворчатый моллюск *Cerastoderma glaucum* (Bruguère, 1789), собранный в сублиторальной зоне бухты Казачья г. Севастополя.

Пробы моллюсков отбирали ежемесячно, с декабря по май включительно и с сентября по декабрь, охватывая три сезона: зима, весна и осень 2021–2022 гг. Летом, при повышенных свето-температурных условиях, транспортировка проб и пробоподготовка экстрактов моллюсков, а также проведение анализов были затруднены процессом окисления липидов. Поэтому летний сезон был исключен из исследований.

Каждый месяц отбирали по 5–7 особей, размером не менее 25–30 мм в длину раковины. Наиболее чувствительными к изменениям в среде обитания являются, в первую очередь, жабры, ноги и гепатопанкреас моллюска, поэтому исследования были сосредоточены

на этих трех тканях. Анализ общих липидов и классов липидов для каждой ткани особи проводили отдельно.

При проведении анализа общих липидов и их разделении на классы: фосфолипиды, моноглицериды, диглицериды, стеринны, свободные жирные кислоты и триацилглицериды методом двумерной тонкослойной хроматографии, использовали комплексный методический подход подробно описанный ранее [15]. Фракции диглицеридов и стериннов были объединены ввиду их близкого расположения, которое иногда препятствовало их полному и четкому разделению. При проведении тонкослойной хроматографии использовали пластинки Sorbfil ПТСХ-АФ-А (Краснодар, Россия). Количественный анализ разделенных фракций липидов измеряли денситометрически с использованием сканера HP Scanjet 200 с последующей обработкой файлов с расширением jpg программой ТСХ менеджер 4.0.2.3D [15]. Количественное определение липидных фракций фосфолипидов, диглицеридов, стериннов, свободных жирных кислот, триацилглицеридов представлены в единицах измерения % от общих липидов. Статистическую обработку полученных результатов (описательная статистика, оценка коэффициентов корреляции, дисперсионный анализ) выполняли с применением программы Grapher 7. Все результаты сезонных исследований липидов и их классов представлены на рисунках 2 и 4, в виде диаграмм с указанием среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$).

Хромато-масс-спектрометрическое исследование полученных образцов экстрактов общих липидов на содержание жирных кислот проводили в НИЛ «Молекулярная и клеточная биофизика» ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет» с использованием хроматографа Хроматэк-Кристалл 5000 с масс-спектрометрическим детектором. Пробоподготовка образцов заключалась в растворении липидного экстракта в 180 мкл диметилсульфоксида (ХЧ, АО «ЭККОС-1») и 20 мкл 25 % метанольного раствора тетраметиламмония гидроксида (ХЧ, Sigma-Aldrich), при перемешивании в течение 2 мин., с последующей обработкой 30 мкл йодметаном (ХЧ, Sigma-Aldrich). Полученную смесь выдерживали в течение 20 мин. при комнатной температуре, затем к ней добавляли гексан (ХЧ, АО «ЭККОС-1») и экстрагировали с помощью лабораторного шейкера ПЭ-6300 в течение 5 мин. Полученную жидкую фазу центрифугировали на центрифуге-вортексе Микроспин FV-2400 и гексановый экстракт, содержащий метилированные формы жирных кислот, переносили в виалу для проведения анализа. Объем вводимой в хроматограф пробы составлял 1 мкл. Разделение проводили на капиллярной колонке мл HP-5MS UI (Agilent) с неподвижной фазой 5 %-фенил-, 95 %-метилполисилисан. Длина колонки – 30 м, внутренний диаметр – 0,25 мм, толщина неподвижной фазы – 0,25 мкм. В качестве газа-носителя использовали гелий марки 6,0, расход которого составлял 1 мл/мин. Температурный режим колонки – гра-

диентный с начальной температурой 80 °С, изотермой 2,0 мин. и нагревом 5 °С/мин. до 280 °С. На испарителе деление потока соответствовало 20:1, температура 280 °С, а объем вводимой пробы был 1 мкл. Анализ проводили с использованием масс-спектрометрического детектора с электронной ионизацией (70 эВ) и температурой ионного источника 230 °С. Температура переходной линии составляла 280 °С. Полученный спектр регистрировали в диапазоне масс от 30 до 650 m/z. Для обработки, полученной хромато-масс-спектрометрической информации использовали программное обеспечение Хроматэк Аналитик 3.1 (сборка 3.1.2211.3), NIST MS Search v.2.66.121.82 и библиотека масс-спектров – NIST 2020 с базой данных от 2 июня 2020 года.

Результаты и их обсуждение

Общее содержание липидов в моллюске *Cerastoderma glaucum*, обитающим в псевдолиторальной зоне в течение года колебался в пределах 2,4–15,1 г/100 г сырого веса ткани ($n = 15$). Весной было установлено распределение общих липидов по тканям моллюска с учетом его массово-размерных характеристик (рис. 1). Наибольшая доля приходилась на ногу $32,9 \pm 1,5$ % и гепатопанкреас моллюска $29,30 \pm 1,1$ %, при $p < 0,01$ (рис. 1).

Содержание общих липидов в сумме мягких тканей всего моллюска *C. glaucum* было близким по значению, полученному турецкими исследователями [8]. Распределение общих липидов по тканям было сходным с другими двустворчатými моллюсками, ведущими подвижный образ жизни, когда основными органами, накапливающими общие липиды, становятся гепатопанкреас и нога моллюска. Динамика содержания общих липидов (в г/100 г сырого веса ткани) в жабрах, ноге и гепатопанкреасе моллюска, и распределение классов липидов в течение 3-х сезонов (зимы, весны и осени), показаны на рисунках 2, 3, 4.

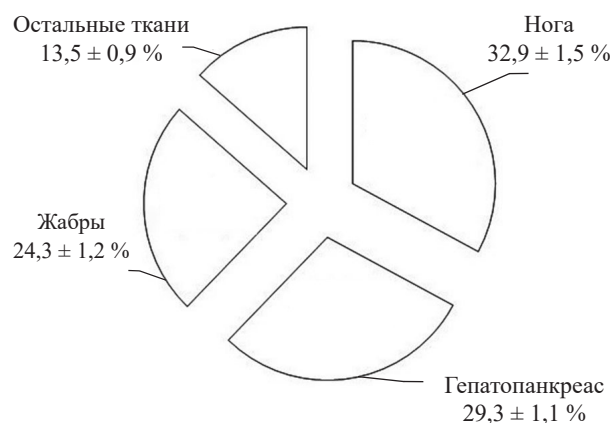


Рисунок 1. Доля общих липидов в тканях моллюска *C. glaucum* с учетом их массово-размерных характеристик.

Figure 1. Share of total lipids in *C. glaucum* based on weight and size

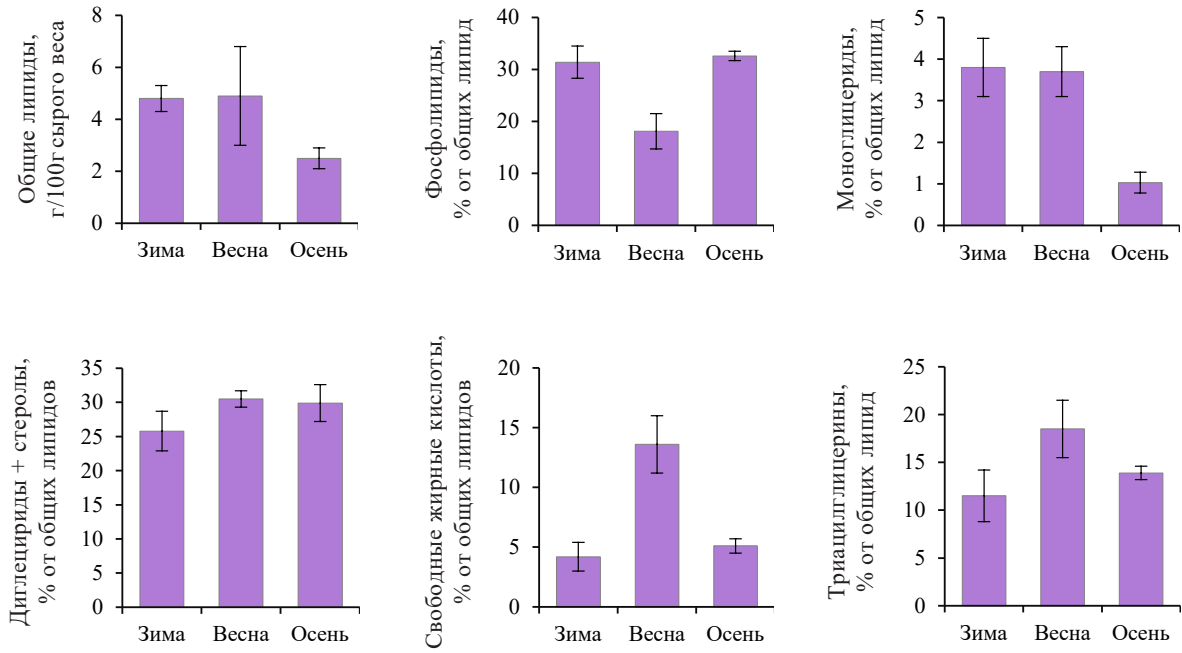


Рисунок 2. Трехсезонная динамика общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов со стеринами, свободных жирных кислот и триацилглицеринов в жабрах моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 2. Total lipids, phospholipids, monoglycerides, diglycerides with sterols, free fatty acids, and triacylglycerols in *C. glaucum* gill tissue: dynamics for winter, spring, and autumn

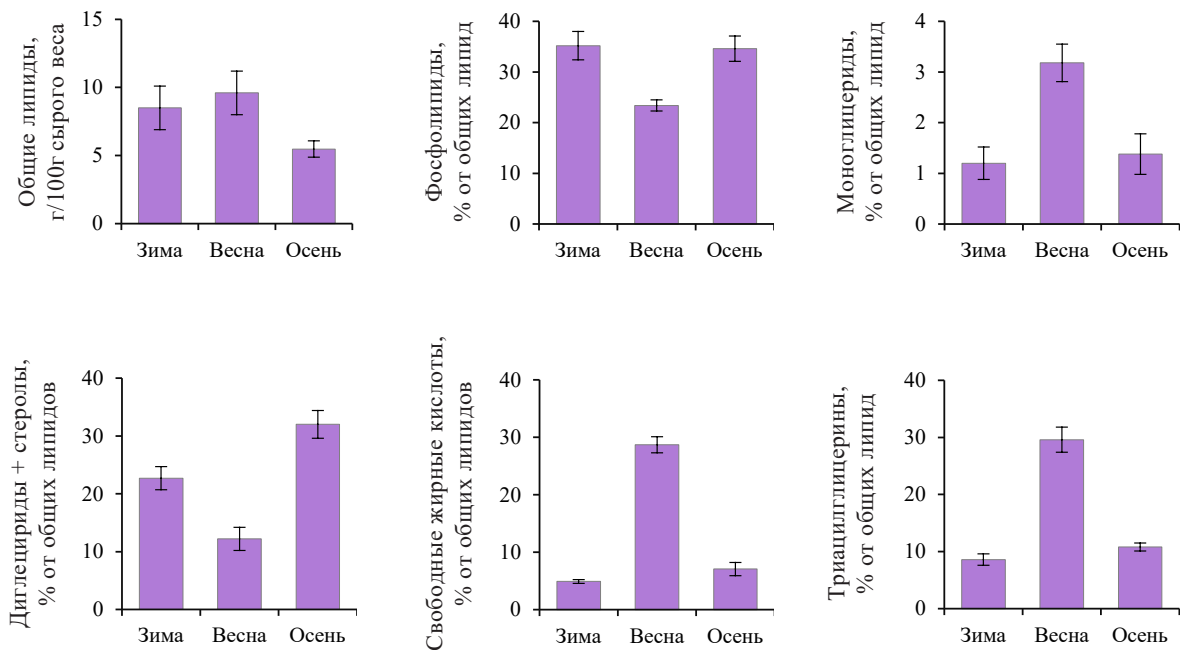


Рисунок 3. Трехсезонная динамика общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов со стеринами, свободных жирных кислот и триацилглицеринов в ноге моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 3. Total lipids, phospholipids, monoglycerides, diglycerides with sterols, free fatty acids, and triacylglycerols in *C. glaucum* foot tissue: dynamics for winter, spring, and autumn

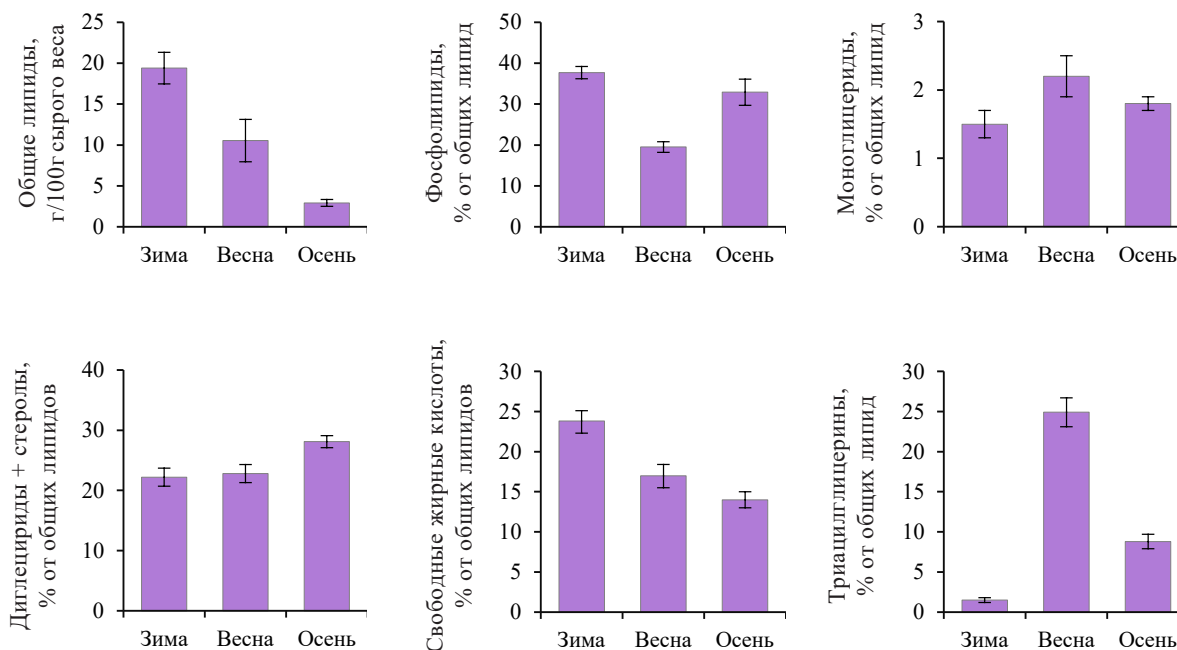


Рисунок 4. Трехсезонная динамика общих липидов, фосфолипидов, моноглицеридов, диглицеридов со стеринами, свободных жирных кислот и триацилглицеринов в гепатопанкреасе моллюска *Cerastoderma glaucum*

Figure 4. Total lipids, phospholipids, monoglycerides, diglycerides with sterols, free fatty acids, and triacylglycerols in *C. glaucum* hepatopancreas tissue: dynamics for winter, spring, and autumn

В жабрах моллюска содержание общих липидов зимой и весной были близкими по значению $4,8 \pm 0,5$ и $4,9 \pm 1,9$ г/100 г с. в., соответственно, при $p < 0,01$, и существенно выше, чем в осенний период $2,5 \pm 0,4$ г/100 г с. в. при $p < 0,01$ (рис. 2). Весной, в период массового развития фитопланктона и активного созревания гонад моллюсков, основная доля липидов в жабрах распределялась между диглицеридами и стеринами $30,5 \pm 1,2$ % от общих липидов, при $p < 0,01$, свободными жирными кислотами и триацилглицеридами $13,6 \pm 2,4$ и $18,5 \pm 3,0$ % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$, за счет относительного снижения доли фосфолипидов $18,1 \pm 3,4$ % общих липидов, при $p < 0,01$ (рис. 2). В целом сезонная динамика структурных липидов в жабрах имела следующую направленность: максимумы фосфолипидов с диглицеридами и стеринами отмечены зимой и осенью, а весной наблюдалось увеличение доли триацилглицеридов, а также свободных жирных кислот.

В ноге моллюска максимальные значения общих липидов наблюдали зимой и весной $8,5 \pm 1,6$, при $n = 17$ и $p < 0,01$; $9,6 \pm 1,6$ г/100 г с. в., при $n = 21$ и $p < 0,01$, соответственно, осенью существенно ниже $5,5 \pm 0,5$ г/100 г с. в., при $n = 17$ и $p < 0,01$. В весенний период в ноге моллюска отмечено увеличение доли моноглицеридов, свободных жирных кислот и триацилглицеридов $3,2 \pm 0,4$; $30,6 \pm 1,8$; $29,6 \pm 1,6$ % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$, на фоне относительного снижения уровня фосфолипидов $23,4 \pm 1,1$ %

от общих липидов, при $p < 0,01$ и диглицеридов и стерин $12,2 \pm 2,0$ % от общих липидов, при $p < 0,01$. Зимой и осенью в этой ткани наблюдалась обратная (весне) закономерность: снижение содержания доли моноглицеридов $1,2 \pm 0,3$ и $1,4 \pm 0,4$ % от общих липидов, при $p < 0,01$, свободных жирных кислот $4,9 \pm 0,3$ и $7,1 \pm 1,1$ % от общих липидов, при $p < 0,01$ и триацилглицеридов $8,6 \pm 1,0$ и $10,8 \pm 0,7$ % от общих липидов, при $p < 0,01$, на фоне относительного увеличения доли диглицеридов и стерин $22,7 \pm 2,0$ и $32,0 \pm 2,4$ % от общих липидов, при $p < 0,01$ и фосфолипидов $35,2 \pm 2,8$ и $34,6 \pm 2,5$ % от общих липидов при, $p < 0,01$ (рис. 3).

В гепатопанкреасе моллюска динамика общих липидов достигает максимума зимой $19,4 \pm 1,9$ (г/100 г с. в., при $p < 0,01$), а в весенний и осенний периоды постепенно снижается ($10,5 \pm 2,6$ и $2,9 \pm 0,4$ г/100 г с. в., соответственно, при $p < 0,01$). Зимой основную долю в общие липиды вносили фосфолипиды $37,7 \pm 1,5$, диглицериды и стерины $22,8 \pm 1,5$, свободные жирные кислоты $23,8 \pm 1,3$, на фоне низкого содержания триацилглицеридов $1,5 \pm 0,3$ % от общих липидов, при $p < 0,01$. Весной, с начала потепления и увеличения светового дня, смены спектра питания на более разнообразный, началом репродуктивного цикла, в гепатопанкреасе моллюска наблюдалось незначительное увеличение моноглицеридов, диглицеридов и стерин $2,2 \pm 0,3$ и $22,8 \pm 1,5$ % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$ и существенное увеличение доли

триацилглицеридов $24,9 \pm 1,8$ % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$, на фоне снижения доли фосфолипидов и свободных жирных кислот $19,5 \pm 1,3$ и $17,0 \pm 1,4$ % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$. Осенью, основной вклад в общие липиды вносили классы фосфолипидов, диглицеридов и стеринов $32,9 \pm 3,2$ и $28,1 \pm 1,0$ % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$, на фоне относительного снижения моноглицеридов, свободных жирных кислот и триацилглицеридов $1,8 \pm 0,1$; $14,0 \pm 1,0$ и $8,8 \pm 0,9$ % от общих липидов, соответственно, при $p < 0,01$ (рис.4).

В течение года, динамика общих липидов в тканях жабр и ноги менялась, от самых высоких значений весной, до минимальных осенью, и постепенно снова восстанавливалась в зимний период, чтобы стать максимальной с потеплением и сменой пищевого спектра на более богатый рацион (рис. 2, 3). В более холодный сезон, зимой, во всех 3-х тканях наблюдалось максимальное снижение уровня запасных липидов (триацилглицеридов), что подробно объясняется на примере других моллюсков [2–4]. Относительный рост общих липидов в тканях происходил за счет структурных липидов. Весной, благодаря повышению температуры и смене рациона на более разнообразный (период весенней сукцессии фитопланктона), содержание общих липидов становится выше, чем зимой. Некоторое снижение общих липидов в гепатопанкреасе, можно объяснить метаболической нагрузкой на этот орган, распределяющий липиды, с учетом активного роста генеративной ткани.

Среди классов липидов, в течение годового цикла во всех тканях у *C. glaucum* доминировали структурные липиды, фракции фосфолипидов, диглицеридов и стеринов, что часто встречается у двустворчатых моллюсков в приливно-отливной зоне [2]. Среди сезонной динамики классов запасных и структурных липидов, особенно выделялся весенний период. В этот период отмечено наиболее равномерное их распределение во всех тканях. Весной мы также наблюдали повышенное содержание свободных жирных кислот, особенно в тканях ноги и жабр, что характерно для подвижных моллюсков в условиях увеличения температуры и смены спектра питания [6]. В этот период мы наблюдали относительное повышение уровня триацилглицеридов во всех тканях, а также наличие в составе жирных кислот 16:0 и 20:1n-7, может быть связано с возникновением компенсаторной реакции на уровне обмена липидов и активации общего метаболизма моллюсков *C. glaucum* при повышении температуры, ранее описанного у мидий [2, 5].

Осенью для всех тканей было характерно смещение накопления липидов в сторону фосфолипидов и диглицеридов, включая стерины (куда входит холестерин), которые занимали в сумме более 2/3 от общих липидов. В зимний период для всех тканей характерно существенное снижение уровня запасных липидов – триглицеридов, на фоне увеличения общих липидов.

Этот эффект связан с наличием ответной реакции по механизму адаптации «гомеовязкости» с участием десатураз, компенсирующих влияние низких температур на вязкость мембран, описанный ранее на примере мидий Белого моря [2].

Тканеспецифичность особенно заметна на накоплении холестерина (группа диглицеридов и стеринов), свободных жирных кислот. Весной показатель диглицеридов и стеринов максимально количественно выражен в жабрах, чуть ниже его уровень в гепатопанкреасе, самый низкий – в ноге. Однако осенью эта группа липидов выравнивается по всем тканям, занимая почти треть от всех липидов, а вместе с фосфолипидами более 2/3 от общих липидов. Гепатопанкреас, как основной орган метаболических реакций и трансформаций липидов, а также их перераспределения, имел отличную от других тканей динамику липидов диглицеридов, стеринов и свободных жирных кислот по 3-м сезонам года. В этом органе отмечено самое низкое содержание запасных липидов зимой. Снижение уровня триацилглицеридов и эфиров холестерина может свидетельствовать об использовании их во время краткосрочной аноксии, в период отлива, в качестве дополнительного источника метаболической энергии [2, 5, 14]. Это было показано ранее на примере мидий из литоральной и sublиторальной зон Белого моря [17]. Моллюски, со сниженным уровнем запасных липидов, становятся более уязвимы к неблагоприятным условиям псевдолиторали, возможно, этот фактор вносил свой вклад в смертность этих моллюсков в данном сообществе за этот период.

Полный состав жирных кислот был изучен в период зимнего сезона. Результаты исследования состава жирных кислот пробы общих липидов представлены на рисунках 5 и 6 (в виде хроматограмм) и в таблице 1.

Из данных рисунка 5 и 6 видно, что проба липидного экстракта имеет многокомпонентный состав, содержащий большое количество примесных компонентов, большинство из которых относится к предельным алифатическим углеводородам, а также различным кремнийсодержащим соединениям. В исследуемой пробе встречаются представители детергентов и полициклических ароматических углеводородов.

Предельные алифатические углеводороды могут поступать в ткани моллюска из его среды обитания, что обусловлено влиянием различных сточных вод в прибрежной зоне, которая в г. Севастополе достаточно плотно освоена различным мореходным транспортом, как гражданского, так и военного назначения. Данный транспорт заправляется стандартным топливом, содержащим подобные компоненты, которые попадают в прибрежные воды и через фильтрующие органы двустворчатых моллюсков попадают в его ткани. Наличие кремнийсодержащих соединений по большей части обусловлено попаданием в пробу силиконов, из которых сделана септа виалы, что, вероятно, происходит при пробоотборе автосаплером хроматографа

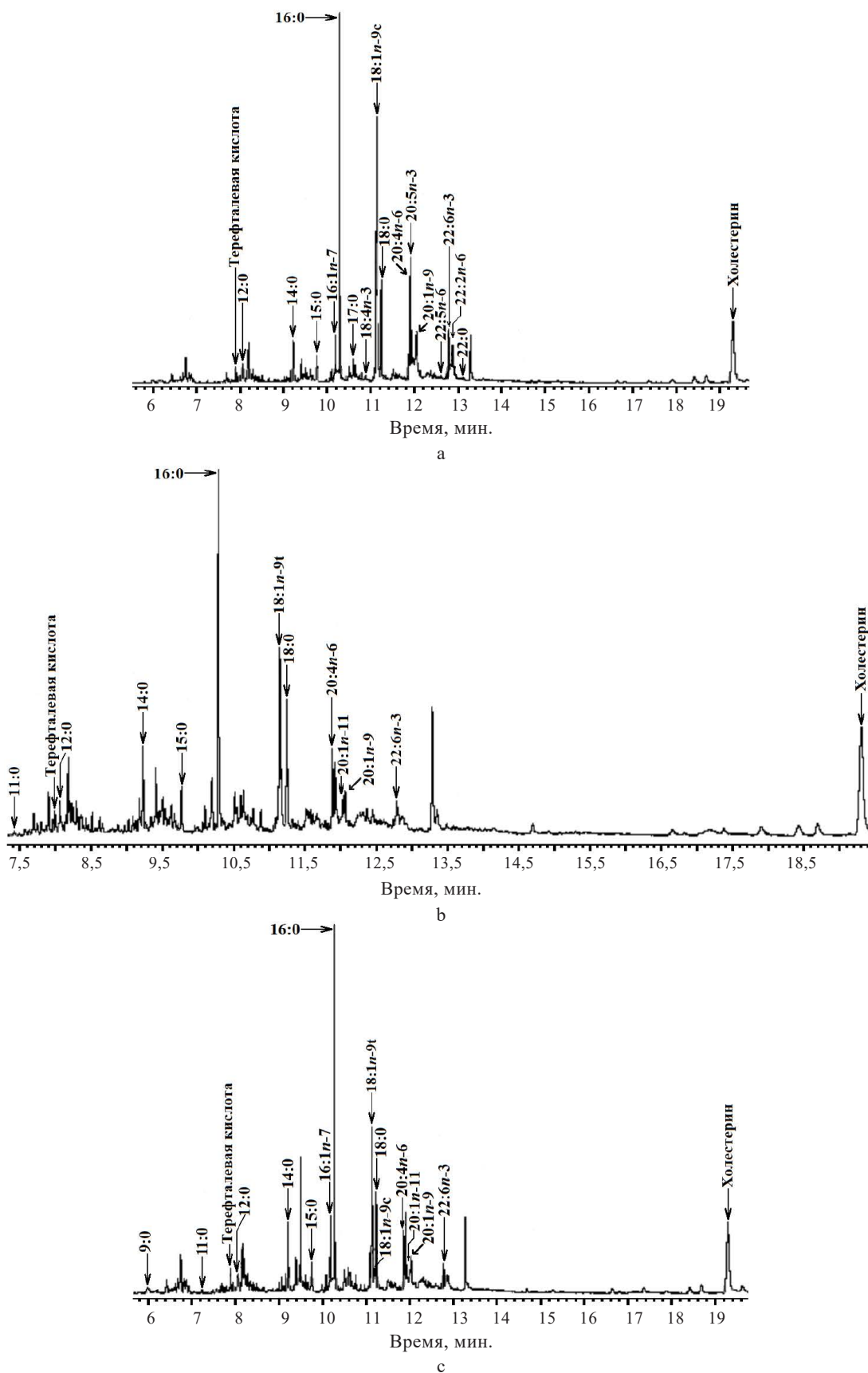


Рисунок 5. Хроматограммы жирных кислот общих липидов тканей моллюска *Cerastoderma glaucum*: а – жабры, б – нога, в – гепатопанкреас

Figure 5. Fatty acids of total lipids in *C. glaucum*, chromatograms: а – gills, б – foot, в – hepatopancreas

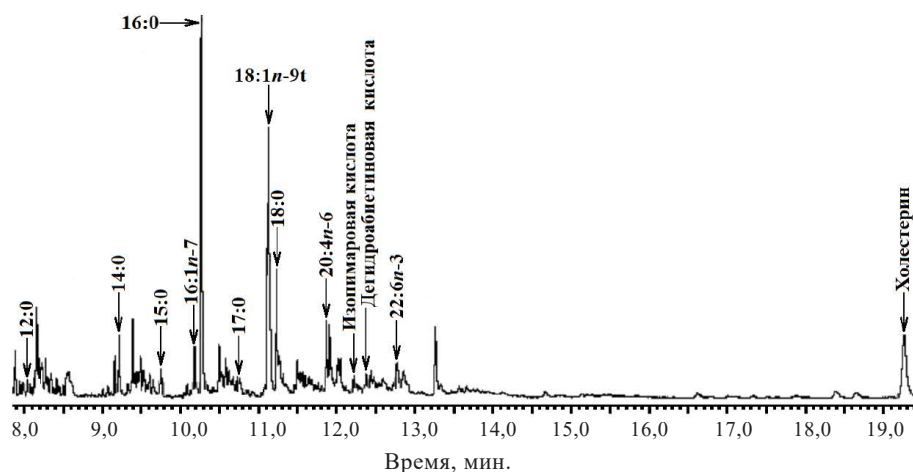


Рисунок 6. Хроматограммы жирных кислот общих липидов тканей моллюска *Cerastoderma glaucum* в сумме остальных тканей.

Figure 6. Fatty acids of total lipids in *C. glaucum*, chromatograms: other tissues

Таблица 1. Состав и содержание жирных кислот, обнаруженных в тканях моллюска *Cerastoderma glaucum*

Table 1. Composition and content of fatty acids in *C. glaucum*

Жирные кислоты	Доля жирных кислот в жабрах от общих липидов, %	Время выхода, мин	Доля жирных кислот в ноге от общих липидов, %	Время выхода, мин	Доля жирных кислот в гепатопанкреасе от общих липидов, %	Время выхода, мин	Доля жирных кислот в остальных тканях от общих липидов, %	Время выхода, мин
Пеларгоновая (9:0)	–	–	–	–	0,64 ± 0,01	5,982	–	–
Ундекановая (11:0)	–	–	0,50 ± 0,01	7,419	0,07 ± 0,00	7,408	–	–
Лауриновая (12:0)	1,13 ± 0,02	8,053	2,54 ± 0,05	8,060	1,46 ± 0,03	8,050	0,96 ± 0,02	8,050
Миристиновая (14:0)	2,56 ± 0,05	9,221	4,64 ± 0,09	9,229	4,21 ± 0,08	9,214	4,26 ± 0,09	9,214
Пентадекановая (15:0)	1,56 ± 0,03	9,763	3,33 ± 0,07	9,770	1,88 ± 0,04	9,755	1,82 ± 0,04	9,755
Пальмитиновая (16:0)	21,75 ± 0,44	10,279	19,45 ± 0,39	10,286	21,01 ± 0,42	10,275	24,75 ± 0,50	10,271
Маргариновая (17:0)	1,37 ± 0,03	10,766	–	–	–	–	1,74 ± 0,03	10,762
Стеариновая (18:0)	6,20 ± 0,12	11,239	7,37 ± 0,15	11,246	6,24 ± 0,12	11,232	6,82 ± 0,14	11,232
Бегеновая (22:0)	0,42 ± 0,01	13,099	–	–	–	–	–	–
НЖК	34,98 ± 0,70		37,82 ± 0,76		35,51 ± 0,71		40,35 ± 0,81	
11-Гексадеценная (16:1n-5)	–	–	–	–	–	–	–	–
Пальмитолеиновая (16:1n-7)	3,23 ± 0,06	10,189	–	–	5,86 ± 0,12	10,182	3,31 ± 0,07	10,185
Цис-олеиновая (18:1n-9c)	7,80 ± 0,16	11,139	–	–	1,47 ± 0,03	11,196	–	–
Элаидиновая (18:1n-9t)	–	–	15,03 ± 0,30	11,142	17,59 ± 0,35	11,131	30,69 ± 0,61	11,131
Гондоевая (20:1n-9)	4,24 ± 0,08	12,035	2,75 ± 0,06	12,063	2,27 ± 0,05	12,052	–	–
Гадолеиновая (20:1n-11)	–	–	3,56 ± 0,07	12,035	3,06 ± 0,06	12,024	–	–
МНЖК	15,27 ± 0,31		21,34 ± 0,43		30,25 ± 0,61		34,00 ± 0,68	
Стеаридоновая (18:4n-3)	0,07 ± 0,01	10,927	–	–	–	–	–	–
Арахидоновая (20:4n-6)	6,30 ± 0,13	11,880	4,61 ± 0,09	11,888	3,04 ± 0,06	11,873	4,14 ± 0,08	11,873
Эйкозапентаеновая (20:5n-3)	9,62 ± 0,19	11,916	–	–	–	–	–	–
Цис-13,16 докозадиеновая (22:2n-6)	6,64 ± 0,13	12,873	–	–	–	–	–	–
4,7,10,13,16-докозапентаеновая (22:5n-6)	0,62 ± 0,01	12,737	–	–	–	–	–	–
Докозагексаеновая (22:6n-3)	5,79 ± 0,12	12,783	3,49 ± 0,07	12,787	2,77 ± 0,06	12,773	3,42 ± 0,07	–
ПНЖК	29,04 ± 0,58		8,10 ± 0,16		5,81 ± 0,12		7,56 ± 0,15	
Холестерин	15,20 ± 0,30	19,302	20,23 ± 0,40	19,309	15,08 ± 0,30	19,298	12,55 ± 0,25	19,270
Контаминанты (терефталевая, дегидроабетиновая и изоимаровая кислоты)	0,61 ± 0,01		1,80 ± 0,04		0,74 ± 0,01		3,01 ± 0,06	

объекта исследования для его дальнейшего перемещения в испаритель хроматографа. Дeterгенты попадают в береговую зону со сточными водами, вследствие их широкого применения в моющих средствах. Однако их содержание в тканях *C. glaucum* относительно мало, что не может привести к серьезному влиянию на все звенья пищевой цепи. Аналогичная ситуация происходит и с полициклическими ароматическими углеводородами, присутствующими на хроматограммах. Несмотря на то, что некоторые их представители фиксируются в хроматограмме, каких-либо особо опасных представителей данного вида обнаружено не было. Для определения большинства полициклических ароматических соединений используются методы жидкостной хроматографии, а не газовой, тем не менее, отдельные представители данных соединений были зафиксированы и данным прибором. Концентрация зафиксированных представителей полициклических ароматических соединений также мала как детергентов.

Отдельный интерес представляют данные по наличию в моллюске таких контаминантов загрязнителей, как терефталевая, дегидроабетиновая и изопимаровая кислоты. Данные об их суммарном содержании приведены в таблице 1. Терефталевая кислота является активным участником процессов получения различных синтетических полимеров, которые на сегодняшний день активно используются для создания пластиковой посуды и контейнеров для еды. Данная кислота обладает низкой растворимостью в воде. Поэтому ее присутствие в воде в виде нерастворимой взвеси из частиц микропластика, является одной из серьезных проблем как в целом в Мировом Океане, так и в прибрежных зонах Крыма [18, 19]. Наличие терефталевой кислоты в гидробионте, указывает на степень экологической нагрузки, которую оказывают на данную область береговой линии г. Севастополя, пищевые отходы от упаковки продуктов питания, попадающие непосредственно в водную среду. Результаты данного исследования показали наличие этого загрязнителя в тканях ноги (около 57 %), жабр (около 21 %), гепатопанкреаса (порядка 22 %), а также отсутствие этого контаминанта в других тканях. Можно предположить, что в организм моллюска данное вещество попадает через жабры, затем накапливается в органе, отвечающим за метаболизм – гепатопанкреасе, а после чего максимально накапливается в мышечном органе (ноге), отвечающим за передвижение. Такое распределение предполагает периодическое, не постоянное, наличие в окружающей среде, так называемого, микропластика. Об этом говорит относительно низкое содержание его в жабрах, постоянно фильтрующих морскую среду, на фоне высокого содержания в мышечном органе, ноге, т. е. процесс накопления длителен и основным накапливающим органом выступает нога моллюска.

Дегидроабетиновая и изопимаровая кислоты являются веществами, которые часто фиксируются, как загрязнители, в сточных водах. Они относятся к отходам,

образующимся в процессе целлюлозно-бумажного производства. При сбросе сточных вод могут попадать в прибрежную зону и накапливаться в организме гидробионтов. Наличие данных кислот зафиксировано в остальных тканях изучаемого моллюска, что свидетельствует о другом способе их проникновения в организм, в отличие от терефталевой кислоты, либо их быстром выведении из наиболее чувствительных тканей (жабр, гепатопанкреаса и ноги). Это может быть связано с формой таких соединений, в которой они присутствуют в окружающей среде моллюска, а именно в жидкой фазе, что характерно для смоляных кислот.

Всего обнаружено более 23 видов жирных кислот, среди которых 9 насыщенных жирных кислот – 35–40 %, 8 мононенасыщенных – 15–34 % и 6 полиненасыщенных – 5,8–29 %, относящихся к семействам омега-3, 5, 6, 7, 9, 11, 13. Основными насыщенными жирными кислотами являлись пальмитиновая (16:0) и стеариновая (18:0), их уровни колебались в пределах 25,6–32,1 % от суммы насыщенных жирных кислот в каждой ткани. Среди мононенасыщенных жирных кислот большая часть приходилась на олеиновую кислоту (18:1n-9), причем в двух изомерных формах (цис- и транс-). Ее содержание колебалось от 7,8 до 30,7 %, в каждой из исследованных тканей. Наличие олеиновой кислоты (18:1n-9) в составе фосфолипидов липидного бислоя двустворчатых моллюсков способствует нормальному функционированию мембран, связанных белков, ионных каналов и рецепторов в условиях зимних температур. Других жирных кислот, участвующих в этих процессах и обнаруженных в составе мидий Белого моря, таких как 18:3, 20:3, 22:4, у *C. glaucum* не выявлено [2, 5, 7]. Среди полиненасыщенных жирных кислот доминировали арахидоновая (20:4n-6) и докозагексаеновая кислоты (22:6n-3), присутствующие во всех исследованных тканях в суммарном количестве 5,8–12,1 %.

Состав жирных кислот имеет связь со спектром питания моллюсков [13]. У *C. glaucum*, обитающей в зоне заплеска воды, обнаружены жирные кислоты – маркеры диатомовых микроводорослей, детрита и зоопланктона, которые ранее были определены у мидий [14].

Большинство жирных кислот моллюски-фильтраторы получают через пищу. Присутствие у *C. glaucum*, псевдолиторальной зоны, эйкозапентаеновой (20:5n-3) и докозагексаеновой кислоты (22:6n-3) отражает наличие специфических адаптаций с характерными структурными и функциональными механизмами в биологических мембранах, в ответ на изменения условий окружающей среды (температуры, солоености и др.) [2].

Несмотря на видовую близость с *Cerastoderma edule* из средиземноморского региона, у черноморской *C. glaucum* состав жирных кислот существенно отличался [9, 10]. У *C. glaucum*, псевдолиторальной зоны, присутствовали: 22:0; 16:1n-5; 18:1n-13c; 18:4n-3; 22:5n-6 жирные кислоты, отсутствовали: 18:2n-6; 18:3n-6;

20:2n-9; 22:2n-9; 22:3n-6; 22:4n-3; 22:5n-3 полиненасыщенные жирные кислоты.

В распределении жирных кислот липидов отмечалась тканеспецифичность. Наибольшее содержание полиненасыщенных жирных кислот характерно для жабр моллюска (эйкозапентаеновая кислота – $9,6 \pm 0,2$ %), мононенасыщенных для гепатопанкреаса и суммы остальных тканей моллюска (олеиновая кислота – $17,6 \pm 0,3$ % и $30,7 \pm 0,6$ % соответственно). Состав насыщенных жирных кислот во всех тканях имел качественные отличия. У *C. glaucum*, псевдолиторальной зоны, в целом уровень полиненасыщенных жирных кислот в исследуемых тканях был существенно снижен, доминировали насыщенные жирные кислоты.

Во всех тканях отмечен относительно высокий уровень холестерина $12,55$ – $20,23$ %, который уступал по содержанию только классам фосфолипидов и диглицеридов в этих же тканях.

Выводы

Общий уровень липидов у моллюска $2,4$ – $15,1$ г/100 г сырого веса сопоставим с результатами исследователей этого вида из других регионов Мирового океана. Распределение общих липидов с учетом массово-размерных характеристик моллюска имело схожесть с другими подвижными видами двустворчатых моллюсков, у которых по содержанию общих липидов доминировали нога и гепатопанкреас. Сезонная динамика общих липидов и классов липидов в тканях жабр, ноги и гепатопанкреаса имела свои общие закономерности. Наиболее высокие значения общих липидов, равномерное распределение структурных и запасных липидов наблюдалось весной. Осенью было отмечено относительное снижение общих липидов, которое сопровождалось ростом уровня структурных липидов до $2/3$ во всех тканях. В зимний период происходило постепенное увеличение общих липидов за счет структурных липидов, на фоне минимального содержания запасных (жиров). На ряду с общими чертами динамики накопления липидов, отмечена специфичность для гепатопанкреаса. Наблюдался значительный перевес в содержании мембранных липидов над запасными во всех 3-х типах тканей в течение всего периода исследований. Общие показатели липидов отражали физиологическую реакцию моллюсков *Cerastoderma glaucum* на частые изменения температуры, и других неблагоприятных факторов, характерных для псевдолиторальной зоны. С этим связано высокое накопление структурных фосфолипидов, в результате процессов направленных на восстановление структуры и функций клеточных мембран.

Состав жирных кислот и общих липидов в зимний сезон в сумме всех тканей представлен 23 видами, среди которых 9 – насыщенных 35–40 %, 8 – мононенасыщенных 15–34 % и 6 – полиненасыщенных жирных кислот 5,8–29 %, относящихся к семействам омега-3, 5, 6, 7, 9, 11, 13. Среди доминирующих жир-

ных кислот во всех тканях отмечались пальмитиновая (в жабрах – $21,75 \pm 0,44$ %; ноге – $19,45 \pm 0,39$ %; гепатопанкреасе – $21,01 \pm 0,42$ %; остальных тканей – $24,75 \pm 0,50$ %) и олеиновая (в жабрах – $7,80 \pm 0,16$ %; ноге – $15,03 \pm 0,30$ %; гепатопанкреасе – $19,06 \pm 0,38$ %; остальных тканей – $30,69 \pm 0,61$ %). Соотношение насыщенных, мононенасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот было в пользу насыщенных жирных кислот во всех тканях. Состав липидов: соотношение структурных и запасных, а также состав жирных кислот у *C. glaucum*, имел существенные отличия от видового аналога из других регионов Мирового Океана, что объясняется влиянием не только общих гидро-экологических, трофических особенностей Чёрного моря, но и влиянием псевдолиторальной зоны, как места обитания моллюсков.

Критерии авторства

А. В. Бородиной предложена тема, осуществлены сухопутные экспедиции по сбору моллюсков, проведено препарирование тканей, получены результаты определения общих липидов и разделения их на классы с помощью тонкослойной хроматографии, исследовано денситометрическое измерение фосфолипидов, моноглицеридов, триацилглицеридов, диглицеридов и стеринов соответственно. А. В. Бородина отвечала за общее оформление работы, написание рукописи, а также за переписку с редакцией.

К. А. Пименовым осуществлялась подготовка к сухопутным экспедициям, проведен сбор моллюсков и частичное определение общих липидов тканей, и разделение их на классы методом тонкослойной хроматографии в зимний и весенний периоды, подготовка диаграмм и поиск литературы по общим липидам и классам липидов у *Cerastoderma glaucum*.

Ю. О. Веляевым была выполнена интерпретация хроматограмм и полученных масс-спектров отдельных соединений зимней пробы общих липидов всех тканей. Ю. О. Веляев принимал активное участие в оформлении рукописи, касающейся описания процесса газохроматографического исследования и пробоподготовки образца, содержащего жирнокислотную фракцию, а также в представлении данных в графическом и текстовом видах.

А. Р. Осокиным был предложен способ дериватизации образцов для газовой хроматографии, содержащих жирнокислотную фракцию, после этого по предложенной схеме была проведена пробоподготовка изучаемых материалов. А. Р. Осокиным был настроен метод ввода пробы, и проведён газохроматографический анализ. Также он принимал активное участие в обсуждении и интерпретации результатов, полученных данных и подборе литературных источников.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.V. Borodina designed the research, i.e., sampling expeditions, tissue preparation, thin-layer chromatography, densitometric measurement, and analysis of the results obtained, as well as drafted the manuscript. K.A. Pimenov organized the expeditions, did the sampling, performed the thin-layer chromatography, designed the graphs, and reviewed scientific publications. Yu.O. Velyaev interpreted the chromatograms and mass spectra, described gas chromatography, prepared the

samples, and represented the data in graphs and text. A.R. Osokin developed a method for derivatizing samples for gas chromatography, configured the sample injection method, carried out the gas chromatography, interpreted the results, and reviewed scientific literature.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Kopyi VG, Bondarenko VG. Atlas of the inhabitants of the pseudolittoral of the Azov-Black Sea coast of Crimea. Sevastopol: IBSS; 2020. 120 p. (In Russ.). <https://doi.org/10.21072/978-5-6044865-1-1>
2. Fokina NN, Nefedova ZA, Nemova NN. Lipid composition of mussels *Mytilus edulis* L. of the White Sea. The influence of some environmental factors. Petrozavodsk: Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences; 2010. 243 p. (In Russ.). [Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Немова Н. Н. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* L. Белого моря. Влияние некоторых факторов среды обитания. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. 243 с.].
3. Murphy DJ. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms. *Progress in Lipid Research*. 200;40(5):325–438. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(01\)00013-3](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(01)00013-3)
4. Narayama T, Riezman H. Understanding the diversity of membrane lipid composition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2018;19:281–296. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.138>
5. Fokina NN, Nefedova ZA, Nemova NN. Biochemical adaptations of marine bivalves to anoxic conditions (Review). *Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2011;(3):121–130. (in Russ.). [Фокина Н. Н., Нефедова З. А., Немова Н. Н. Биохимические адаптации морских двустворчатых моллюсков к аноксии (Обзор) // Труды карельского научного центра российской академии наук. 2011. № 3. С. 121–130.]. <https://www.elibrary.ru/OGHSCR>
6. Parnova RG. Lipids as signaling platforms and signaling molecules. *Zhurnal Evolyutsionnoi Biokhimii i Fiziologii*. 2020;56(7):824–825. <https://doi.org/10.31857/S0044452920072176>; <https://elibrary.ru/IVTPKI>
7. Fokina NN, Ruokolainen TR, Nemova NN, Martynova DM, Sukhotin AA. Fatty acids distribution in seston, tissues, and faecal pellets of blue mussels *Mytilus edulis* L. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2020;495:311–318. <https://doi.org/10.1134/S1607672920060046>
8. Vural P. Monthly variation of biochemical composition of Lagoon Cockle (*Cerastoderma glaucum*, Bruguière, 1789), from Çardak Lagoon (Turkey). *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*. 2022;38:885–893. <https://doi.org/10.1007/s41208-022-00423-7>
9. Ricardo F, Pimentel T, Moreira ASP, Rey F, Coimbra MA, Domingues MR, *et al.* Potential use of fatty acid profiles of the adductor muscle of cockles (*Cerastoderma edule*) for traceability of collection site. *Scientific Reports*. 2015;(5):11125. <https://doi.org/10.1038/srep11125>
10. Ricardo F, Pimentel T, Maciel E, Moreira ASP, Domingues MR, Calado R. Fatty acid dynamics of the adductor muscle of live cockles (*Cerastoderma edule*) during their shelf-life and its relevance for traceability of geographic origin. *Food Control*. 2017;77:192–198. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.012>
11. Mahony KE, Egerton S, Lynch SA, Blanchet H, Goedknecht MA, Groves E. Drivers of growth in a keystone fished species along the European Atlantic coast: The common cockle *Cerastoderma edule*. *Journal of Sea Research*. 2022;179:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2021.102148>
12. Revkov NK. Macrozoobenthos of the Ukrainian shelf of the Black Sea. In: Eremeev VN, Gaevskaya AV, Shulman GE, Zagorodnyaya JuA, editors. *Biological resources of the Black Sea and Sea of Azov*. Sevastopol: ECOSI-Hydrophysics; 2011. pp. 140–162. (In Russ.). [Ревков Н. К. Макрозообентос украинского шельфа Черного моря // под ред. В. Н. Еремеев, А. В. Гаевская, Г. Е. Шульман, Ю. А. Загородняя. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. С. 140–162.].
13. Borodina AV, Zadorozhny PA. The annual dynamics of tissue carotenoids in a bivalve mollusk *Cerastoderma glaucum* (Bruguière, 1789). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2020;56(1):3–12. <https://doi.org/10.1134/S0022093020010019>
14. Fokina NN, Shklyarevich GA, Ruokolainen TR, Nemova NN. Ecological and biochemical monitoring of some intertidal mussel *Mytilus edulis* L. settlements in Kandalaksha Nature Reserve. *Vestnik of MSTU*. 2019;22(2):213–224. (In Russ.) <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2019-22-2-213-224>
15. Borodina AV, Veliyev YuO, Osokin AR. Comprehensive Methodological Approach to Determining Lipids in Clams. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023;53(4):662–671. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2464>; <https://elibrary.ru/JWGHGY>

16. Shcherban SA, Makarov MV, Melnik AV. The understudied bivalve species of the black sea *Cerastoderma glaucum* (bruguiere, 1789) (Cardiidae): distribution and some aspects of biology and physiology. A review. *Ekosistemy*. 2022; (32):73–84. (In Russ.). [Щербань С. А., Макаров М. В., Мельник, А. В. *Cerastoderma glaucum* (Bruguiere, 1789) (Cardiidae) – малоизученный вид двустворчатых моллюсков Черного моря: распространение и некоторые аспекты биологии и физиологии. *Обзор // Экосистемы*. 2022. № 32. С. 73–84.]. <https://www.elibrary.ru/OYBHCX>
17. Nemova NN, Meshcheryakova OV, Lysenko LA, Fokina NN. The assessment of the fitness of aquatic organisms relying on the biochemical status. *Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2014; (5):18–29. (In Russ.). [Немова Н. Н., Мещерякова О. В., Лысенко Л. А., Фокина Н. Н. Оценка состояния водных организмов по биохимическому статусу // *Труды карельского научного центра российской академии наук*. 2014. № 5. С. 18–29.]. <https://www.elibrary.ru/THJTTP>
18. Bagaev A, Esiukova E, Litvinyuk D, Chubarenko I, Subramanian V, Ramadoss V, et al. Investigations of plastic contamination of seawater, marine and coastal sediments in the Russian seas: a review. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021;28:32264–32281. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14183-z>
19. Stokal V, Kuiper EJ, Bak MP, Vriend P, Wang M, van Wijnen J, et al. Future microplastics in the Black Sea: River exports and reduction options for zero pollution. *Marine Pollution Bulletin*. 2022;178:113633. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113633>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2530>
<https://elibrary.ru/KEDBNI>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние биологически активных веществ на тепловой и окислительный стресс модельных объектов *Caenorhabditis elegans*



А. С. Фролова*^{ORCID}, И. С. Миленьева^{ORCID}, А. М. Федорова^{ORCID},
Е. С. Миллер^{ORCID}, С. А. Лузянин^{ORCID}

Кемеровский государственный университет^{ORCID}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 26.06.2024
Принята после рецензирования: 14.08.2024
Принята к публикации: 03.09.2024

*А. С. Фролова: frolova.anna.s@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3988-8521>
И. С. Миленьева: <https://orcid.org/0000-0002-3536-562X>
А. М. Федорова: <https://orcid.org/0000-0002-8071-4411>
Е. С. Миллер: <https://orcid.org/0000-0002-7538-8076>
С. А. Лузянин: <https://orcid.org/0000-0001-9293-4377>

© А. С. Фролова, И. С. Миленьева, А. М. Федорова, Е. С. Миллер,
С. А. Лузянин, 2024



Аннотация.

Большой проблемой современной медицины является предотвращение заболеваний, связанных со старением. Окислительный стресс организма приводит к развитию и прогрессированию различных заболеваний. Активные формы кислорода играют важную роль в осуществлении жизненно важных физиологических процессов. Повышенный уровень активных форм кислорода приводит к стрессу и патологии, но их пониженный уровень способствует нормальному физиологическому состоянию. Исследования адаптогенов растительного происхождения показали многообещающие результаты в отношении стрессоустойчивости и улучшения гомеостаза. С фармакологической точки зрения растительное сырье является подходящим источником химических соединений для лечения различных заболеваний, в том числе вызванных окислительным стрессом.

Объектами исследования являлись биологически активные вещества, выделенные из экстрактов каллусных, суспензионных и корневых культур лекарственных растений: байкалин и транс-коричная кислота из *Scutellaria baicalensis*; урсоловая кислота из *Thymus vulgaris*. Провели оценку нейропротекторной активности биологически активных веществ. Изучили их влияние на экспрессию SOD-3 и HSP-16.2, на накопление карбонилированных белков в организме *Caenorhabditis elegans*. Проанализировали накопление липофусцина в *C. elegans* в присутствии данных биологически активных веществ. Нейропротекторная активность всех исследованных биологически активных веществ падала с уменьшением их концентрации от 200 до 10 мкмоль/л. *C. elegans* в большей степени устойчивы к температурному стрессу после предварительной обработки биологически активными веществами. Нематоды более активно экспрессировали SOD-3, по сравнению с HSP-16.2, в ответ на температурный стресс. Биологически активные вещества продемонстрировали снижение уровня карбонилированных белков при концентрациях 100 мкмоль/л. Наибольшее влияние на снижение уровня карбонилирования белков оказала урсоловая кислота. Наиболее эффективным в ингибировании накопления липофусцина оказалась урсоловая кислота в диапазоне всех испытанных концентраций.

Результаты свидетельствуют о том, что изученные биологически активные вещества способствуют снижению окислительного и теплового стресса. Поэтому целесообразно дальнейшее изучение свойств данных биоактивных соединений для использования в адаптогенных препаратах.

Ключевые слова. Биологически активные вещества, растительное сырье, *Caenorhabditis elegans*, тепловой стресс, окислительный стресс, байкалин, транс-коричная кислота, урсоловая кислота

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Разработка биологически активных добавок, состоящих из метаболитов растительных объектов *in vitro*, для защиты населения от преждевременного старения» (проект FZSR-2024-0008) с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» на базе КемГУ^{ORCID}.

Для цитирования: Влияние биологически активных веществ на тепловой и окислительный стресс модельных объектов *Caenorhabditis elegans* / А. С. Фролова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 571–584. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2530>

Effect of Biologically Active Substances on Thermal and Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans* Models



Anna S. Frolova*^{ID}, Irina S. Milentyeva^{ID}, Anastasiya M. Fedorova^{ID},
Ekaterina S. Miller^{ID}, Sergey L. Luzyanin^{ID}

Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

Received: 26.06.2024
Revised: 14.08.2024
Accepted: 03.09.2024

Anna S. Frolova: frolova.anna.s@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3988-8521>
Irina S. Milentyeva: <https://orcid.org/0000-0002-3536-562X>
Anastasiya M. Fedorova: <https://orcid.org/0000-0002-8071-4411>
Ekaterina S. Miller: <https://orcid.org/0000-0002-7538-8076>
Sergey L. Luzyanin: <https://orcid.org/0000-0001-9293-4377>

© A.S. Frolova, I.S. Milentyeva, A.M. Fedorova, E.S. Miller, S.L. Luzyanin, 2024



Abstract.

Modern medicine strives to prevent age-related diseases. Oxidative stress is associated with development and progression of various diseases. Reactive oxygen species are part of vital physiological processes. High levels of reactive oxygen lead to stress and pathology whereas low ones are associated with healthy physiology. Plant-derived adaptogens demonstrate good results in stress tolerance and homeostasis. Plant materials are a pharmacologically optimal source of chemical compounds to treat various diseases, including those caused by oxidative stress.

The research featured biologically active substances isolated from extracts of callus, suspension, and root cultures of medicinal plants. Baicalin and trans-cinnamic acid were obtained from *Scutellaria baicalensis* while ursolic acid came from *Thymus vulgaris*. The biologically active substances were tested for neuroprotective properties, as well as for the impact on the expression of SOD-3 and HSP-16.2. *Caenorhabditis elegans* served as a model to study the accumulation of carbonylated proteins and lipofuscin.

The neuroprotective activity of all tested substances decreased as their concentration fell from 200 to 10 $\mu\text{mol/L}$. *C. elegans* proved more resistant to thermal stress if pretreated with the biologically active substances. In response to thermal stress, nematodes expressed SOD-3 more actively than HSP-16.2. At 100 $\mu\text{mol/L}$, the biologically active substances could reduce the level of carbonylated proteins. Ursolic acid was especially effective against protein carbonylation and lipofuscin accumulation in all concentrations.

Baicalin, trans-cinnamic acid, and ursolic acid made it possible to reduce oxidative and thermal stress, thus demonstrating good prospects for further studies as part of adaptogenic preparations.

Keywords. Biologically active substances, *Caenorhabditis elegans*, thermal stress, oxidative stress, baicalin, trans-cinnamic acid, ursolic acid

Funding. The research was part of State Assignment FZSR-2024-0008: Biologically active additives with plant metabolites against premature aging: *in vitro* studies. The experiments were conducted on the premises of the Applied Biotechnology Center for Collective Use, Kemerovo State University^{ROR}.

For citation: Frolova AS, Milentyeva IS, Fedorova AM, Miller ES, Luzyanin SL. Effect of Biologically Active Substances on Thermal and Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans* Models. Food Processing: Techniques and Technology. 2024; 54(3):571–584. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2530>

Введение

Старение сопровождается нарушением регуляции адаптационных процессов. С одной стороны, механизмы физиологической адаптации, такие как обучение и память, пластичность иммунной системы и ремоделирование мышц в зависимости от физических упражнений, притупляются. С другой стороны, с возрастом проявляются заболевания соединитель-

ной ткани и усиливаются некоторые дезадаптивные процессы, включая рак, патологическое ремоделирование сердечно-сосудистой системы и метаболическую дисрегуляцию [1, 2].

Окислительный стресс является важным компонентом, участвующим в развитии и прогрессировании различных заболеваний. Активный кислород, хотя и жизненно важен для нашего организма, наносит

значительный ущерб основным компонентам клеточной системы и нарушает физиологически важные функции белков, липидов, ферментов и дезоксирибонуклеиновой кислоты, несущих генетический код. Окисление белков способствует модификации каталитической и структурной целостности различных важных белков, что приводит к формированию различных заболеваний, включая диабет, атеросклероз, муковисцидоз и язвенный колит [3].

Первоначально окислительный стресс определялся как нарушение равновесия между прооксидантами и антиоксидантами в биологических системах. Как только появляется этот дисбаланс, клеточные макромолекулы могут быть повреждены преобладающими свободными радикалами. Это приводит к окислительным модификациям генома, белков, структурных углеводов и липидов; в последнем случае происходит перекисное окисление липидов. Оно представляет собой процесс, связанный со свободными радикалами, который в биологических системах может происходить под ферментативным контролем, например, для образования медиаторов воспаления липидного происхождения, или неферментативный процесс. Эта более поздняя форма в основном связана с повреждением клеток в результате окислительного стресса, а при расщеплении гидропероксидов липидов в биологических системах образуется большое разнообразие альдегидов, таких как малоновый диальдегид и 4-гидроксиноненаль [4].

Активные формы кислорода играют роль в осуществлении жизненно важных физиологических процессов. Повышенные уровни активных форм кислорода приводят к стрессу и патологии, пониженные уровни активных форм кислорода связаны с нормальными физиологическими состояниями [5, 6]. Окисление клеток предотвращается антиоксидантами, которые присутствуют в организме и играют основную роль в защитном механизме [7]. Антиоксиданты подавляют реакции, вызванные свободными радикалами, и в конечном итоге предотвращают или задерживают повреждение клеток. Антиоксиданты прекращают окислительные цепные реакции, связываясь со свободными радикалами и отдавая им свои электроны, тем самым делая свободные радикалы недоступными для дальнейшей атаки. После отдачи своих электронов антиоксиданты достигают состояния свободных радикалов. Следовательно, они не являются вредными, поскольку обладают способностью адаптироваться к изменениям в электронах, не будучи при этом реактивными [8].

Токсичные активные формы кислорода образуются в результате поступления восстановленного электронами кислорода в митохондрии и способствуют развитию окислительного стресса [9]. Одним из важных белков, каталитически удаляющих O_2^- , является супероксиддисмутаза (СОД). Супероксиддисмутаза – это фермент, экспрессируемый геном *sod-1-5*, который участвует в преобразовании супе-

роксидного анион-радикала в кислород и пероксид водорода. Существует несколько форм супероксиддисмутазы: СОД-1 (CuZnSOD – гомодимер 32 кДа), СОД-2 (MnSOD – гомотетрамер 96 кДа) и СОД-3 (внеклеточная Cu-Zn – гомотетрамер 135 кДа) [10]. СОД-3 – это гликопротеин, который содержится во внеклеточном матриксе, а также присутствует на поверхности клеток сосудов и в эпителиальных клетках дыхательных путей. Белок закреплен на протеогликанах гепарина сульфата в гликокаликсе клеточных поверхностей. Экстракт апельсина, содержащий гесперидин, ванилиновые кислоты, рутин и другие вещества, проверяли на диком штамме *Caenorhabditis elegans* N2. После 5-дневного воздействия экстрактом в концентрации 200 и 400 мг/мл происходило увеличение уровня активности экспрессии супероксиддисмутаза в 1,7 и 2,9 раза соответственно. В результате транскрипционный анализ показал, что экстракт апельсина активировал экспрессию генов *age-1* и *daf-16* в пути IIS, генов *sek-1* и *skn-1* в пути MAPK и генов антиоксидантов, включая SOD-3 и *gst-4* [11]. Белок HSP-16.2 является полипептидом, молекулярная масса которого лежит в диапазоне от 12 до 43 кДа. HSP-16.2 относят к классу малых белков теплового шока (sHSP). Белки теплового шока помогают связать неправильно свернутые белки в определенный комплекс sHSP/субстрат. Данная функция помогает изолировать поврежденные белки от других макромолекул. Происходит защита субстрата от деградации. По сравнению с другими классами, при окислительном и тепловом стрессе в первую очередь экспрессируются белки sHSP [12]. В геноме червей *C. elegans* находится 16 генов, кодирующих 14 sHSP разного рода. Тепловой шок у *C. elegans* контролируется HSF и факторами транскрипции за счет активации гена HSP-16.2. Этот факт был выявлен в процессе исследования мутагенеза промотера HSP-16.2 [13].

Как продукт окислительного стресса, процесс карбонилирования белка, возникающий вследствие нуклеофильной атаки остатков гистидина, лизина и цистеина, является чувствительным к сигнальным механизмам, связанным с окислением и восстановлением. Окислительно-восстановительные сигнальные механизмы влияют на аутофагию, пролиферацию клеток, апоптоз и транскрипционный контроль [14]. Процесс является иницирующим фактором митохондриальной дисфункции и стресса, возникающего в эндоплазматическом ретикулуме, что показывает механистическую связь между метаболическими болезнями и окислительным стрессом. Процесс образования карбонилированных белков является одним из маркеров заболеваний, таких как расстройство Альцгеймера и Паркинсона, диабет, хронические заболевания легких, катарактогенез и других связанных с возрастом болезней [15]. Возникновение патологий происходит, когда увеличивается окислительный стресс и за счет карбонилирования белка накапливается и увеличи-

вается его гидрофобность. Данная физико-химическая модификация, а также неправильное сворачивание белка ведут к выработке агрегатов, имеющих пониженное свойство к деградации [16].

Адаптогены способны ускорять или замедлять ряд функций организма в зависимости от потребностей в данный момент. Исследования адаптогенов растительного происхождения показали многообещающие результаты в отношении стрессоустойчивости и улучшения гомеостаза. Их общими свойствами являются антиоксидантные, ноотропные (которые также известны как эффект улучшения когнитивных функций) и усиление физической выносливости [17]. Обширные исследования лекарственных растений в последние десятилетия предоставили все больше доказательств того, что они проявляют поливалентную неспецифическую фармакологическую активность, влияющую на многие физиологические функции и регуляторные системы человека [18]. Механизм действия адаптогенов связан с осью гипоталамус-гипофиз-надпочечники – функциональной частью нейроэндокринно-иммунного комплекса, известного под общим названием «система стресса». Она регулирует адаптивность, выживаемость и устойчивость организма к стрессу и прогрессированию возрастных нарушений, включая нейродегенеративные заболевания (болезнь Альцгеймера, Паркинсона), атеросклероз, сердечно-сосудистые заболевания, метаболические заболевания (диабет 2 типа, ожирение и гипертония), мышечная дегенерация (саркопения), дегенеративные заболевания суставов (остеоартрит), рак и др. [19].

С фармакологической точки зрения растительное сырье является подходящим источником химических соединений для лечения различных заболеваний, в том числе вызванных окислительным стрессом. Антиоксидантная активность растений связана с их химическим составом, а именно наличием биологически активных веществ (полифенолов, витаминов, органических кислот и т.д.). Изучение перспективных биологически активных веществ из растительного сырья актуально для использования при лечении наиболее серьезных заболеваний, в том числе для нормализации окислительно-восстановительного баланса в организме [20, 21].

Для изучения роли окислительного и теплового стресса *in vivo* использовали *C. elegans*. Животные *C. elegans* являются отличной моделью изучения механизмов биологической активности соединений при окислительном стрессе [22]. В организме червя консервированный сигнальный путь инсулин/инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) контролирует различные метаболические процессы, устойчивость к окислительному стрессу [23]. Данный путь стал основной биологической мишенью при исследовании различных эффектов биологически активных веществ.

Целью данного исследования является изучение влияния биологически активных веществ, выделенных

из экстрактов каллусных, суспензионных и корневых культур лекарственных растений Сибирского федерального округа, на окислительный и тепловой стресс модельных объектов *C. elegans*.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования в работе являлись:

- Штамм почвенных трансгенных нематод *Caenorhabditis elegans* CL4176 (dvIs27[myo-3p:Aβ(1-42):let-851 3'UTR]+rol-6(su1006)], являющийся модельной системой изучения болезни Альцгеймера на нематодах и предоставленный лабораторией разработки инновационных лекарственных средств и агробιοтехнологий, «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (Долгопрудный, Россия) [23].
- Штамм *Escherichia coli* OP50, предоставленный институтом молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН (Москва, Россия).
- Индивидуальные биологически активные вещества (степень очистки не менее 95 %), выделенные из экстрактов каллусных, суспензионных и корневых культур лекарственных растений Сибирского федерального округа, полученные на предыдущих этапах исследований: байкалин из шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*); транс-коричная кислота из шлемника байкальского (*S. baicalensis*); урсоловая кислота из тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*) [25].

Требования к постановке эксперимента с нематодами. Эксперименты проводили в стандартных условиях, в соответствии с основными рекомендациями по работе с трансгенными нематодами [26]. Популяция взрослых особей *C. elegans* во всех экспериментах была синхронизирована. Щелочной лизис животных проводили при достижении ими половозрелой стадии развития L4, который в экспериментах составил 72 ч. Эксперименты ставили в 96-луночных планшетах (Эппендорф, США) в жидкой S-среде для культивирования нематод в объеме 150 мкл, при температуре 15 °С в климатической камере Binder (Германия). В качестве еды нематод использовали бактерии *E. coli* OP-50, которые вносили один раз в начале эксперимента до конечной концентрации 5 мг/мл.

Методика культивирования нематод в жидкой среде. К синхронизированным нематодам в стадии L1, находящимся в S-среде, добавляли ночную бактериальную культуру *E. coli* OP50, предварительно отмытую от LB-бульона и ресуспендированную в S-среде, до конечной концентрации бактерии 0,5 мг/мл. Вносили по 120 мкл суспензии нематод с бактерией в каждую ячейку 96-луночного планшета, заклеивали планшет пленкой и оставляли на 48 ч на инкубацию при 20 °С. По истечении 48 ч добавляли по 15 мкл 1,2 мМ 5-фтор-2-дезоксисуридин (FUDR) в каждую ячейку планшета для предотвращения репродуктивной функции червей и оставляли на 24 ч при температуре 20 °С до достижения червями стадии L4. Затем добавляли по 15 мкл

тестируемых химических соединений или растительного экстракта в ячейки к нематодам в соответствии со схемой постановки эксперимента.

Методика подготовки биологически активных веществ к работе. Индивидуальные биологически активные вещества растворили в DMSO (ЛенРеактив, Россия) до концентрации 10 ммоль/л. Затем провели титрование каждого биологически активного вещества путем разведения стокового раствора дистиллированной стерильной водой до стоковых концентраций биологически активных веществ 2000, 1000, 500 и 100 мкмоль/л. При изучении нейропротекторной активности биологически активных веществ добавляли по 15 мкл каждого стокового раствора к 135 мкл культивируемых нематод в каждую ячейку 96-луночного планшета в соответствии со схемой постановки эксперимента. Получали рабочую концентрацию тестируемого биологически активного вещества 200, 100, 50 и 10 мкмоль/л соответственно.

Нейропротекторная активность биологически активных веществ в организме *C. elegans*. Для оценки нейропротекторной активности биологически активных веществ готовили стоковые растворы рутин в диметилсульфоксиде, концентрация раствора составила 200, 100, 50 и 10 мкмоль/л. Нематод распределяли в ячейки планшета, затем добавляли в каждую ячейку по 15 мкл раствора БАВ. Выдерживали планшет 48 ч при температуре 15 °С до достижения нематодами стадии роста L3, затем переносили планшет для инкубирования в термостате при температуре 25 °С для индуцирования экспрессии бета-амилоида A β (1-42) в мышечных клетках нематод, вызывающих парализацию локомоторной подвижности животных. Проводили мониторинг физиологических изменений, произошедших с мутантными нематодами в условиях индуцирования парализации при температуре 25 °С. Подсчет количества парализованных нематод, вели через 18, 40 и 62 ч по методике J. Drake и соавторов [24]. Контрольные нематоды без добавления испытуемых образцов находились в тех же условиях, что и тестируемые соединения. Проводили эксперимент в шестикратной повторности для каждой тестируемой концентрации биологически активных веществ.

Методика оценки влияния индивидуальных БАВ на экспрессию SOD-3 и HSP-16.2 в организме *C. elegans*. Постановка эксперимента, серия «А» для оценки уровня экспрессии SOD-3 в нематодах. К синхронизированным нематодам в стадии L1, находящимся в S-среде, добавляли ночную бактериальную культуру *E. coli* OP50, предварительно отмытую от LB-бульона и ресуспендированную в S-среде, до конечной концентрации бактерий 0,5 мг/мл. Вносили по 900 мкл суспензии нематод стадии L1 с бактериями в каждую ячейку 24-луночного планшета, добавляли по 100 мкл каждого из тестируемых биологически активных веществ и экстрактов лекарственных расте-

ний в ячейку к нематодам, в соответствии со схемой постановки эксперимента, заклеивали планшет пленкой и оставляли на 72 ч при температуре 20 °С до достижения нематодами стадии развития L4, затем переставляли планшет в инкубатор на 35 °С на 5 ч. По истечении 5 ч остужали планшет на льду, переносили испытуемые нематоды в пробирку типа Эппендорф, центрифугировали при 1000 g в течение 2 мин., удаляли надосадочную жидкость и немедленно замораживали осадок нематод при температуре –86 °С до времени выделения РНК. Эксперимент проводился с 2-кратным повтором для каждого биологически активного вещества или экстракта с таким расчетом, чтобы получить не менее 1000 нематод для каждого тестируемого условия.

Постановка эксперимента, серия «Б» для оценки уровня экспрессии HSP-16.2 в нематодах. К синхронизированным нематодам в стадии L1, находящимся в S-среде, добавляли ночную бактериальную культуру *E. coli* OP50, предварительно отмытую от LB-бульона и ресуспендированную в S-среде, до конечной концентрации бактерии 0,5 мг/мл. Вносили по 900 мкл суспензии нематод с бактерией в каждую ячейку 24-луночного планшета и инкубировали 48 ч при температуре 20 °С до достижения нематодами стадии L4. По истечении 48 ч переставляли планшет в инкубатор на 35 °С на 2 ч. По истечении 2 ч остужали планшет до 20 °С, добавляли по 100 мкл биологически активных веществ или экстрактов лекарственных растений в соответствии со схемой постановки эксперимента, продолжали инкубацию нематод в течение 5 суток при температуре 20 °С. После этого переносили испытуемые нематоды в пробирку типа Эппендорф, центрифугировали при 1000 g в течение 2 мин., удаляли надосадочную жидкость и немедленно замораживали осадок нематод при температуре –86 °С до времени выделения РНК. Эксперимент проводили с 2-кратным повтором для каждого экстракта с таким расчетом, чтобы получить не менее 1000 нематод для каждого тестируемого условия.

Методика оценки влияния индивидуальных биологически активных веществ на накопление карбонилированных белков в организме *C. elegans*. Регистрацию количественных изменений в уровне содержания карбонилированных белков в организме нематод после 5 суток инкубации в присутствии биологически активных веществ проводили на высокопроизводительном, автоматизированном микроскопе ImageXpress Mico XL (Molecular Devices, США), широко используемом для мультипараметрического фенотипического скрининга и анализа цифровых изображений объектов в 96-луночных планшетах. Управление процессом съемки и анализа изображений на ImageXpress Mico XL осуществляется через единое программное обеспечение MetaXpress (Molecular Devices, США). Высокоскоростную съемку изображений проводили с использованием сухого объектива с 4-кратным

увеличением в проходящем видимом свете и на канале флуоресцентного красителя Су3-NHS (коэффициент экстинкции – 150 000 1/моль×см). Для анализа изображений использовали бесплатную программу Cell-Profiler 4.2.1 [27].

Методика измерения накопления липофусцина в присутствии биологически активных веществ. Для измерения накопления липофусцина в организме *C. elegans* выбран метод спектрофлуориметрического измерения и анализа. Измерения проводились на спектрофотометре BMG Clariostar при 340/420 нм. Автоматически экспортировали результаты измерений в программу Excel. Полученные спектрометрические данные обрабатывали с использованием программы GraphPad Prism, версия 9.0.0 (GraphPad Software, Inc., США) с целью получения среднего значения автофлуоресценции липофусцина для шести экспериментальных повторов, а также стандартного отклонения от среднего значения (\pm SEM). Данные считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Нейропротекторная активность биологически активных веществ в организме *Caenorhabditis elegans*. Особенность трансгенного штамма *C. elegans* CL4176 состоит в том, что в геноме нематод дикого типа встроен температурно-чувствительный ген бета-амилоидного пептида $A\beta(1-42)$, экспрессия которого в мышечных клетках при температуре 25 °C вызывает парализацию нормальной локомоторной подвижности животных вследствие нейротоксического действия $A\beta(1-42)$ отложений в мышцах нематод. В ходе выполнения работы были поставлены задачи не только оценить нейропротекторную активность каждого биологически активного вещества в отдельности по сравнению с контрольными нематодами, но также изучить продолжительность защиты парализованных животных от нейротоксического действия бета-амилоида $A\beta(1-42)$ после обработки биологически активных веществ. Результаты подсчета числа парализованных нематод представлены в таблицах 1–3.

Таблица 1. Среднее число парализованных нематод, шт., в эксперименте по изучению нейропротекторной активности байкалина из *Scutellaria baicalensis* в организме *Caenorhabditis elegans*

Table 1. Neuroprotective activity of baicalin from *Scutellaria baicalensis* in *Caenorhabditis elegans*: average count of paralyzed nematodes

Время выдержки, ч	Концентрация биологически активных веществ, мкмоль/л				Контроль
	200	100	50	10	
0	11,5 \pm 0,3	19,8 \pm 0,5	21,0 \pm 0,6	18,0 \pm 0,5	18,0 \pm 0,5
18	0,5 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1	6,0 \pm 0,2	5,2 \pm 0,2	11,2 \pm 0,3
40	0,7 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1	14,5 \pm 0,4	3,6 \pm 0,1	12,7 \pm 0,3
62	2,5 \pm 0,1	3,3 \pm 0,1	17,5 \pm 0,5	2,9 \pm 0,1	15,2 \pm 0,4

Таблица 2. Среднее число парализованных нематод, шт., в эксперименте по изучению нейропротекторной активности транс-коричной кислоты из *Scutellaria baicalensis* в организме *Caenorhabditis elegans*

Table 2. Neuroprotective activity of trans-cinnamic acid from *Scutellaria baicalensis* in *Caenorhabditis elegans*: average count of paralyzed nematodes

Время выдержки, ч	Концентрация биологически активных веществ, мкмоль/л				Контроль
	200	100	50	10	
0	17,0 \pm 0,4	17,2 \pm 0,4	21,5 \pm 0,4	14,8 \pm 0,3	18,0 \pm 0,5
18	2,2 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	11,2 \pm 0,3
40	7,5 \pm 0,2	7,7 \pm 0,2	4,7 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	12,7 \pm 0,3
62	9,5 \pm 0,4	10,5 \pm 0,2	10,2 \pm 0,2	7,0 \pm 0,1	15,2 \pm 0,4

Таблица 3. Среднее число парализованных нематод, шт., в эксперименте по изучению нейропротекторной активности урсоловой кислоты из *Thymus vulgaris* в организме *Caenorhabditis elegans*

Table 3. Neuroprotective activity of ursolic acid from *Thymus vulgaris* in *Caenorhabditis elegans*: average count of paralyzed nematodes

Время выдержки, ч	Концентрация биологически активных веществ, мкмоль/л				Контроль
	200	100	50	10	
0	17,5 \pm 0,4	20,5 \pm 0,4	21,5 \pm 0,4	23,8 \pm 0,5	18,0 \pm 0,5
18	0	0,3 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	4,8 \pm 0,1	11,2 \pm 0,3
40	1,0 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	10,0 \pm 0,2	12,7 \pm 0,3
62	4,0 \pm 0,1	3,8 \pm 0,1	10,2 \pm 0,2	19,3 \pm 0,4	15,2 \pm 0,4

По окончании эксперимента подсчитывали процент парализованных нематод относительно общего числа животных для каждого тестируемого биологически активного вещества в концентрациях 10, 50, 100 и 200 мкмоль/л и сравнивали его с процентом парализованных контрольных нематод, не обработанных биологически активными веществами. Результаты представлены на рисунках 1–3.

Нейропротекторная активность всех испытанных биологически активных веществ является концентрационно зависимой. Она падает с уменьшением концентрации биологически активных веществ от 200 до 10 мкмоль/л. Показана зависимость продолжительности защиты парализованных нематод в результате нейротоксического действия бэ́та-амилоида $A\beta(1-42)$ от длительности инкубации животных в присутствии биологически активных веществ при более высокой температуре 25 °С. Для всех биологически активных веществ нейропротекторная активность снижается при увеличении длительности экспозиции в диапазоне от 18 до 62 часов инкубации.

Наибольшая нейропротекторная активность показана для урсоловой кислоты из *T. vulgaris*, как для всего диапазона концентраций от 200 до 10 мкмоль/л, так и при выдерживании от 18 до 62 часов при 25 °С. Урсоловая кислота, единственная из всех испытанных биологически активных веществ, которая при концентрации 200 мкмоль/л полностью ингибирует парализацию нематод при 18-часовой инкубации при температуре 25 °С. Урсоловая кислота единственная из всех испытанных биологически активных веществ проявляет нейропротекторную активность при самой

низкой концентрации 10 мкмоль/л, при которой процент парализованных нематод был в 1,6 раз ниже после 40 ч инкубации при температуре 2 °С, по сравнению с контрольными животными.

Байкалин из *S. baicalensis* по нейропротекторной активности лишь незначительно уступает урсоловой кислоте по количественным показателям значений

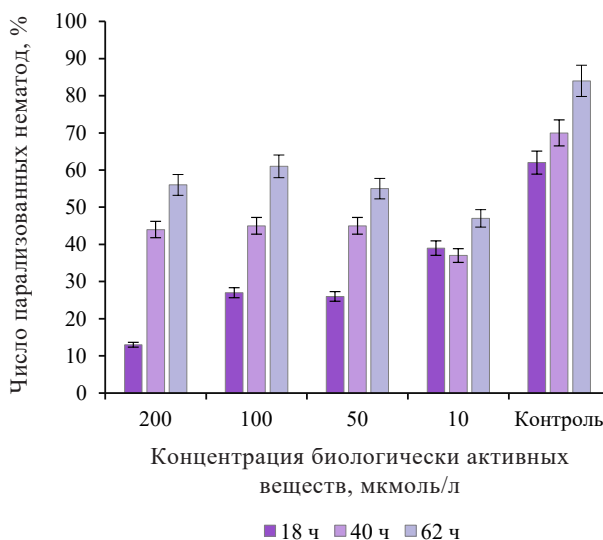


Рисунок 2. Нейропротекторная активность транс-коричной кислоты из *Scutellaria baicalensis* в организме *Caenorhabditis elegans*

Figure 2. Neuroprotective activity of trans-cinnamic acid from *Scutellaria baicalensis* in *Caenorhabditis elegans*

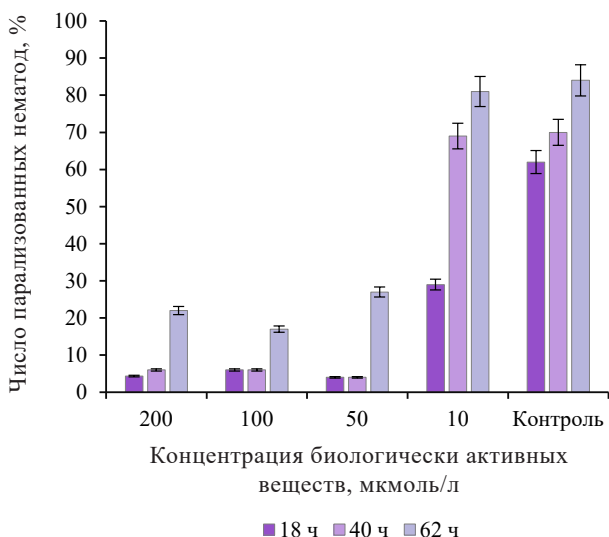


Рисунок 1. Нейропротекторная активность байкалина из *Scutellaria baicalensis* в организме *Caenorhabditis elegans*

Figure 1. Neuroprotective activity of baicalin from *Scutellaria baicalensis* in *Caenorhabditis elegans*

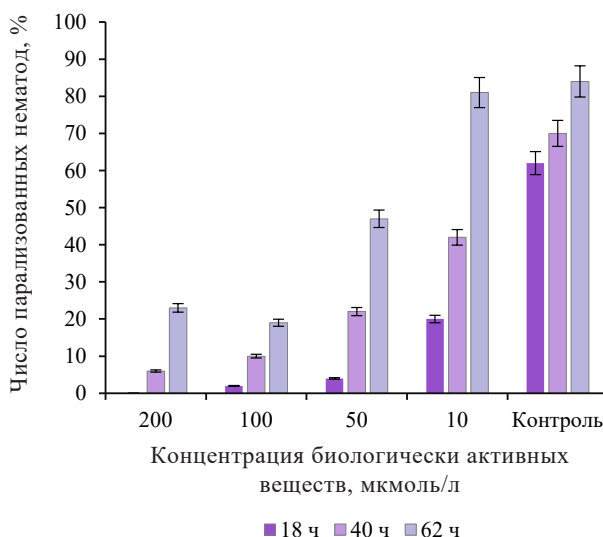


Рисунок 3. Нейропротекторная активность урсоловой кислоты из *Thymus vulgaris* в организме *Caenorhabditis elegans*

Figure 3. Neuroprotective activity of ursolic acid from *Thymus vulgaris* in *Caenorhabditis elegans*

процентного содержания парализованных нематод в диапазоне концентраций от 200 до 50 мкмоль/л за короткий период инкубации. Байкалин существенно превосходит все испытанные биологически активные вещества по продолжительности защиты от нейротоксического действия $A\beta(1-42)$, включая 62-часовую инкубацию.

Испытания транс-коричной кислоты из *S. baicalensis* продемонстрировали их нейропротекторную активность, по сравнению с контрольными нематодами. Процент парализованных нематод в присутствии этого биологически активного вещества существенно ниже, чем у контрольных животных, как в диапазоне концентраций 200–50 мкмоль/л, так во всем диапазоне времени 18–62-часовой инкубации. При 10 мкмоль/л концентрации биологически активных веществ нейропротекция наблюдалась лишь при 18-часовой инкубации.

При исследовании влияния на продолжительность жизни природного тритерпеноида, урсоловой кислоты на *C. Elegans*, H. Negi и соавторы определили, что максимальная продолжительность жизни наблюдается у нематод при концентрации биологически активных веществ 25 мкмоль [28]. Z. Yue и соавторы получили экстракт *Cornus officinalis*, богатый урсоловой кислотой [29]. Данный экстракт исследовали на модельном объекте *C. elegans*. Результаты показали, что экстракт *C. officinalis* может увеличить продолжительность жизни и усилить антиоксидантную ферментативную активность *C. elegans*, подвергшихся воздействию ультрафиолета В, при одновременном снижении уровня активных форм кислорода. Экстракт *C. officinalis* в основном смягчает окислительный стресс, вызванный УФ-В у *C. elegans* через путь SKN-1/Nrf2.

Х.-К. Tu и др. установили, что байкалин из *S. baicalensis* Georgi обладает нейропротекторной активностью за счет антиапоптотических и противовоспалительных свойств [30]. Байкалин значительно снизил ферментативную активность миелопероксидазы и экспрессию мРНК индуцибельной синтазы оксида азота и мРНК циклооксигеназы-2 в мозге крысы, он также значительно ингибировал нейрональный апоптоз и экспрессию расщепленного белка каспазы-3 после постоянной окклюзии средней мозговой артерии.

Анализ влияния индивидуальных биологически активных веществ на экспрессию белков SOD-3 и HSP-16.2 в нематодах. Экспрессия гена SOD-3 в нематодах, обработанных биологически активными веществами в течение 72 ч до приведения животных в состояние стресса. Продукты амплификации генов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени составили 175 нп. Подход представляет собой оценку профилактического действия тестируемых биологически активных веществ, когда нематоды предварительно инкубировались с веществами в течение 72 ч, и только после этого подвергались стрессу путем поднятия температуры до 35 °С в течение 5 ч. Результаты подсчета уровня экспрессии гена SOD-3 в нематодах представлены на рисунке 4.

Экспрессия гена HSP-16.2 в нематодах, обработанных биологически активными веществами в течение 5 суток после приведения животных в состояние стресса. Продукты амплификации генов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени составили 127 нп. Подход представляет собой оценку терапевтического действия тестируемых биологически активных веществ, при котором нематоды первоначально подвергались стрессу путем поднятия температуры до 35 °С в течение 2 ч, и только после этого они инкубировались с биологически активными веществами в течение 5 суток. Результаты подсчета уровня экспрессии гена HSP-16.2 в нематодах представлены на рисунке 5.

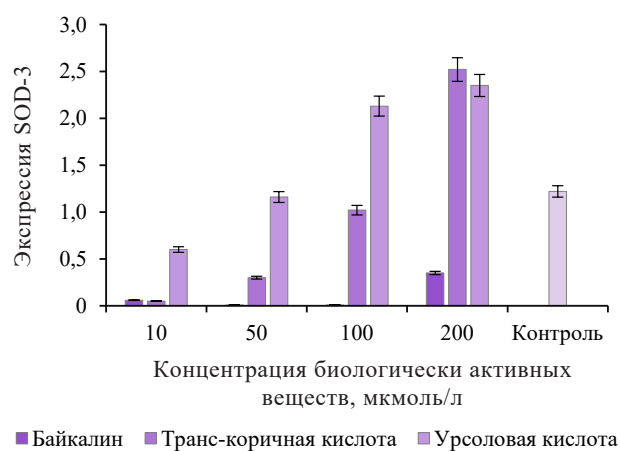


Рисунок 4. Влияние индивидуальных биологически активных веществ на экспрессию белка SOD-3 у *Caenorhabditis elegans*

Figure 4. Effect of biologically active substances on SOD-3 protein in *Caenorhabditis elegans*

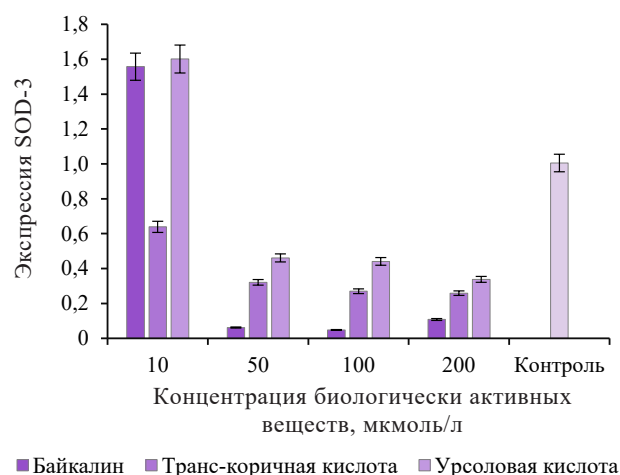


Рисунок 5. Влияние биологически активных веществ на экспрессию белка HSP-16.2 у *Caenorhabditis elegans*

Figure 5. Effect of biologically active substances on HSP-16.2 protein in *Caenorhabditis elegans*

В ходе проведенных испытаний по изучению влияния индивидуальных биологически активных веществ в концентрациях 10, 50, 100 и 200 мкмоль/л на экспрессию SOD-3 и HSP-16.2 в организме *C. elegans* установили, что нематоды в большей степени устойчивы к температурному стрессу, если они предварительно обработаны биологически активными веществами. Обнаружено значительно меньшее количество умерших животных, в этом случае, к концу эксперимента, по сравнению с даже более длительной инкубацией нематод в присутствии биологически активных веществ, обработанных после повышения температуры.

Нематоды более активно экспрессируют SOD-3, по сравнению с HSP-16.2, в ответ на температурный стресс, увеличивая уровень экспрессии SOD-3 с 1,7- и до 2,1- кратных размеров, по сравнению с увеличением экспрессии HSP-16.2 от 1,5 до 1,6 раз.

Урсоловая кислота в 1,75–1,93 раза увеличивает концентрацию SOD-3 при 100 и 200 мкмоль/л соответственно. Транс-коричная кислота в 2 раза увеличивает концентрацию SOD-3 при 200 мкмоль/л. Байкалин не влиял на экспрессию SOD-3 ни при каких испытываемых концентрациях.

Урсоловая кислота увеличила экспрессию HSP-16.2 при 10 мкмоль/мл в 1,6 раз, по сравнению с контролем. Байкалин при 10 мкмоль/мл увеличили экспрессию HSP-16.2 в 1,5 раза. Транс-коричная кислота не влияла на экспрессию HSP-16.2 ни при каких испытываемых концентрациях.

Н. Li и соавторы определили, что тепловой стресс (41 °C) вызывает макроскопические изменения в ткани матки мышей, изменяет активность антиоксидантных ферментов и факторы пути Keap1/Nrf2 [31]. Байкалин уменьшает макроскопические изменения, меняет активность антиоксидантных ферментов и факторы в пути Keap1/Nrf2. Защищает ткань матки от окисли-

тельных повреждений/апоптоза, вызванных тепловым стрессом, через путь Keap1/Nrf2.

В работе Yi. Yang и соавторы установили, что предварительная обработка урсоловой кислотой защищает легочные ткани от повреждения, вызванного тепловым стрессом, путем регулирования воспалительных цитокинов и развернутого ответа белка у мышей [32]. Добавление урсоловой кислоты может стать терапевтической стратегией для смягчения повреждений легких, вызванных высокой температурой, у людей и животных.

Влияние индивидуальных биологически активных веществ на накопление карбонилированных белков в организме *C. elegans*. После облучения нематод в 24-луночных планшетах в течение 5 мин. ультрафиолетовым светом при длине волны 314 нм планшет с нематодами перенесли в инкубатор на 1 ч при 20 °C. В ходе наблюдения за нематодами под микроскопом по истечении 1 ч обнаружено, что локомоторная подвижность нематод существенно снизилась, однако при этом большинство *C. elegans* оставались живыми. С окрашенных нематод в 96-луночном планшете сделаны снимки, для количественной оценки флуоресценции карбонилированных белков в их организме взяты не все нематоды. После предварительной обработки изображений с помощью программы CellProfiler 4.2.1 проведена корректировка их количества. Затем проведены преобразования изображений нематод в цифровые значения медианной интенсивности флуоресценции карбонилированных белков. На основании полученных данных, построены гистограммы медианной интенсивности карбонилированных белков в организме нематод при каждом тестируемом условии испытания, в сравнении с контролем. Данные представлены на рисунке 6.

В ходе проведенных испытаний по изучению влияния индивидуальных биологически активных веществ

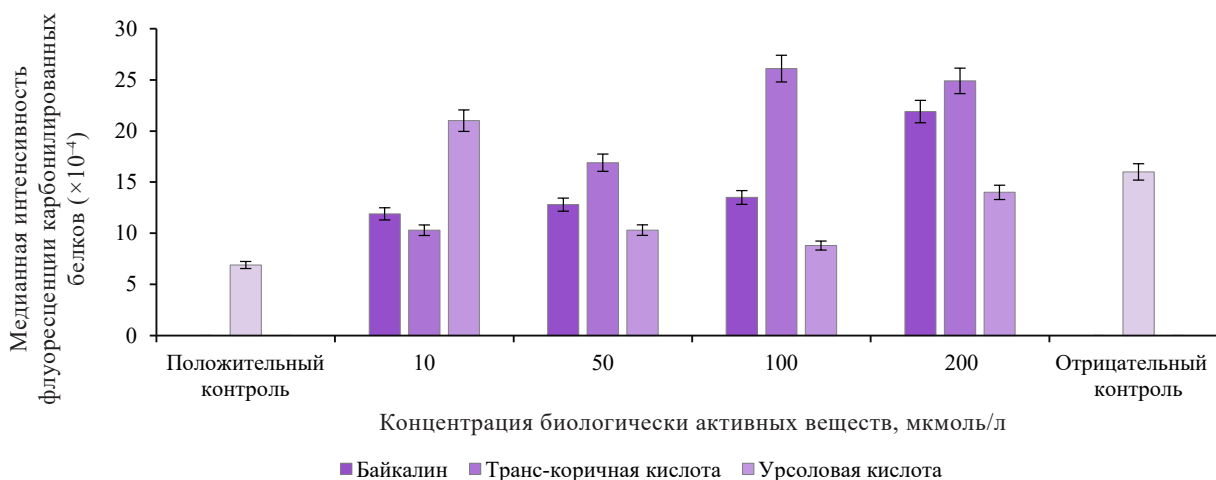


Рисунок 6. Влияние биологически активных веществ на накопление карбонилированных белков в организме *Caenorhabditis elegans*

Figure 6. Effect of biologically active substances on carbonylated proteins in *Caenorhabditis elegans*

в концентрациях 10, 50, 100 и 200 мкмоль/л на накопление карбонилированных белков в организме *C. elegans* установлено, что активность всех испытанных биологически активных веществ является концентрационно зависимой, при этом для всех биологически активных веществ она различна. Все протестированные биологически активные вещества продемонстрировали снижение уровня карбонилированных белков при концентрациях 100 мкмоль/л.

Наибольшее влияние на снижение уровня карбонилирования белков в теле нематод, по сравнению с контролем оказала урсоловая кислота. Она снижала уровень карбонилированных белков в 1,6 (50 мкмоль/л) и 1,8 (100 мкмоль/л) раза. Это единственные биологически активные вещества, которые влияют на снижение уровня карбонилирования белков при концентрации 200 мкмоль/л (в 1,1 раза). При концентрации 10 мкмоль/л наибольшее влияние оказала транс-коричная кислота (снижение уровня в 1,6 раза). Байкалин продемонстрировал умеренное снижение уровня карбонилированных белков, не превышающее в 1,3 раз уровня в контрольных нематодах. При этом биологически активные вещества проявляли свою активность в диапазоне концентраций от 10 до 100 мкмоль/л.

Уровень снижения карбонилированных белков под влиянием урсоловой кислоты в концентрации 100 мкмоль/л сравним с уровнем блокирования реакции карбонилирования белков в присутствии положительного контроля – 0,2 М борогидрида натрия (NaBH_4), который специфически связывается только с карбонильной группой у белков, демонстрируя высокую избирательность взаимодействия урсоловой кислоты с карбонилированными белками в теле нематод.

В работе Р. М. Abilov с соавторами установили, что при введении внутривенно крысам в дозе 15 мг/кг массы тела байкалин повышает содержание восстановленного глутатиона в печени здоровых животных и активность глутатионсинтетазы и глюкозо-6-фосфогидрогеназы в печени и почках в условиях окислительного стресса под действием различных токсикантов [33].

Нейропротекторное действие урсоловой кислоты против окислительного повреждения исследовали на изолированном мозге крысы учеными V. F. Salau и др. [34]. Исследования молекулярной стыковки выявили сильные молекулярные взаимодействия между урсоловой кислотой, каталазой и АТФазой. Эти результаты указывают на нейропротекторный эффект урсоловой кислоты против окислительного повреждения изолированного мозга крыс, что подтверждается ее способностью смягчать окислительный стресс, пуринергические и холинергические дисфункции с сопутствующим подавлением протеолитической активности.

Влияние индивидуальных биологически активных веществ в концентрациях 10, 50, 100 и 200 мкмоль/л на накопление липофусцина в организме *C. elegans*. В ходе выполнения исследования

поставлены задачи не только оценить влияние каждого отдельно взятого биологически активного вещества по сравнению с контрольными нематодами на накопление липофусцина в организме нематод, но также изучить эффективность этого влияния в течение продолжительной 15-дневной инкубации с биологически активными веществами. Выбраны 5-дневные интервалы спектрометрических измерений липофусцина. Перед началом спектрометрических измерений подсчитывали общее количество животных в каждой ячейке 96-луночного планшета. Полученные спектрометрические данные обрабатывали с использованием программы GraphPad Prism с целью получения среднего значения автофлуоресценции липофусцина для шести экспериментальных повторов.

На основании исходных данных автофлуоресценции в теле нематод проводился подсчет разницы флуоресценции в каждый конкретный день спектрометрических измерений за вычетом значений флуоресценции на первый день измерений в тех же условиях. На основании полученных расчетных данных с использованием программы Microsoft Excel LTSC 2021 строились графики разницы в накоплении липофусцина в зависимости от продолжительности эксперимента, которые представлены на рисунках 7–9.

В ходе проведенных испытаний по изучению влияния индивидуальных биологически активных веществ в концентрациях 10, 50, 100 и 200 мкмоль/л на накопление липофусцина в организме *C. elegans* установлено, что накопление липофусцина под влиянием всех испытанных биологически активных веществ

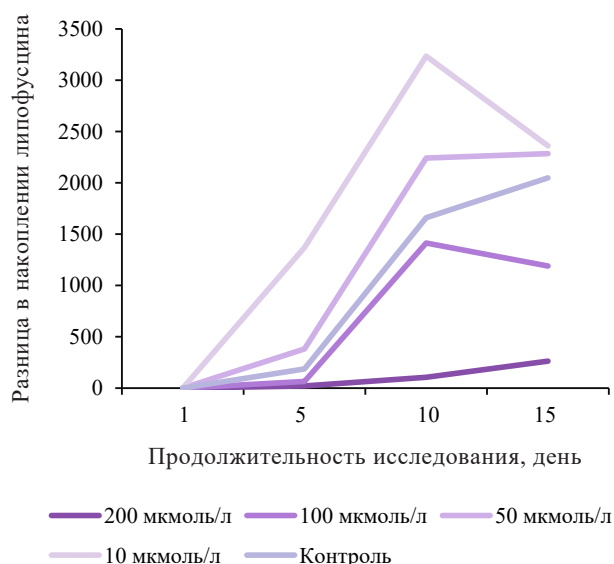


Рисунок 7. Разница в накоплении липофусцина в организме *Caenorhabditis elegans* под действием байкалина на протяжении эксперимента по отношению к первому дню измерений

Figure 7. Lipofuscin accumulation in *Caenorhabditis elegans* during baicalin treatment: experiment days 1–15

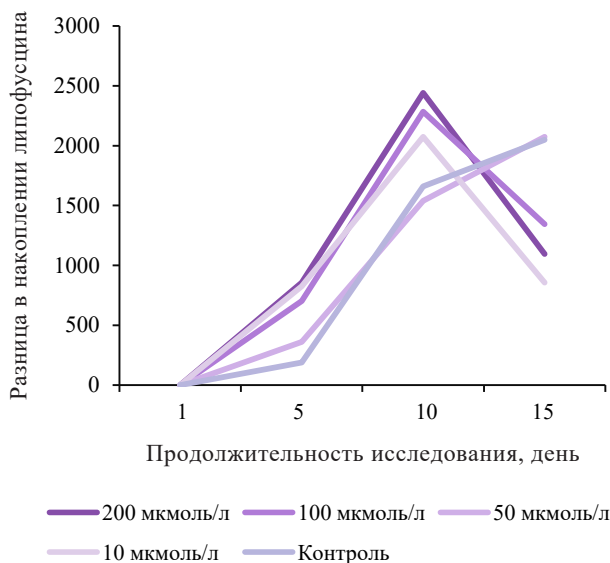


Рисунок 8. Разница в накоплении липофусцина в организме *Caenorhabditis elegans* под действием транс-коричной кислоты на протяжении эксперимента по отношению к первому дню измерений

Figure 8. Lipofuscin accumulation in *Caenorhabditis elegans* during treatment with trans-cinnamic acid: experiment days 1–15

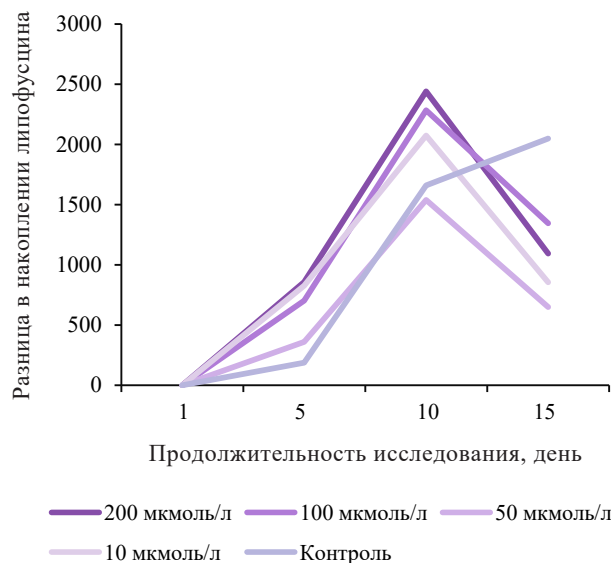


Рисунок 9. Разница в накоплении липофусцина в организме *Caenorhabditis elegans* под действием урсоловой кислоты на протяжении эксперимента по отношению к первому дню измерений

Figure 9. Lipofuscin accumulation in *Caenorhabditis elegans* during treatment with ursolic acid: experiment days 1–15

является концентрационно зависимым. Байкалин (100 и 200 мкмоль/л) продемонстрировал уменьшение накопления липофусцина уже на 5-й день после добавления к нематодам. Биологически активные вещества стабильно сдерживали накопление липофусцина в нематодах до конца 15-дневного эксперимента. Транс-коричная кислота наиболее эффективно снижает накопление липофусцина при низких концентрациях, а именно на 68,3 % при 50 мкмоль/л и на 58,2 % при 10 мкмоль/л на 15-й день измерений флуоресценции. Наиболее эффективным в ингибировании накопления липофусцина оказалась урсоловая кислота как на протяжении всего 15-дневного эксперимента, так и в диапазоне всех испытанных концентраций. Наибольшие значения в разнице накопления липофусцина по отношению к начальным значениям через 1 день после обработки биологически активными веществами показаны для его концентрации 50 мкмоль/л. Урсоловая кислота в теле нематод приводит к уменьшению накопления жира и уменьшению количества активных форм кислорода, независимо от активации супероксиддисмутазы.

В работе В. Г. Банзаракшеева исследовали комплексное фитосредство на показатели перекисного окисления липидов [35]. Данное фитосредство включает: цветки *Calendula officinalis* L., плоды *Crataegus sanguinea* Pall., корни *Scutellaria baicalensis* Georgi, плоды *Malus baccata* (L.) Borkh., корневища *Glycyrrhiza glabra* L., цветки и плоды *Rosa* sp., слоевище *Cetraria islandica* (L.) Ach. и др. Фитосредство на фоне введения адреналина, вызывающего расстройство уг-

леводного и липидного метаболизма, ингибирует процессы перекисного окисления липидов и повышает эндогенные резервы антиоксидантной защиты у крыс.

S. Tang и соавторы изучали эффект урсоловой кислоты против ожирения у крыс [36]. Для этого перорально вводили дозу урсоловой кислоты (2,5, 5 и 10 мг/кг) крысам с гипергликемией в течение 8 недель и оценивали уровень глюкозы в крови через различные промежутки времени. У крыс, получавших урсоловую кислоту, наблюдалось снижение окислительного стресса в обработанной ткани поджелудочной железы за счет восстановления эффекта удаления свободных радикалов.

Выводы

Нейропротекторная активность всех испытанных биологически активных веществ падала с уменьшением их концентрации от 200 до 10 мкмоль/л. Показана зависимость продолжительности защиты парализованных нематод в результате нейротоксического действия бета-амилоида Aβ(1–42) от длительности инкубации животных в присутствии биологически активных веществ при более высокой температуре 25 °С. Для всех изученных биологически активных веществ она уменьшалась при увеличении длительности экспозиции в диапазоне от 18 до 62 часов инкубации.

Caenorhabditis elegans в большей степени устойчивы к температурному стрессу, если они предварительно обработаны биологически активными веществами. Обнаружено значительно меньшее количество умерших животных, в этом случае, к концу экспери-

мента, по сравнению с длительной инкубацией нематод в присутствии биологически активных веществ, обработанных после повышения температуры. Нематоды более активно экспрессируют SOD-3, по сравнению с HSP-16.2, в ответ на температурный стресс, увеличивая уровень экспрессии SOD-3 с 1,7- и до 2,1-кратных размеров, по сравнению с увеличением экспрессии HSP-16.2 от 1,5 до 1,6 раз.

Все протестированные биологически активные вещества продемонстрировали снижение уровня карбонилированных белков при концентрациях 100 мкмоль/л. Наибольшее влияние на снижение уровня карбонилирования белков в теле нематод, по сравнению с контролем оказала урсоловая кислота. Уровень снижения карбонилированных белков под влиянием урсоловой кислоты в концентрации 100 мкмоль/л сравним с уровнем блокирования реакции карбонилирования белков в присутствии положительного контроля – 0,2 М борогидрида натрия (NaBH_4), который специфически связывается только с карбонильной группой у белков, демонстрируя высокую избирательность взаимодействия урсоловой кислоты с карбонилированными белками в теле нематод.

Накопление липофусцина под влиянием всех испытанных биологически активных веществ, выделенных

из лекарственных растений, является концентрационно зависимым. Байкалин продемонстрировал уменьшение накопления липофусцина уже на 5-й день после добавления к нематодам. Наиболее эффективным в ингибировании накопления липофусцина оказалась урсоловая кислота как на протяжении всего 15-дневного эксперимента, так и в диапазоне всех испытанных концентраций.

Критерии авторства

Все авторы внесли равный вклад в исследование и несут равную ответственность за информацию, опубликованную в данной статье.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All authors have contributed equally to the study and are equally responsible for the information published in this article.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Lissek T. Aging, adaptation and maladaptation. *Frontiers in Aging*. 2023;4:1256844. <https://doi.org/10.3389%2Ffrontiers.2023.1256844>
2. Sukhikh S, Babich O, Prosekov A, Patyukov N, Ivanova S. Future of Chondroprotectors in the Treatment of Degenerative Processes of Connective Tissue. *Pharmaceuticals*. 2020;13(9):220. <https://doi.org/10.3390/ph13090220>
3. Milentyeva IS, Le VM, Kozlova OV, Velichkovich NS, Fedorova AM, Loseva AI, et al. Secondary metabolites 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>; <https://elibrary.ru/ORGCXI>
4. Chakraborty A, Chowdhury S, Bhattacharyya M. Effect of metformin on oxidative stress, nitrosative stress and inflammatory biomarkers in type 2 diabetes patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2011;93(1):56–62. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2010.11.030>
5. Danyo EK, Ivantsova MN, Selezneva IS. Ionizing radiation effects on microorganisms and its applications in the food industry. *Foods and Raw Materials*. 2024;12(1):1–12. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-1-583>; <https://elibrary.ru/XICYHK>
6. Bodega G, Alique M, Puebla L, Carracedo J, Ramirez R. Microvesicles: ROS scavengers and ROS producers. *Journal of Extracellular Vesicles*. 2019;8(1):1626654. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1626654>
7. Suleman M, Khan A, Baqi A, Kakar MS, Samiullah, Ayub M. Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body. *Pure and Applied Biology*. 2019;8(1):380–388. <http://doi.org/10.19045/bspab.2018.700197>
8. Okpoghono J, Ukperegbulem JK, Igue UB. Anti-lipidemic and protein restoration potential of *Monodora myristica* (Gaertn.) in rats fed with cassava containing crude oil. *Foods and Raw Materials*. 2024;12(2):249–255. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-602>; <https://elibrary.ru/LDHZWE>
9. Yanase S, Yasuda K, Ishii N. Interaction between the ins/IGF-1 and p38 MAPK signaling pathways in molecular compensation of sod genes and modulation related to intracellular ROS levels in *C. elegans*. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2020;23:100796. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100796>
10. Thimraj TA, George L, Asrafuzzaman S, Upadhyay S, Ganguly K. Oxidative signaling in chronic obstructive airway diseases. In: Chatterjee S, Jungraithmayr W, Bagchi D, editors. *Immunity and Inflammation in Health and Disease*. Academic Press; 2018. pp. 79–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805417-8.00007-X>

11. Wang J, Deng N, Wang H, Li T, Chen L, Zheng B, *et al.* Effects of orange extracts on longevity, healthspan, and stress resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Molecules*. 2020;25(2):351. <https://doi.org/10.3390/molecules25020351>
12. Milentyeva IS, Vesnina AD, Fedorova AM, Ostapova EV, Larichev TA. Chlorogenic Acid and Biohanin A from *Trifolium pratense* L. Callus Culture Extract: Functional Activity *In Vivo*. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023; 53(4):754–765. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-4-2475>; <https://elibrary.ru/GGYCQG>
13. Funikov SYu, Garbuz DG, Zatsepina OG. Kinetics of heat-shock response upon dysfunction of general transcription factor (HSF). *Molecular Biology*. 2014;48(2):263–269. <https://doi.org/10.1134/S0026893314020058>
14. Malik P, Mukherjee TK. Immunological methods for the determination of AGE-RAGE axis generated glutathionylated and carbonylated proteins as oxidative stress markers. *Methods*. 2022;203:354–363. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2022.01.011>
15. Kuzmic M, Javot H, Bonzom J-M, Lecomte-Pradines C, Radman M, Garnier-Laplace J, *et al.* *In situ* visualization of carbonylation and its co-localization with proteins, lipids, DNA and RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016;101:465–474. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.004>
16. Chondrogianni N, Georgila K, Kourtis N, Tavernarakis N, Efstathios SG. Enhanced proteasome degradation extends *Caenorhabditis elegans* lifespan and alleviates aggregation-related pathologies. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014;75:S18. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.632>
17. Amir M, Vohra M, Raj RG, Osoro I, Sharma A. Adaptogenic herbs: A natural way to improve athletic performance. *Health Sciences Review*. 2023;7:100092. <https://doi.org/10.1016/j.hsr.2023.100092>
18. Kumar S, Singh B, Bajpai V. *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees: Traditional uses, phytochemistry, pharmacological properties and quality control/quality assurance. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;275:114054. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114054>
19. Yoon SJ, Kim SK, Lee NYo, Choi YeR, Kim HS, Gupta H, *et al.* Effect of Korean Red Ginseng on metabolic syndrome. *Journal of Ginseng Research*. 2021;45(3):380–389. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2020.11.002>
20. Babich O, Sukhikh S, Pungin A, Ivanova S, Asyakina L, Prosekov A. Modern Trends in the In Vitro Production and Use of Callus, Suspension Cells and Root Cultures of Medicinal Plants. *Molecules*. 2020;25(24):5805. <https://doi.org/10.3390/molecules25245805>
21. Sergeeva IY, Permyakova LV, Mukhlynina EA, Anshukov AV. Influence of Trypsin Hydrolysate of Yeast, Activated with *Atriplex sibirica* L. Extract, on Cytotoxicity and Accumulation of Vitamin D. *Biotekhnologiya*. 2023;39(6):108–118. <https://doi.org/10.56304/S0234275823060091>; <https://elibrary.ru/YUBXLW>
22. 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. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2388>
23. Altintas O, Park S, Lee S-JV. The role of insulin/IGF-1 signaling in the longevity of model invertebrates, *C. elegans* and *D. melanogaster*. *BMB reports*. 2016;49(2):81–92. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2016.49.2.261>
24. Drake J, Link CD, Butterfield DA. Oxidative stress precedes fibrillar deposition of Alzheimer’s disease amyloid beta-peptide (1-42) in a transgenic *Caenorhabditis elegans* model. *Neurobiology of Aging*. 2003;24(3):415–420. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00225-7](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00225-7)
25. Faskhutdinova ER, Sukhikh AS, Le VM, Minina VI, Khelef MEA, Loseva AI. Effects of bioactive substances isolated from Siberian medicinal plants on the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Foods and Raw Materials*. 2022;10(2):340–352. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-544>; <https://elibrary.ru/ZVCUW>
26. Meneely PM, Dahlberg CL, Rose JK. Working with worms: *Caenorhabditis elegans* as a model organism. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*. 2019;19(1):e35. <https://doi.org/10.1002/cpet.35>
27. Tseverelakis GJ, Megalou EV, Filippidis G, Petanidou B, Fotakis C, Tavernarakis N. Label-free imaging of lipids depositions in *C. elegans* using third-harmonic generation microscopy. *PLOS One*. 2014;9(1):e84431. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084431>
28. Negi H, Saikia SK, Pandey R. 3 β -Hydroxy-urs-12-en-28-oic Acid Modulates Dietary Restriction Mediated Longevity and Ameliorates Toxic Protein Aggregation in *C. elegans*. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2017;72(12):1614–1619. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx118>
29. Yue Z, Liu H, Liu M, Wang N, Ye L, Guo C, *et al.* *Cornus officinalis* Extract Enriched with Ursolic Acid Ameliorates UVB-Induced Photoaging in *Caenorhabditis elegans*. *Molecules*. 2024;29(12):2718. <https://doi.org/10.3390/molecules29122718>
30. Tu X-k, Yang W-z, Shi S-s, Wang C-h, Chen C-m. Neuroprotective effect of baicalin in a rat model of permanent focal cerebral ischemia. *Neurochemical Research*. 2009;34:1626–1634. <https://doi.org/10.1007/s11064-009-9953-4>
31. Li H, Cong X, Yu W, Jiang Z, Fu K, Cao R, *et al.* Baicalin inhibits oxidative injures of mouse uterine tissue induced by acute heat stress through activating the Keap1/Nrf2 signaling pathway. *Research in Veterinary Science*. 2022;152:717–725. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.10.005>

32. Yang Yi, Li C, Liu N, Wang M, Zhou X, Kim IH, et al. Ursolic acid alleviates heat stress-induced lung injury by regulating endoplasmic reticulum stress signaling in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2021;89:108557. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108557>
33. Abilov PM, Iriskulov BU, Boboeva ZN, Saydalikhodjaeva OZ. Analysis of the effectiveness of the use of a new drug based on *Ganoderma lucidum* and *Alkhadai* in the treatment of coronavirus infection caused by COVID-19. *Journal of Hunan University (Natural Sciences)*. 2022;49(3):604–611.
34. Salau VF, Erukainure OL, Ayeni G, Ibeji CU, Islam MdS. Modulatory effect of ursolic acid on neurodegenerative activities in oxidative brain injury: An *ex vivo* study. *Journal of Food Biochemistry*. 2021;45:e13597. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13597>
35. Banzarakshiev VG. The influence of the complex phytoremedy on the indicators of lipid peroxidation and anti-oxidant protection in adrenalin-induced dyslipoproteinemias. *Bashkortostan Medical Journal*. 2012;7(5):72–74. (In Russ.). [Банзаракшеев В. Г. Влияние комплексного фитосредства на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при адреналиновой дислиппротеинемии // Медицинский вестник Башкортостана. 2012. Т. 7. № 5. С. 72–74.]. <https://elibrary.ru/PLLIPJ>
36. Tang S, Fang C, Liu Yu, Tang L, Xu Yu. Anti-obesity and Anti-diabetic Effect of Ursolic Acid against Streptozotocin/High Fat Induced Obese in Diabetic Rats. *Journal of Oleo Science*. 2022;71(2):289–300. <https://doi.org/10.5650/jos.ess21258>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2524>
<https://elibrary.ru/HDDTPP>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Характеристика антиоксидантной активности CO₂-экстрактов бурых водорослей и стабилизации липидов



А. В. Табакаев^{ID}, О. В. Табакаева*^{ID}

Дальневосточный федеральный университет^{ROR}, Владивосток, Россия

Поступила в редакцию: 25.03.2024
Принята после рецензирования: 08.04.2024
Принята к публикации: 07.05.2024

*О. В. Табакаева: yankovskaya68@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-7068-911X>
А. В. Табакаев: <https://orcid.org/0000-0001-5658-5069>

© А. В. Табакаев, О. В. Табакаева, 2024



Аннотация.

Одной из основных проблем сохранения качества растительных масел при хранении является их подверженность окислению, что представляет собой определенную проблему, влияющую, в частности, на срок годности и безопасность. Цель работы заключалась в оценке антиоксидантных свойств сверхкритических экстрактов из бурых водорослей Дальневосточного региона *Undaria pinnatifida* и *Costaria costata* и изучении возможности их использования в качестве стабилизирующего агента для сохранения качества и безопасности пищевых растительных масел путем исследования влияния на кинетику окисления и гидролиза.

Объектами исследования являлись сверхкритические экстракты морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*. Использовались современные методы исследования – спектрофотометрический, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Экспериментально доказано, что сверхкритические экстракты морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* являются источниками биоактивных веществ, таких как фенольные соединения, каротиноиды, маннит и характеризуются высоким уровнем проявления антиоксидантных свойств в части антирадикальной активности и эффективности, гидроксил-ион связывающей активности, активности поглощения супероксидных радикалов и Fe⁺² хелатирующей активности. Фенольные соединения, обуславливающие проявление антиоксидантных свойств представлены 9 веществами. Сверхкритический экстракт морской бурой водоросли *C. costata* продемонстрировал более высокий уровень проявления антиоксидантных свойств, чем экстракт *U. pinnatifida*. Сверхкритический экстракт морской бурой водоросли *C. costata* проявляет более выраженное антиоксидантное влияние на окислительные процессы липидов в растительных маслах в сравнении с экстрактом *U. pinnatifida*. Стабилизация процессов гидролиза сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей *U. pinnatifida* и *C. costata* также является эффективной и позволяет увеличить срок хранения масел на 3 мес.

Использование сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* как антиоксидантов для стабилизации окисления липидов эффективно как для рафинированных, так и для нерафинированных растительных масел (соевого и подсолнечного). Полученные уравнения регрессии, описывающие закономерности изменения перекисного и кислотного чисел растительных масел стабилизированных сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*, характеризуются высокими коэффициентами аппроксимации.

Ключевые слова. Бурые водоросли, *Undaria pinnatifida*, *Costaria costata*, сверхкритические экстракты, антиоксиданты, растительные масла, окисление, гидролиз

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда^{ROR} (Соглашение № 23-26-00197).

Для цитирования: Табакаев А. В., Табакаева О. В. Характеристика антиоксидантной активности CO₂-экстрактов бурых водорослей и стабилизации липидов // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 585–597. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2524>

Antioxidant Activity of Brown Algae CO₂ Extracts and Lipid Stability



Anton V. Tabakaev^{ID}, Oksana V. Tabakaeva*^{ID}

Far Eastern Federal University^{ROR}, Vladivostok, Russia

Received: 25.03.2024
Revised: 08.04.2024
Accepted: 07.05.2024

*Oksana V. Tabakaeva: yankovskaya68@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-7068-911X>
Anton V. Tabakaev: <https://orcid.org/0000-0001-5658-5069>

© A.V. Tabakaev, O.V. Tabakaeva, 2024



Abstract.

Vegetable oils are susceptible to oxidation during storage, which is a serious problem for shelf-life and food safety. The article describes the antioxidant properties of supercritical extracts from brown algae (*Undaria pinnatifida* and *Costaria costata*), Russian Far East. It also explains their prospects as stabilizers that preserve the quality and safety of vegetable oils by affecting the kinetics of oxidation and hydrolysis.

The study featured supercritical extracts of marine brown algae *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata* from Russian Far East. The methods involved spectrophotometry and high-performance liquid chromatography.

Supercritical extracts of marine brown algae proved to be reliable sources of bioactive substances, e.g., phenolic compounds, carotenoids, and mannitol. They also possessed antioxidant properties in terms of antiradical activity, hydroxyl ion binding, superoxide radical absorption, and Fe²⁺ chelating. The experiments revealed nine phenolic compounds responsible for antioxidant properties. The supercritical extract of *Costaria costata* demonstrated a greater antioxidant effect on lipid oxidation in vegetable oils than *Undaria pinnatifida*. Both algae proved effective in stabilizing hydrolysis and were able to increase the shelf-life of soy and sunflower oils by three months.

Supercritical extracts of *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata* served as antioxidants to stabilize lipid oxidation in refined and unrefined soy and sunflower oils. The research revealed high approximation coefficients for regression equations describing the patterns of changes in the peroxide and acid numbers of vegetable oils stabilized with supercritical extracts of these marine brown algae.

Keywords. Brown algae, *Undaria pinnatifida*, *Costaria costata*, supercritical extracts, antioxidants, vegetable oils

Financing. The research was supported by the Russian Science Foundation^{ROR}, Agreement No. 23-26-00197.

For citation: Tabakaev AV, Tabakaeva OV. Antioxidant Activity of Brown Algae CO₂ Extracts and Lipid Stability. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):585–597. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2524>

Введение

Одной из основных проблем сохранения качества растительных масел в хранении является их подверженность окислению, что представляет собой определенную проблему, влияющую на срок годности и безопасность. При воздействии кислорода воздуха, в пищевых растительных маслах происходят различные химические реакции с образованием различных продуктов первичного (перекисей и гидроперекисей) и вторичного (альдегиды и кетоны) окисления, а также свободных радикалов, негативно влияющих на качество, на органолептические характеристики, а также на безопасность [1–4]. Нежелательным процессом изменения качества растительных масел в процессе хранения является гидролиз триглицеридов, приводящий к образованию и накоплению свободных жирных кислот [5, 6].

С целью повышения качества и безопасности пищевых растительных масел в хранении применяется стабилизация с помощью антиоксидантов [7, 8]. Антиоксиданты являются важными ингредиентами в пищевой промышленности и играют значительную роль в стабилизации качества растительных масел. Выбор антиоксиданта для стабилизации растительных масел – это достаточно сложная задача, требующая учета различных факторов, таких как тип масла, его состав, срок хранения и технологические особенности производства. Существует множество антиоксидантов природного и искусственного происхождения, включая такие соединения, как витамин Е, розмариновая кислота, бутилгидроксианизол, бутилгидрокситолуол и другие, которые применяются для стабилизации процессов окисления липидов. Оптимальные условия применения антиоксидантов зависят от конкретного вида расти-

тельного масла и его предназначения. Необходимо учитывать как физико-химические свойства масла, так и требования потребителей по сохранности его качества, вкусовым и ароматическим характеристикам [9–11].

Стабилизация качества растительных масел с помощью антиоксидантов является важным и неотъемлемым этапом производства. Она позволяет не только продлить срок хранения масел, но и сохранить их полезные свойства для здорового питания. Разработка и применение эффективных антиоксидантов является актуальной задачей для улучшения качества растительных масел и обеспечения их безопасности. Необходимо учитывать, что применение антиоксидантов также может иметь свои недостатки. Некоторые исследования ассоциируют длительное употребление синтетических антиоксидантов с негативными последствиями для здоровья [12–14]. Поэтому важно проводить соответствующие исследования и строго контролировать использование этих добавок в пищевой промышленности. Предпочтение использования натуральных антиоксидантов является обоснованным с учетом их безопасности и эффективности. Большую группу натуральных антиоксидантов составляют экстракты биологически активных веществ из растительного сырья. Отдельно можно выделить флюидные экстракты, получаемые с использованием сверхкритической технологии – инновационного метода извлечения биологически активных веществ из растений, характеризующегося высокой эффективностью и экологичностью. Сверхкритические экстракты представляют собой концентрированные формы растительных соединений и обладают значительным потенциалом в области антиоксидантной защиты [15–18].

Антиоксидантные свойства сверхкритических экстрактов обусловлены высоким содержанием биологически активных веществ, в частности флавоноидов, полифенолов, витаминов С и Е, ксантофиллов и др., являющихся мощными нейтрализаторами свободных радикалов. Сверхкритические экстракты с их антиоксидантными свойствами представляют собой важный инструмент в стабилизации качества пищевых липидов. Благодаря своей высокой биологической активности, сверхкритические экстракты с антиоксидантными свойствами представляют собой перспективное направление для разработки инновационных препаратов и продуктов в различных практических сферах деятельности, таких как пищевая промышленность, фармация, косметология и др. [19–22].

Сверхкритические экстракты бурых водорослей являются одним из самых эффективных, интересных и перспективных способов получения и использования их уникальных биологически активных веществ. Одним из важных исследуемых свойств бурых водорослей являются их антиоксидантные свойства. Антиоксиданты, содержащиеся в водорослях, играют важную роль в борьбе с окислительным стрессом, вызванным воздействием свободных радикалов в организме

человека. Они способны защитить клетки от повреждений, вызванных окислительными процессами, и таким образом укрепить иммунную систему и предотвратить развитие различных заболеваний [23–28]. Бурые водоросли, их биологически активные вещества и сверхкритические экстракты являются объектом интенсивных исследований, направленных на расширение их применения, в частности в пищевых системах.

Целью исследования являлась оценка антиоксидантных свойств сверхкритических экстрактов из бурых водорослей Дальневосточного региона *Undaria pinnatifida* и *Costaria costata* и возможности их использования в качестве стабилизирующего агента для сохранения качества и безопасности пищевых растительных масел путем исследования влияния на кинетику окисления и гидролиза.

Объекты и методы исследования

В качестве растительной матрицы для получения сверхкритических экстрактов использовались сухие бурые водоросли *Undaria pinnatifida* и *Costaria costata*. Сверхкритические экстракты получали с использованием системы TharSCF SFE-500. В качестве модификатора использовали этанол, массовая доля 5 %. Скорость потока составляла 10 мл/мин. для сверхкритического CO₂ и 1,0 мл/мин. для этанола. Для экстракции использовали образцы по 28 г сухой бурой водоросли. Используемое давление 300 бар, время экстракции 60 мин., температура процесса 60 °С.

Химикаты и реагенты. 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил, бутилгидрокситолуол, 2,6-ди трет бутил-4-метилфенол (ионол), дубильная кислота были приобретены у компании Sigma-Aldrich. Фенольный реагент Folin-Ciocalteu был приобретен у компании Fluka. Все остальные реагенты были аналитического класса.

Содержание каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом. Выделение пигментного комплекса из тканей бурых водорослей *U. pinnatifida* и *C. costata* проводили 100%-ным ацетоном, полученный гомогенат проходил фильтрацию с использованием фильтра Шотта при помощи водоструйного насоса. Затем проводили реэкстракцию каротиноидов гексаном. Определение количественного содержания каротиноидов проводили спектрофотометрическим методом с использованием сканирующего спектрофотометра марки UV-1800, длина волны 450 нм [29].

Общее содержание фенольных соединений определялось с использованием спектрофотометрического метода на основе взаимодействия с реагентом Folin-Ciocalteu, являющегося основным методом для определения суммарного содержания фенолов в лекарственном растительном сырье и пищевых продуктах [30]. Определение осуществлялось с использованием сканирующего спектрофотометра марки UV-1800. Количественное содержание суммы фенольных соединений представлено в пересчете на галловую кислоту. Идентификация фенольных соединений проводилась с

использованием высокоэффективной жидкостной хроматографией, жидкостный хроматограф высокого давления LC-20A, при температуре 30 °C на обратнoфазной колонке (Phenomenex RPC18 250 мм × 4,6 мм, 5 мкм, Торранс, Калифорния, США). Экстракты пропускали через фильтр 0,45 мкм (Millipore, Westboro, MA, USA) перед инъекцией в высокоэффективную жидкостную хроматографию. Общее время выполнения составило около 50 мин. при скорости потока 0,6 мл/мин. Подвижной фазой был метанол (б): вода (а) с 0,2 % уксусной кислотой (65:35, в/в). Градиентное элюирование проводили следующим образом: 0–2 мин., 5 % (б) изократический; 2–10 мин., линейный градиент 5–25 % (б); 10–20 мин., линейный градиент 25–40 % (в); 20–30 мин., линейный градиент 40–50 % (в); 30–40 мин., линейный градиент 50–100 % (в); 40–45 мин., 100 % (в) изократический и 45–55 мин., линейный градиент 100–5 % (в). Индивидуальные фенольные соединения идентифицировали путем сравнения их времени удерживания с тем же для подлинных стандартов (Сигма, США) с использованием тех же условий. Одновременный контроль длины волны обнаружения был установлен на 324 нм для хлоргеновой, кофейной, 2,5-дигидроксибензойной, кумаровой, феруловой и салициловой кислот и 277 нм для галлата эпигалокатехина, эпикатехина, галлата эпикатехина и сиринговой кислоты. Количественная оценка каждого соединения была определена на основании измерений пиковой площади с использованием градуировочного графика для каждого соединения.

Определение содержания маннита проводили спектрофотометрическим методом, основанном на образовании медных комплексов при периодатном окислении по ГОСТ 26185-84.

Определение антиоксидантной активности

ДФПГ радикал анализ

Антирадикальные свойства полученных сверхкритических экстрактов оценивали по степени взаимодействия со стабильным свободным 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил радикалом *in vitro* [31]. Оптическую плотность измеряли на сканирующем спектрофотометре UV-1800, при $\lambda = 517$ нм.

Антирадикальные свойства описывали следующими показателями:

– радикалсвязывающая активность (РСА), %:

$$PCA = [A_0 - A_1] / A_0 \times 100 \quad (1)$$

где A_0 – оптическая плотность раствора контроля, A_1 – оптическая плотность экстракта;

– эффективная концентрация вещества, при которой восстанавливается 50 % свободных радикалов ДФПГ (EC_{50}), мг/мл;

– время восстановления половины количества радикала (TEC_{50}), мин;

– антирадикальная эффективность (АЕ) – характеристика, связывающая время восстановления половины

количества радикала (TEC_{50}) и необходимую для этого концентрацию субстрата (EC_{50}):

$$AE = 1 / [EC_{50} \times TEC_{50}] \quad (2)$$

Гидроксил-ион связывающая активность. Спектрофотометрическое определение ингибирования гидроксильных радикалов (ОН). Гидроксил-ион связывающая активность полученных экстрактов определялась согласно [30]. 1,5 мМ $FeSO_4$ (0,5 мл) смешивали с 6 мМ H_2O_2 (0,35 мл), 20 мМ салицилатом натрия (0,15 мл) и различными концентрациями (0,2–1,0 мг/мл) образца (по 1 мл). Оптическую плотность образовавшегося гидроксильированного салицилатного комплекса измеряли на сканирующем спектрофотометре марки UV-1800, при $\lambda = 562$ нм. Положительным контролем являлась аскорбиновая кислота. Расчет гидроксил-ион связывающей активности, %, проводили по следующей формуле:

$$\begin{aligned} \text{гидроксил-ион связывающая активность} = \\ = 1 - [A_1 - A_2] / A_0 \times 100 \end{aligned} \quad (3)$$

где A_1 – оптическая плотность сверхкритического экстракта, A_0 – оптическая плотность контрольного раствора, а A_2 – оптическая плотность заготовки реагента без салицилата натрия.

Активность поглощения супероксидных радикалов определяли по методу Ruch и др. [33]. Оптическую плотность измеряли на сканирующем спектрофотометре марки UV-1800, при $\lambda = 230$ нм.

Активность поглощения супероксидных радикалов, %, определяли формулой:

$$\begin{aligned} \text{Активность поглощения супероксидных} \\ \text{радикалов} = [A_0 - A_1] / A_0 \times 100 \end{aligned} \quad (4)$$

где A_0 – оптическая плотность раствора контроля, A_1 – оптическая плотность сверхкритического экстракта.

Определение Fe^{+2} хелатирующей активности проводили согласно [32]. Измеряли оптическую плотность при длине волны 510 нм. Контрольный образец содержит 50 мкл 0,05 % галловой кислоты. Хелатирующую активность рассчитывали по формуле:

$$\% \text{ ингибирования} = A_x / A_{\text{стандарта}} \times 100 \quad (5)$$

В исследовании использовали рафинированное дезодорированное соевое масло (производитель ООО «Приморская соя», Приморский край), рафинированное подсолнечное масло (производитель ООО МЗ «Юг Руси», Ростовская область), нерафинированное соевое масло (производитель ООО «Мерси-Трейд»), нерафинированное подсолнечное масло (производитель АО «Астон», Ростовская область), в которые вносили сверхкритические экстракты бурых водорослей *U. pinnatifida* и *C. costata* в массовой доле 1 %. В качестве контроль-

ных образцов использовали те же самые масла, но без внесения сверхкритических экстрактов.

Определение кислотного числа осуществляли нейтрализацией свободных жирных кислот, содержащихся в навеске, спиртовым раствором гидроксида натрия по ГОСТ 31933-2012, перекисного числа по ГОСТ ISO 3960-2013. Кислотное и перекисное числа в экспериментальных и контрольных образцах определяли каждые 30 дней в течение 15 мес.

Хранение контрольных и экспериментальных образцов растительных масел осуществляли в стеклянной таре без доступа света и кислорода при температуре 20 ± 2 °С.

Статистический анализ

Данные были получены в виде среднего и стандартного отклонения и проанализированы с помощью односторонней ANOVA с помощью SPSS версии 11.5 для Windows. Разница в средних значениях считалась достоверной при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Сверхкритические экстракты бурых водорослей являются источниками биоактивных молекул определенных классов, которые характеризуются различной биологической активностью, в частности антиок-

сидантными свойствами [35]. Содержание основных биологически активных веществ в сверхкритических экстрактах бурых водорослей Дальневосточного региона *Undaria pinnatifida* и *Costaria costata* представлено в таблице 1.

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что в сверхкритических экстрактах бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* преобладают фенольные соединения, содержание которых максимально в экстракте *C. costata*. Содержание пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) также максимально в экстракте *C. costata*.

Проявление антиоксидантных свойств экстрактов обуславливается наличием определенных биологически активных веществ, чаще всего фенольных соединений, что справедливо и для водорослей [34–36]. Исходя из этого, определено качественное и количественное содержание основных фенольных соединений, идентифицированных в сверхкритических экстрактах бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* (табл. 2).

Данные таблицы 2 демонстрируют, что в составе сверхкритических экстрактов бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* идентифицировано 9 фенольных соединений, 6 из которых

Таблица 1. Содержание основных биологически активных веществ в сверхкритических экстрактах бурых водорослей Дальневосточного региона

Table 1. Biologically active substances in supercritical extracts of *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata*

Группа соединений, соединения	Содержание в экстракте, мг/г сухого веса CO ₂ экстракта	
	<i>Undaria pinnatifida</i>	<i>Costaria costata</i>
Полифенолы	25,13 ± 1,12	28,75 ± 1,40
Маннит	4,68 ± 0,23	8,20 ± 0,40
Хлорофилл	0,03 ± 0	0,02 ± 0
Каротиноиды	0,02 ± 0	0,07 ± 0

Данные средние ± CO, n = 3.

Таблица 2. Содержание основных фенольных соединений, идентифицированных в сверхкритических экстрактах бурых водорослей

Table 2. Phenolic compounds in supercritical extracts of *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata*

Соединение	Rt, мин	Содержание, мг/г	
		<i>Undaria pinnatifida</i>	<i>Costaria costata</i>
324 нм			
Кофейная кислота	10,49	2,30 ± 0,11	1,85 ± 0,09
2,5-Дигидроксibenзойная кислота	17,43	0,89 ± 0,03	1,15 ± 0,05
Кумаровая кислота	20,56	8,04 ± 0,31	6,57 ± 0,30
Феруловая кислота	24,19	14,88 ± 0,53	12,02 ± 0,58
Салициловая кислота	44,92	4,90 ± 0,22	6,12 ± 0,28
277 нм			
Галлат эпигаллокатехина	8,13	7,02 ± 0,28	9,87 ± 0,46
Эпикатехин	10,11	36,40 ± 1,61	25,58 ± 1,12
Галлат эпикатехина	13,00	0,52 ± 0,01	1,04 ± 0,05
Сиринговая кислота	14,78	41,28 ± 2,06	58,90 ± 2,01

являются кислотами. Мажорными фенольными соединениями в обоих сверхкритических экстрактах являются эпикатехин, галлат эпигаллокатехина, сиригвая, кумаровая, феруловая и салициловая кислоты. Минимальное содержание определено для галлат эпикатехина и 2,5-дигидроксibenзойной кислоты. Сверхкритический экстракт бурой водоросли *C. costata* характеризуется более высоким содержанием 2,5-дигидроксibenзойной, салициловой и сиригвой кислот, галлат эпигаллокатехина и галлат эпикатехина в сравнении с экстрактом *U. pinnatifida*. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, доказывающих, что идентифицированные в сверхкритических экстрактах бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* фенольные соединения являются характерными для бурых водорослей [39–42].

Оценка антиоксидантной активности сверхкритических экстрактов бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* проведена путем исследования нескольких характеристик – радикалсвязывающих свойств (радикалсвязывающая активность, эффективная концентрация вещества, при которой восстанавливается 50 % свободных радикалов 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил, время восстановления половины количества радикаловДФПГ, антирадикальная эффективность), гидроксил-ион связывающей активности, активности поглощения супероксидных радикалов и Fe^{+2} хелатирующей активности. 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил – это соединение, обладающее выраженными свойствами свободного радикала, что делает его особенно ценным в органическом синтезе и исследованиях в области оксидоредукции. Его способность образовывать стойкие радикальные центры открывает широкий спектр возможностей для различного применения. В представленном исследовании свободный радикал 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил использован как маркер оценки способности антиоксидантных соединений сверхкритических экстрактов бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* поглощать протонные радикалы или быть донорами водорода.

Антирадикальные свойства сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* представлены в таблице 3.

Максимальную радикал связывающую активность демонстрирует сверхкритический экстракт бурой водоросли *C. costata* – на 6,8 % больше, чем экстракт *U. pinnatifida*. Эффективная концентрация вещества, при которой восстанавливается 50 % свободных радикалов 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил (EC_{50}) и время восстановления половины количества радикала (TEC_{50}) наибольшая для сверхкритического экстракта *U. pinnatifida*. Значение антирадикальной эффективности максимально для сверхкритического экстракта *C. costata*. Анализ уровня проявления антирадикальных свойств позволяет утверждать, что сверхкритический экстракт *C. costata* характеризуется более высокой активностью, чем сверхкритический экстракт *U. pinnatifida* – антирадикальная эффективность превышает на 43,5 %, концентрация EC_{50} – на 10,1 %, время TEC_{50} – на 28,8 %. Полученные результаты позволяют предположить о корреляции уровня проявления антирадикальных свойств и содержанием фенольных соединений и каротиноидов. Сверхкритический экстракт *C. costata* характеризовался в сравнении с сверхкритическим экстрактом *U. pinnatifida* более высоким содержанием фенольных соединений – превышение составило 14,4 %, а также каротиноидов – превышение 3,5 раза. Представленные данные доказывают способность фенольных соединений и каротиноидов, присутствующих в исследованных сверхкритических экстрактах бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*, быть поглотителями свободных радикалов. Антирадикальные свойства фенольных соединений и каротиноидов бурых водорослей доказаны и другими исследованиями [43–45].

Кроме антирадикальных свойств, антиоксидантные свойства биологически активных веществ сверхкритических экстрактов бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* оценены способностью эффективно ингибировать окисление дезоксирибозы реакционноспособным гидроксил-ион радикалом ($OH\cdot$), активностью поглощения супероксидных радикалов и Fe^{+2} хелатирующей активностью. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Полученные в таблице 4 данные демонстрируют максимальную гидроксил-ион связывающую активность для сверхкритического экстракта *C. Costata* на 22,2 % больше, чем у сверхкритического экстракта *U. pinnatifida*. Характеристика активности поглоще-

Таблица 3. Антирадикальные свойства сверхкритических экстрактов бурых водорослей

Table 3. Antiradical properties of supercritical extracts of *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata*

Вид водоросли	Антирадикальные свойства			
	Радикал связывающая активность, %	EC_{50} , мкг/мл	TEC_{50} , мин.	АЕ, мкг/л·с
<i>Undaria pinnatifida</i>	62,8 ± 2,9	20,7 ± 1,0	21,0 ± 1,0	0,0023 ± 0
<i>Costaria costata</i>	67,1 ± 3,2	18,8 ± 0,9	16,3 ± 0,9	0,0033 ± 0

Данные средние ± CO, n = 3.

Таблица 4. Антиоксидантные свойства сверхкритических экстрактов бурых водорослей

Table 4. Antioxidant properties of supercritical extracts of *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata*

Вид водоросли	Гидроксил-ион связывающая активность, %	Активность поглощения супероксидных радикалов, %	Fe ⁺² хелатирующая активность, %
<i>Undaria pinnatifida</i>	55,3 ± 2,7	14,7 ± 0,7	40,5 ± 1,8
<i>Costaria costata</i>	67,6 ± 3,3	10,2 ± 0,5	44,1 ± 2,2

ния супероксидных радикалов показала обратное, максимальное значение определено для сверхкритического экстракта *U. Pinnatifida* на 44,1 % больше. Различие значений Fe⁺² хелатирующей активности составило 8,9 %, максимальная для сверхкритического экстракта *C. costata*.

Бурые водоросли характеризуются наличием специфичных фенольных соединений – флоратанинов, которые характеризуются доказанными антиоксидантными свойствами, в том числе являются сильными хелаторами тяжелых металлов. Достаточно высокий уровень проявления гидроксил-ион связывающей активности и Fe⁺² хелатирующей активности связан с значительным содержанием флоратанинов [46–49].

Учитывая, что бурые водоросли характеризуются содержанием большого числа сложных химических соединений, можно предположить, что за проявление антиоксидантных свойств ответственны не только фенольные соединения. Имеется достаточно много исследований, доказывающих антиоксидантные свойства каротиноидов и сульфатированных гетерополисахаридов бурых водорослей [50, 51].

Перекисное число, характеризующее стойкость липидов к окислению, является важным показателем, характеризующим не только качество масложирового продукта, но и его безопасность, так как в процессе окисления происходит накопление первичных и вторичных продуктов, являющихся токсичными. Допустимое значение перекисного числа нормируется ТР ТС 021-2012, для растительных масел оно не должно превышать значение 10 мэкв/кг. Основываясь на доказанных антирадикальных и антиоксидантных свойствах сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*, они были использованы в качестве стабилизирующих агентов в пищевых растительных маслах. С целью более корректного анализа в качестве модельных систем использованы 2 вида традиционных, широко употребляемых растительных масел – соевое и подсолнечное в двух модификациях (рафинированное и нерафинированное). Контролем служили растительные масла без добавления сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*. Кинетика окисления (изменение перекисного числа) исследованных модельных систем представлена на рисунке 1.

Данные рисунка 1 свидетельствуют, что сверхкритические экстракты морских бурых водорослей Дальне-

восточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* являются антиоксидантами, замедляющими процесс окисления липидов. И для соевого, и для подсолнечного, как рафинированного, так и нерафинированного растительных масел перекисные числа модельных систем с сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* ниже, чем у контрольных систем. Растительные масла без добавок сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* в процессе хранения достигают нормативного значения перекисного числа после 12 мес. хранения, для растительных масел с добавками это значение достигается после 15 мес. Необходимо отметить, что стабилизация окисления липидов сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* эффективна как для рафинированных, так и для нерафинированных растительных масел (соевого и подсолнечного). При добавлении сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* практически нивелируется разница в динамике окисления между рафинированными и нерафинированными маслами, в то время как для растительных масел без добавок она является существенной. Сверхкритический экстракт морской бурой водоросли Дальневосточного региона *C. costata* проявляет более выраженное антиоксидантное влияние на окислительные процессы липидов в растительных маслах в сравнении с экстрактом *U. pinnatifida*, что объясняется более высоким уровнем проявления антиоксидантных свойств. Использование сверхкритических экстрактов из растительного сырья в качестве антиоксидантов для масложировых продуктов является эффективным, что подтверждается другими исследованиями [52–57].

Проведена статистическая обработка результатов получением уравнений регрессии, описывающих изменение перекисного числа липидов растительных масел с сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*. Полученные данные представлены в таблице 5.

Как видно из данных таблицы 5, коэффициенты аппроксимации, характеризующие полученные уравнения регрессии являются высокими и составляют не менее 0,9955. Область существования полученных уравнений регрессии x (0–20) мес.

Кроме перекисного числа, не менее важной характеристикой, является кислотное число, характеризующее

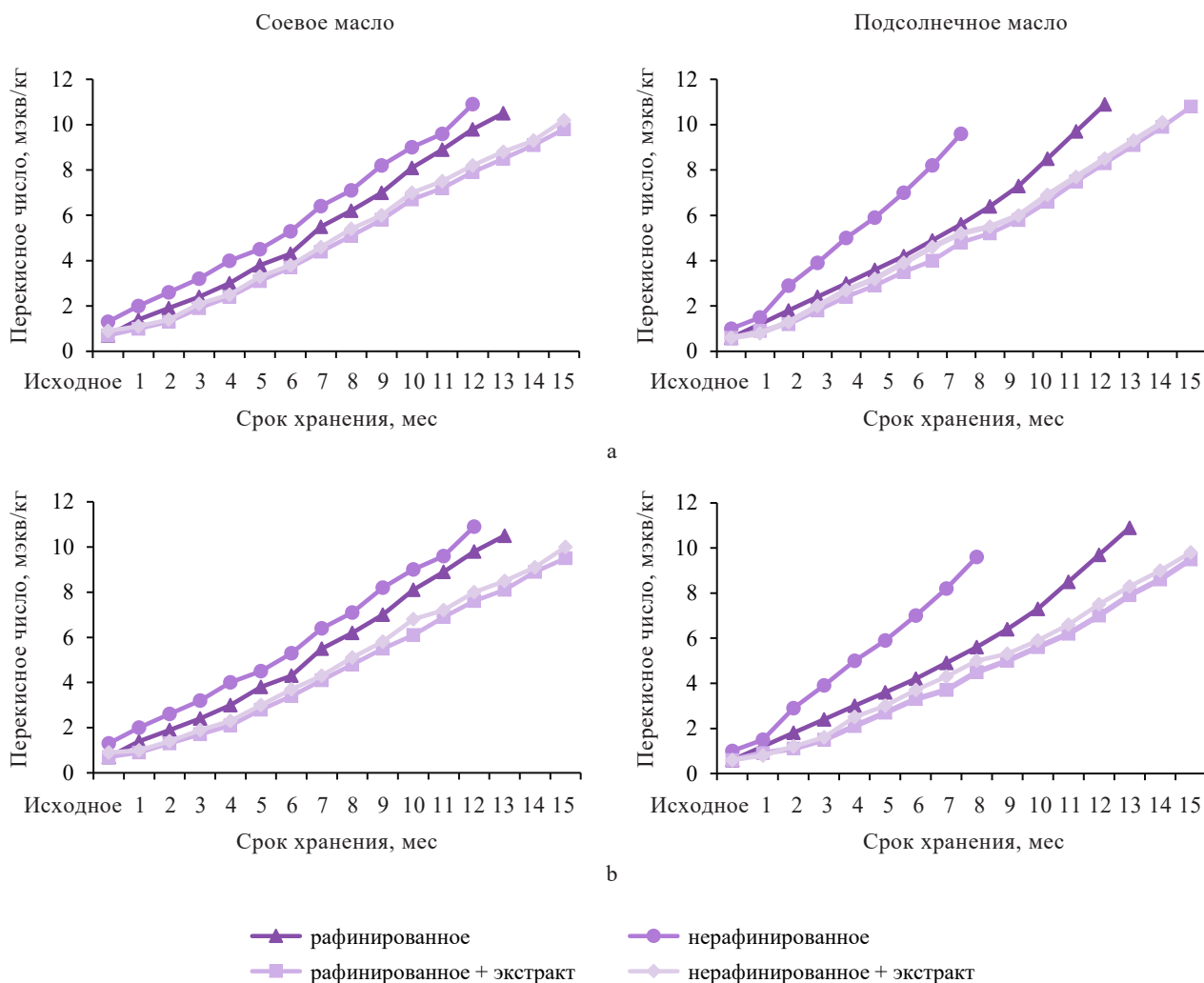


Рисунок 1. Кинетика изменения перекисного числа растительных масел с сверхкритическими экстрактами бурых водорослей: а – *Undaria pinnatifida*; б – *Costaria costata*

Figure 1. Kinetics of changes in peroxide number of vegetable oils with supercritical extracts of brown algae: а – *Undaria pinnatifida*; б – *Costaria costata*

Таблица 5. Уравнения регрессии, описывающие динамику изменения перекисного числа растительных масел с сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей от времени хранения

Table 5. Effect of storage time on peroxide value of vegetable oils with supercritical extracts of brown algae: regression equations

Объект	Перекисное число			
	<i>Undaria pinnatifida</i>		<i>Costaria costata</i>	
	Уравнение регрессии	Коэффициент аппроксимации	Уравнение регрессии	Коэффициент аппроксимации
Соевое нерафинированное	$y = 0,0084x^2 + 0,5099x + 0,0159$	$R^2 = 0,996$	$y = 0,0109x^2 + 0,4543x + 0,0546$	$R^2 = 0,9955$
Соевое рафинированное	$y = 0,0078x^2 + 0,5049x - 0,1093$	$R^2 = 0,9972$	$y = 0,0205x^2 + 0,8738x - 0,0167$	$R^2 = 0,9974$
Подсолнечное нерафинированное	$y = 0,0099x^2 + 0,4682x - 0,0073$	$R^2 = 0,9973$	$y = 0,0113x^2 + 0,4323x - 0,0366$	$R^2 = 0,9974$
Подсолнечное рафинированное	$y = 0,0162x^2 + 0,351x + 0,1632$	$R^2 = 0,9992$	$y = 0,0169x^2 + 0,3116x + 0,1607$	$R^2 = 0,9988$

Примечание: y (мэв/кг) – перекисное число; x (мес) – продолжительность хранения.

Note: y (meq/kg) – peroxide number; x (months) – storage time.

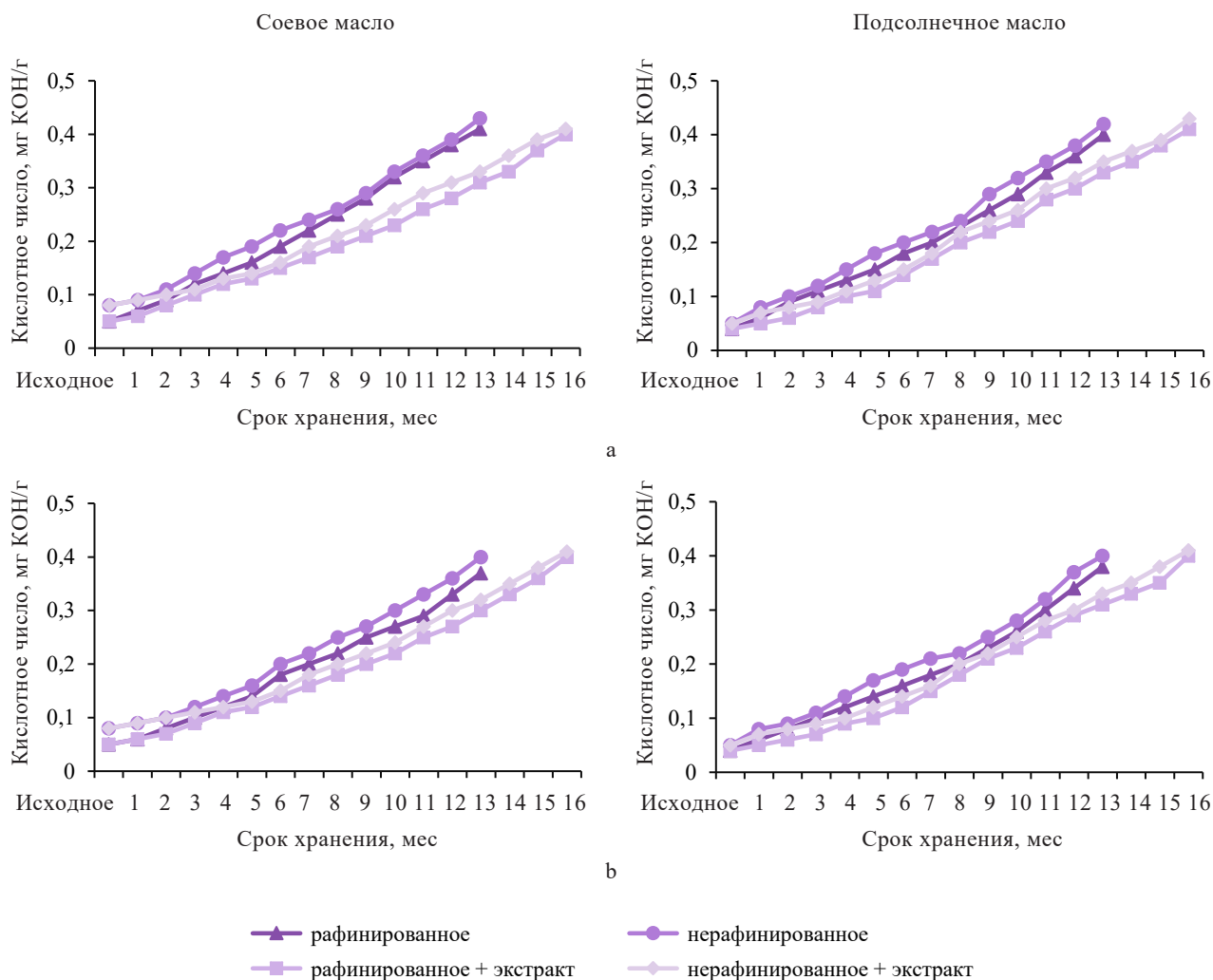


Рисунок 2. Кинетика изменения кислотного числа растительных масел с сверхкритическими экстрактами бурых водорослей: а – *Undaria pinnatifida*; б – *Costaria costata*

Figure 2. Kinetics of changes in acid value of vegetable oils with supercritical extracts of brown algae: а – *Undaria pinnatifida*; б – *Costaria costata*

степень гидролиза липидов и накопление свободных жирных кислот. Увеличение кислотного числа негативно влияет на качество и безопасность растительных масел, нормативное значение – не более 0,4 мг КОН/г. На рисунке 2 представлена кинетика гидролиза липидов модельных систем путем изменения кислотного числа.

Визуализация закономерностей изменения кислотных чисел растительных масел с добавками сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* и без, представленная на рисунке 2, демонстрирует стабилизацию процессов гидролиза. Кислотное число контрольных образцов превышает нормативное значение на 13-м мес. хранения, для модельных систем с сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* на 16 мес. Установленные закономерности

изменения кислотных чисел растительных масел с добавками сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* и без аналогичны закономерностям, определенным для изменения перекисных чисел. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей [56, 57].

Путем статистической обработки результатов получены уравнения регрессии, представляющие математическое описание процесса гидролиза липидов растительных масел с добавками сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*.

Коэффициенты аппроксимации для уравнений регрессии, представленные в таблице 6, являются высокими и составляют не менее 0,9945. Область существования полученных уравнений регрессии x (0–20) мес.

Таблица 6. Уравнения регрессии, описывающие динамику изменения кислотного числа растительных масел с сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей от времени хранения

Table 6. Effect of storage time on acid value of vegetable oils with supercritical extracts of brown algae: regression equations

Объект	Перекисное число			
	<i>Undaria pinnatifida</i>		<i>Costaria costata</i>	
	Уравнение регрессии	Коэффициент аппроксимации	Уравнение регрессии	Коэффициент аппроксимации
Соевое нерафинированное	$y = 0,0006x^2 + 0,0112x + 0,0616$	$R^2 = 0,9973$	$y = 0,0008x^2 + 0,0071x + 0,0697$	$R^2 = 0,9983$
Соевое рафинированное	$y = 0,0005x^2 + 0,0119x + 0,0397$	$R^2 = 0,9987$	$y = 0,0007x^2 + 0,0091x + 0,0409$	$R^2 = 0,9991$
Подсолнечное нерафинированное	$y = 0,0005x^2 + 0,0162x + 0,0263$	$R^2 = 0,9953$	$y = 0,0006x^2 + 0,0122x + 0,0341$	$R^2 = 0,9959$
Подсолнечное рафинированное	$y = 0,0005x^2 + 0,0156x + 0,0138$	$R^2 = 0,997$	$y = 0,0006x^2 + 0,0122x + 0,0181$	$R^2 = 0,9945$

Примечание: y (мг КОН/г) – кислотное число; x (мес.) – продолжительность хранения.

Note: y (mg KOH/g) – acid number; x (months) – storage time.

Выводы

Таким образом, экспериментально доказано, что сверхкритические экстракты морских бурых водорослей Дальневосточного региона *Undaria pinnatifida* и *Costaria costata* являются источниками биоактивных веществ, таких как фенольные соединения, каротиноиды, маннит и характеризуются высоким уровнем проявления антиоксидантных свойств в части антирадикальной активности и эффективности, гидроксил-ион связывающей активности, активности поглощения супероксидных радикалов и Fe^{+2} хелатирующей активности. Фенольные соединения, обуславливающие проявление антиоксидантных свойств представлены 9 веществами. Сверхкритический экстракт морской бурой водоросли Дальневосточного региона *C. costata* продемонстрировал более высокий уровень проявления антиоксидантных свойств, чем экстракт *Undaria pinnatifida*. Использование сверхкритических экстрактов морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* как антиоксидантов для стабилизации окисления липидов эффективно как для рафинированных, так и для нерафинированных растительных масел (соевого и подсолнечного). Сверхкритический экстракт морской бурой водоросли Дальневосточного региона *C. costata* проявляет более выраженное антиоксидантное влияние на окислительные процессы липидов в растительных маслах в сравнении с экстрактом *U. pinnatifida*. Стабилизация про-

цессов гидролиза сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata* также является эффективной и позволяет увеличить срок хранения масел на 3 мес. Полученные уравнения регрессии, описывающие закономерности изменения перекисного и кислотного чисел растительных масел стабилизированных сверхкритическими экстрактами морских бурых водорослей Дальневосточного региона *U. pinnatifida* и *C. costata*, характеризуются высокими коэффициентами аппроксимации.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что никакого конфликта интересов, связанного с публикацией данной статьи, нет.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Machado M, Rodriguez-Alcalá LM, Gomes AM, Pintado M. Vegetable oils oxidation: mechanisms, consequences and protective strategies. Food Reviews International. 2023;39(7):4180–4197. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2026378>
2. Siddiq A, Ambreen G, Hussain K, Baig SG. Oxidative stress and lipid per-oxidation with repeatedly heated mix vegetable oils in different doses in comparison with single time heated vegetable oils. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2019;32(5):2099–2105.

3. Nguyen KA, Hennebelle M, van Duynhoven JPM, Dubbelboer A, Boerkamp VJP, Wierenga PA. Mechanistic kinetic modelling of lipid oxidation in vegetable oils to estimate shelf-life. *Food Chemistry*. 2024;433:137266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137266>
4. Chen X-W, Li X-X, Hu Q-H, Sun S-D, Wan Z-L. Multifactorial revealing the association between components and lipid oxidation of edible vegetable oils in bulk and emulsion systems. *LWT*. 2023;183:114909. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114909>
5. Machado SA, Da Rós PCM, de Castro HF, Giordani DS. Hydrolysis of vegetable and microbial oils catalyzed by a solid preparation of castor bean lipase. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021;37:102188. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102188>
6. Jaarin K, Kamisah Y. Lipid peroxidation. In: Catala A, editor. *Repeatedly Heated Vegetable Oils and Lipid Peroxidation*. Argentina: Universidad Nacional de La Plata; 2012. pp.211–228. <https://doi.org/10.5772/46076>
7. Zubova EV, Shamina EI. The effect of antioxidants on quality and storage vegetable oils. *Vestnik of Nizhny Novgorod State Agrotechnological University*. 2017;(1):42–46 (In Russ.). [Зубова Е. В., Шамина Е. И. Влияние антиоксидантов на качество и хранение растительных масел // Вестник нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. 2017. № 1. С. 42–46.]. <https://www.elibrary.ru/YSGUZZ>
8. Averyanova EV, Shkolnikova MN, Chugunova OV. Antioxidant properties of triterpenoids in fat-containing products. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(2):233–243. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2358>; <https://www.elibrary.ru/OZYTYK>
9. Nechaev AP, Samoylov AV, Bessonov VV, Nikolaeva YuV, Tarasova VV, Pilipenko OV. Influence of antioxidants in native and micelle forms on the shelf life of the emulsion fat product. *Problems of Nutrition*. 2020;89(5):101–109. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10070>; <https://www.elibrary.ru/WWGVZA>
10. Timakova RT. Study of the effect of medicinal and technical raw materials of antioxidant orientation on the storage capacity of sunflower oil. *XXI Century: Resumes of the Past and Challenges of the Present Plus*. 2021;10(10):161–164. (In Russ.). <https://doi.org/10.46548/21vek-2021-1053-0029>; <https://www.elibrary.ru/TTQONA>
11. Oleynikov VV. Antioxidant and antimicrobial properties of oregano extract (*Origanum vulgare herba* L.). *Foods and Raw Materials*. 2020;8(1):84–90. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-84-90>; <https://www.elibrary.ru/WORGNQ>
12. Wang W, Xiong P, Zhang H, Zhu Q, Liao C, Jiang G. Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxidants: A review. *Environmental Research*. 2021;201:111531. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111531>
13. Righi F, Pitino R, Manuelian CL, Simoni M, Quarantelli A, De Marchi M, Tsiplakou E. Plant Feed Additives as Natural Alternatives to the Use of Synthetic Antioxidant Vitamins on Poultry Performances, Health, and Oxidative Status: A Review of the Literature in the Last 20 Years. *Antioxidants*. 2021;10(5):659. <https://doi.org/10.3390/antiox10050659>
14. Olajide TM, Rahman MdRT, Lou Z, Qi J. Natural or Synthetic Antioxidants in Foods. In: Goyal MR, Suleria HAR, editors. *Human Health Benefits of Plant Bioactive Compounds*. New York: Apple Academic Press; 2019. pp. 55–65. <https://doi.org/10.1201/9780429457913>
15. Uwineza PA, Waśkiewicz A. Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials. *Molecules*. 2020;25(17):3847. <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>
16. Gallego R, Bueno M, Herrero M. Suband supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae—An update. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2019;116:198–213. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.030>
17. Urbonavičienė D, Bobinas Č, Bobinaitė R, Raudonė L, Trumbeckaitė S, Viškėlis J, et al. Composition and antioxidant activity, supercritical carbon dioxide extraction extracts, and residue after extraction of biologically active compounds from freeze-dried tomato matrix. *Processes*. 2021;9(3):467. <https://doi.org/10.3390/pr9030467>
18. Pimentel-Moral S, Borrás-Linares I, Lozano-Sánchez J, Arráez-Román D, Martínez-Férez A, Segura-Carretero A. Supercritical CO₂ extraction of bioactive compounds from *Hibiscus sabdariffa*. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019;147:213–221. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.11.005>
19. Ostolski M, Adamczak M, Brzozowski B, Wiczowski W. Antioxidant activity and chemical characteristics of supercritical CO₂ and water extracts from willow and poplar. *Molecules*. 2021;26(3):545. <https://doi.org/10.3390/molecules26030545>
20. Jelani ANA, Azlan A, Khoo HE, Razman MR. Fatty acid profile and antioxidant properties of oils extracted from dabai pulp using supercritical carbon dioxide extraction. *International Food Research Journal*. 2019;26(5):1587–1598.
21. Gong T, Liu S, Wang H, Zhang M. Supercritical CO₂ fluid extraction, physicochemical properties, antioxidant activities and hypoglycemic activity of polysaccharides derived from fallen *Ginkgo* leaves. *Food Bioscience*. 2021;42:101153. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101153>
22. Muangrat R, Jirattanarangsri W. Physicochemical properties and antioxidant activity of oil extracted from Assam tea seeds (*Camellia sinensis* var. *assamica*) by supercritical CO₂ extraction. *Journal of food processing and preservation*. 2020;44(3):e14364. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14364>
23. Silva A, Rodrigues C, Garcia-Oliveira P, Lourenço-Lopes C, Silva SA, Garcia-Perez P, et al. Screening of bioactive properties in brown algae from the northwest iberian peninsula. *Foods*. 2021;10(8):1915. <https://doi.org/10.3390/foods10081915>

24. Tabakaev AV, Tabakaeva OV, Piekoszewski W, Kalenik TK, Poznyakovskiy VM. Antioxidant properties of edible sea weed from the Northern Coast of the Sea of Japan. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(2):262–270. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-262-270>
25. Rajauria G. In-vitro antioxidant properties of lipophilic antioxidant compounds from 3 brown seaweed. *Antioxidants*. 2019;8(12):596. <https://doi.org/10.3390/antiox8120596>
26. Aminina NM, Karaulova EP, Vishnevskaya TI, Yakush EV, Kim YK, Nam KH, et al. Characteristics of polyphenolic content in brown algae of the Pacific Coast of Russia. *Molecules*. 2020;25(17):3909. <https://doi.org/10.3390/molecules25173909>
27. Remya RR, Samrot AV, Kumar SS, Mohanavel V, Karthick A, Chinnaiyan VK, et al. Bioactive potential of brown algae. *Adsorption Science and Technology*. 2022;1–13. <https://doi.org/10.1155/2022/9104835>
28. Alloyarova YuV, Kolotova DS, Derkach SR. Nutritional and therapeutic potential of functional components of brown seaweed: A review. *Foods and Raw Materials*. 2024;12(2):398–419. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-616>
29. Sapozhnikov DI. Pigments of plastids of green plants and methods of their research, Moscow: Science; 1964. 129 p. (In Russ.). [Сапожников Д. И. Пигменты пластид зеленых растений и методы их исследования, Москва: Наука, 1964, 129 с.]
30. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 2004;26(2):211–219.
31. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. 1989;28:1057–1060. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80182-7](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80182-7)
32. Ruch RJ, Cheng, S-J, Klaunig JE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*. 1989;10:1003–1008. <https://doi.org/10.1093/carcin/10.6.1003>
33. Patel DS, Shah PB, Managoli NB. Evaluation of in-vitro antioxidant and free radical scavenging activities of *Withania somnifera* and *Aloe vera*. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*. 2012;2(4):143–147.
34. Tabakaeva OV, Tabakaev AV. Supercritical extract from the Japanese sea brown algae *Undaria pinnatifida* as a source of bioactive compounds. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(3):416–424. (In Russ.). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-3-416-424>; <https://www.elibrary.ru/JRWASG>
35. Lee CH, Park YN, Lee SG. Analysis and comparison of bioactive compounds and total antioxidant capabilities of Korean brown algae. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 2020;52(1):54–59. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2020.52.1.54>
36. Naveen J, Baskaran R, Baskaran V. Profiling of bioactives and *in vitro* evaluation of antioxidant and antidiabetic property of polyphenols of marine algae *Padina tetrastratica*. *Algal Research*. 2021;55:102250. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102250>
37. Hodhodi A, Babakhani A, Rostamzad H. Effect of different extraction conditions on phlorotannin content and antioxidant activity of extract from brown algae (*Sargassum angustifolium*). *Journal of Food Processing and Preservation*. 2022;46(3):e16307. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16307>
38. Heffernan N, Brunton N P, FitzGerald RJ, Smyth TJ. Profiling of the molecular weight and structural isomer abundance of macroalgae-derived phlorotannins. *Marine Drugs*. 2015;13(1):509–528. <https://doi.org/10.3390/md13010509>
39. Agregán R, Munekata PES, Franco D, Dominguez R, Carballo J, Lorenzo JM. Phenolic compounds from three brown seaweed species using LC-DAD–ESI-MS/MS. *Food Research International*. 2017;99:979–985. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.043>
40. Zolotariova YeK, Mokrosnop VM, Stepanov SS. Polyphenol compounds of macroscopic and microscopic algae. *International Journal on Algae*. 2019;21(1):5–24. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v21.i1.10>
41. Sanger G, Wonggo D, Montolalu LADY, Dotulong V. Pigments constituents, phenolic content and antioxidant activity of brown seaweed *Sargassum* sp. *Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022;1033(1):012057. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1033/1/012057>
42. Tabakaeva OV, Tabakaev AV. Carotenoid profile and antiradical properties of brown seaweed *Sargassum miyabei* extracts. *Chemistry of Natural Compounds*. 2019;55:364–366. <https://doi.org/10.1007/s10600-019-02692-w>
43. Fomenko SE, Kushnerova NF, Sprygin VG, Drugova ES, Lesnikova LN, Merzlyakov VYu, et al. Lipid composition, content of polyphenols, and antiradical activity in some representatives of marine algae. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019;66:942–949. <https://doi.org/10.1134/S1021443719050054>
44. Balasubramaniam V, June Chelyn L, Vimala S, Mohd Fairulnizal MN, Brownlee IA, Amin I. Carotenoid composition and antioxidant potential of *Eucheuma denticulatum*, *Sargassum polycystum* and *Caulerpa lentillifera*. *Heliyon*. 2020;6(8):e04654. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04654>
45. Gómez I, Huovinen P. Brown algal phlorotannins: an overview of their functional roles. In: Gómez I, Huovinen P, editors. *Antarctic seaweeds: Diversity, adaptation and ecosystem services*. Cham: Springer; 2020. pp. 365–388. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39448-6_18
46. Ummat V, Tiwari BK, Jaiswal AK, Condon K, Garcia-Vaquero M, O'Doherty J. Optimisation of ultrasound frequency, extraction time and solvent for the recovery of polyphenols, phlorotannins and associated antioxidant activity from brown seaweeds. *Marine Drugs*. 2020;18(5):250. <https://doi.org/10.3390/md18050250>

47. Zheng H, Zhao Y, Guo L. A bioactive substance derived from brown seaweeds: Phlorotannins. *Marine Drugs*. 2022; 20(12):742. <https://doi.org/10.3390/md20120742>
48. Farvin KHS, Surendraraj A, Al-Ghunaim A, Al-Yamani F. Chemical profile and antioxidant activities of 26 selected species of seaweeds from Kuwait coast. *Journal of Applied Phycology*. 2019;31:2653–2668. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-1739-8>
49. Gopidas SK, Subramani N. *In vitro* antioxidant and cytotoxic properties of fucoidan from three Indian brown seaweeds. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2019;12(9):99–105. <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i9.34164>
50. Koh HSA, Lu J, Zhou W. Structure characterization and antioxidant activity of fucoidan isolated from *Undaria pinnatifida* grown in New Zealand. *Carbohydrate polymers*. 2019;212:178–185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.040>
51. Swaminathan R, Syed Ali M, Anuradha V, Abinaya R, Ananthalakshmi JS, Yogananth N. Antioxidant potential of fucose isolated from the marine macroalgae padina gymnospora. *Bioscience Biotechnology Research Communications*. 2021;14(3):1302–1308. <http://dx.doi.org/10.21786/bbrc/14.3.59>
52. Kalenik TK, Darwish F, Alradzhab M, Razgonova MP, Senotrusova TA, Motkina EV. Influence of CO₂ extracts of mint (*Mentha piperita* L.) and clove (*Syzygium aromaticum* L.) On the oxidative stability of soybean oil. *Bulletin of Kamchatka State Technical University*. 2021;55:29–40. (In Russ.). <https://doi.org/10.17217/2079-0333-2021-55-29-40>; <https://www.elibrary.ru/BNATOY>
53. Čížmek L, Kralj MB, Čož-Rakovac R, Mazur DM, Ul'yanovskii NV, Likon M, *et al.* Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Four Medicinal Mediterranean Plants: Investigation of Chemical Composition and Antioxidant Activity. *Molecules*. 2021;26(18):5697. <https://doi.org/10.3390/molecules26185697>
54. Buelvas-Puello LM, Franco-Arnedo G, Martínez-Correa HA, Ballesteros-Vivas D, del Sánchez-Camargo AP, Miranda-Lasprilla D, *et al.* Supercritical Fluid Extraction of Phenolic Compounds from Mango (*Mangifera indica* L.) Seed Kernels and Their Application as an Antioxidant in an Edible Oil. *Molecules*. 2021;26(24):7516. <https://doi.org/10.3390/molecules26247516>
55. del Sánchez-Camargo AP, L-F Gutiérrez, Vargas SM, HA Martínez-Correa, Parada-Alfonso F, Narváez-Cuenca C-E. Valorisation of mango peel: Proximate composition, supercritical fluid extraction of carotenoids, and application as an antioxidant additive for an edible oil. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019;152:104574. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104574>
56. Rebey IB, Bourgou S, Detry P, Wannes WA, Kenny T, Ksouri R, *et al.* Green Extraction of Fennel and Anise Edible Oils Using Bio-Based Solvent and Supercritical Fluid: Assessment of Chemical Composition, Antioxidant Property, and Oxidative Stability. *Food and Bioprocess Technology*. 2019;12:1798–1807. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02341-8>
57. Blasi F, Cossignani L. An overview of natural extracts with antioxidant activity for the improvement of the oxidative stability and shelf life of edible oils. *Processes*. 2020;8(8):956. <https://doi.org/10.3390/pr8080956>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2529>
<https://elibrary.ru/NLAVOY>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Разработка технологии хлебобулочных изделий с использованием цельносмолотой полбяной муки



Р. Х. Кандроков^{1,*}, Т. И. Юрченко¹, В. В. Румянцева²

¹ Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

² Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева^{ROR}, Орел, Россия

Поступила в редакцию: 18.12.2023

Принята после рецензирования: 10.02.2024

Принята к публикации: 05.03.2024

Р. Х. Кандроков: nart132007@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-2003-2918>

Т. И. Юрченко: <https://orcid.org/0000-0001-7365-0678>

В. В. Румянцева: <https://orcid.org/0009-0006-3198-4550>

© Р. Х. Кандроков, Т. И. Юрченко, В. В. Румянцева, 2024



Аннотация.

Мировая практика показывает, что полбяная мука получила широкое распространение при производстве продуктов питания из растительного сырья за счет повышенной пищевой ценности. Принимая во внимание высокое содержание белка в полбяной муке, особый интерес представляет разработка новых видов хлебобулочных изделий из слоеного теста с использованием цельносмолотой полбяной муки.

Объектами исследования являлись дрожжевые и бездрожжевые слоеные изделия, содержащие цельносмолотую полбяную муку. С помощью общепринятых органолептических и физико-химических методов исследования анализировали: влажность, кислотность, количество и качество клейковины, число падения.

В результате исследования установили оптимальную дозировку цельносмолотой полбяной муки для выпечки слоеных изделий, которая составила 30 % от общей массы муки. Показатели качества соответствовали требованиям ГОСТ 9511-80. Разработали рецептуру и технологию производства дрожжевых и бездрожжевых слоеных изделий повышенной пищевой ценности с использованием цельносмолотой полбяной муки. Расчетным путем определили химический состав и энергетическую ценность в 100 г готового продукта. Проведенный расчет показал, что добавление 30 % полбяной цельносмолотой муки в рецептуру дрожжевых слоеных изделий увеличивает содержание белка на 32,3 %, углеводов – на 31,7 %, пищевых волокон – на 63,0 %, минеральных веществ – на 43,2 %, при этом количество жира увеличивается незначительно – на 1,6 %. Добавление 30 % полбяной цельносмолотой муки в рецептуру бездрожжевых слоеных изделий повышает количество белка на 13,5 %, углеводов – на 23,3 %, пищевых волокон – на 3,6 %, минеральных веществ – на 21,6 %, при небольшом повышении количества жира на 2,5 %.

Применение цельносмолотой полбяной муки позволяет расширить ассортимент обогащенных слоеных изделий, при этом бездрожжевые слоеные изделия имеют более высокие потребительские характеристики по сравнению с дрожжевыми.

Ключевые слова. Полба, цельносмолотая полбяная мука, мучные изделия, слоеные изделия, нетрадиционное сырье, обогащение, пищевая ценность, качество

Для цитирования: Кандроков Р. Х., Юрченко Т. И., Румянцева В. В. Разработка технологии хлебобулочных изделий с использованием цельносмолотой полбяной муки // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 598–609. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2529>

New Technology of Bakery Products of Whole-Ground Spelt Flour



Roman Kh. Kandrov^{1,*}, Tatyana I. Yurchenko¹,
Valentina V. Rumyantseva²

¹ Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

² Turgenev Orel State University^{ROR}, Orel, Russia

Received: 18.12.2024

Revised: 10.02.2024

Accepted: 05.03.2024

Roman Kh. Kandrov: nart132007@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-2003-2918>

Tatyana I. Yurchenko: <https://orcid.org/0000-0001-7365-0678>

Valentina V. Rumyantseva: <https://orcid.org/0009-0006-3198-4550>

© R.Kh. Kandrov, T.I. Yurchenko, V.V. Rumyantseva, 2024



Abstract.

Spelt flour is rich in protein and adds nutritional value to bakery products, thus rendering them qualities of functional foods. The article introduces a new technology for preparing functional puff pastry with whole-grain spelt flour.

The research featured yeast and yeast-free puff pastries made of whole-grain spelt flour. The samples obtained were analyzed with standard methods of sensory and physicochemical research and covered such variables as moisture content, acidity, quantity and quality of gluten, and falling number.

The optimal share of whole-grain spelt flour amounted to 30% of total flour. The quality indicators met State Standard GOST 9511-80. The experiments made it possible to obtain the optimal formulations and technologies for yeast and yeast-free whole-grain spelt puff pastries with added nutritional value. The chemical composition and energy value per 100 g of finished product were determined by calculation. In the yeast puff pastry, adding 30% whole-grain spelt flour raised the protein content by 32.3%, carbohydrates by 31.7%, dietary fiber by 63.0%, and minerals by 43.2%. The fat increased only slightly, i.e., by 1.6%. In the yeast-free puff pastry, adding 30% whole-grain spelt flour raised the protein content by 13.5%, carbohydrates by 23.3%, dietary fiber by 3.6%, and minerals by 21.6%. The fat increase was also insignificant (2.5%).

Whole-grain spelt flour proved able to expand the range of fortified puff pastries. The new yeast-free functional puff pastry demonstrated better consumer characteristics than the experimental sample with yeast.

Keywords. Spelt, whole-ground spelt flour, flour products, puff pastry, non-traditional raw materials, fortification, nutritional value, quality

For citation: Kandrov RKh, Yurchenko TI, Rumyantseva VV. New Technology of Bakery Products of Whole-Ground Spelt Flour. Food Processing: Techniques and Technology. 2024; 54(3):598–609. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2529>

Введение

Вопрос обогащения продуктов питания биологически активными компонентами, макро- и микроэлементами в последние годы находится в фокусе исследовательского внимания и вопрос формирования государственной политики в области здорового питания является не только актуальным. Поддержка государством этого приоритетного направления обусловлена тем, что повседневный образ жизни среднестатистического россиянина не обеспечивает соблюдение принципов сбалансированного питания. Питание играет неотъемлемую роль в поддержании здоровья человека и напрямую зависит от качества употребляемой пищи. Сохранение и укрепление здоровья населения – одна из приоритетных задач Российского государства [1, 2].

В аспекте данной проблематики производители ставят перед собой задачу повысить пищевую ценность продуктов за счет использования нерафини-

рованного сырья, отличающегося минимальной степенью очистки, вместе с этим повышенной пищевой ценностью, которое позволяет увеличить количество нутриентов, необходимых для поддержания физиологических процессов в организме человека. Глубокое и всестороннее решение данной проблемы для производителей является реализацией Федерального Закона «О сельскохозяйственной продукции, сырье и продовольствии с улучшенными характеристиками» от 11.06.2021 № 159-ФЗ. Рассматривая статистику, полученную путем опроса респондентов касаясь здорового питания, было выявлено, что здоровый образ жизни на сегодняшний день выступает в роли потребительского тренда. Отсюда большая часть покупателей уделяет особое внимание полезным продуктам, ставя их на первое место. Одновременно передовые производители стараются следовать не только законодательной базе, но и трендам [3].

Развитие кондитерской и хлебопекарной промышленности достигается за счет модификации и внедрения в технологию изделий обогатителей, которые повышают биологическую ценность изделий и качество готового продукта. Рассматривая рынок хлебобулочных изделий на сегодняшний день, большее предпочтение потребитель отдает мелкоштучным, в т. ч. и слоеным изделиям. Они могут быть приготовлены как из дрожжевого, так и бездрожжевого теста, отличительной особенностью которых является большое содержание жира и слоистая структура [4, 5].

Технология производства слоеных изделий позволила занять им одну из лидирующих позиции на рынке. Благодаря длительному сроку хранения, химический состав слоеных изделий не сбалансирован. Поэтому одной из актуальных задач хлебопекарной и кондитерской промышленности является разработка и выпуск новых видов сбалансированных пищевых продуктов. Ввиду этого у производителей растет интерес к использованию нетрадиционных видов растительного сырья. Актуальным решением проблемы дефицита полезных нутриентов в технологии продуктов, питания из рафинированного сырья, является внесение в традиционную рецептуру изделия различных обогатителей. Основная цель обогащения изделий – сохранение или повышение пищевой ценности отдельных продуктов питания в рационе населения. Использование продуктов переработки зерновых культур нашло широкое применение в кондитерской и хлебопекарной отрасли, с целью обогащения мучных изделий полезными для здоровья питательными веществами. К таким продуктам относятся рисовая, кукурузная, ячменная, овсяная, гречневая, тритикалевая, а также полбяная мука [6–8].

Результаты сравнительного анализа свидетельствуют о том, что использование цельносмолотой полбяной муки при производстве хлеба и макаронных изделий позволяет повысить пищевую ценность за счет увеличения содержания белков, жиров, углеводов, пищевых волокон. Цельносмолотая полбяная мука превосходит пшеничную по своему химическому составу [9, 10]. Полбяная мука богата не только большим содержанием пищевых волокон, но и минеральными веществами, в т. ч. цинком, натрием, кальцием, железом и витаминами группы В. Богатый химический состав полбы позволяет использовать ее в качестве альтернативного сырья для получения продуктов с улучшенными характеристиками, в частности с повышенной пищевой ценностью [11, 12]. Практическое применение полбяная мука нашла в области производства мучных кондитерских изделий. Разработали технологию добавления полбяной муки взамен пшеничной муки в базовую рецептуру сдобного печенья. Проведенные исследования показали, что внесение полбяной муки в количестве до 40 % взамен пшеничной приводят к улучшению органолептических показателей готового продукта [13]. Существует технология производства сахарного печенья, в котором добавляли пол-

бяную муку в рецептуру, доказав целесообразность ее применения [14]. Проведены исследования влияния полбяной муки на качество кексов [15]. Авторы выявили повышение пищевой ценности готового продукта, вместе с тем органолептические показатели соответствовали нормативно-технической документации. Разработали технологию практического применения использования полбяной муки при приготовлении песочного теста [16].

Однако в результате изучения различных разработок исследования в области использования полбяной муки в производстве слоеных изделий выявлено не было, что свидетельствует о целесообразности рассмотрения данного научно-практического подхода в сфере обогащения продуктов питания, произведенных из рафинированного сырья, источниками повышающую пищевую ценность [3, 6, 9].

Зарубежные исследования посвящены выявлению фальсификации полбяной муки и изделий из нее, полногеномному маркерному анализу сортов мягкой пшеницы и полбы, наличию микотоксинов в зерне полбы и мягкой пшеницы и в продуктах их переработки, различия в протеоме муки из полбы и пшеницы, генетической изменчивости глиадинов и некоторых качественных характеристик полбы, влиянию стресса засухи на *Triticum spelta* L., на структурные и функциональные характеристики полбы, изменчивости белка зерна полбы, специфичным для полбы белках глютеина HMW европейской полбы (*Triticum spelta* L), и др. [16–27].

Цель исследования заключалась в разработке технологии слоеных изделий с использованием цельносмолотой полбяной муки для повышения пищевой ценности готового продукта.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись изделия из слоеного теста и муки пшеничной хлебопекарной высшего сорта с применением нетрадиционного вида сырья – цельносмолотой полбяной муки. При изучении технологических свойств сырья, полуфабрикатов и качества готовых изделий, были использованы общепринятые органолептические и физико-химические методы исследований.

В качестве основного сырья использовали муку пшеничную высшего сорта (ГОСТ 26574-2017) и цельносмолотую полбяную муку (ТУ 10.61.20–001–32916290). В лабораторных условиях исследовали следующие физико-химические показатели: влажность, кислотность, количество и качество клейковины, число падения. Анализ готовых слоеных изделий производили в соответствии с требованиями ГОСТ 9511-80.

Органолептические и физико-химические показатели качества цельносмолотой полбяной и муки пшеничной хлебопекарной высшего сорта представлены в таблице 1.

Качество хлебопекарных дрожжей соответствовало ГОСТ Р 54731-2011. Качество маргарина, использу-

Таблица 1. Органолептические и физико-химические показатели качества муки

Table 1. Whole-grain spelt flour vs. premium grade wheat flour: sensory and physicochemical quality indicators

Наименование показателя	Вид муки	
	Цельнозерновая полбяная	Пшеничная хлебопекарная высшего сорта
Массовая доля влаги, %	14,5 ± 0,5	14,0 ± 0,5
Белизна, ед. пр. РЗ-БПЛ	1,3 ± 0,5	54,0 ± 0,5
Массовая доля золы, %	2,02 ± 0,05	0,54 ± 0,05
Массовая доля сырой клейковины, %	29,2 ± 0,5	28,0 ± 0,5
Качество сырой клейковины, ед. ИДК	79,0 ± 1,0	65,0 ± 1,0
Кислотность, град.	4,0 ± 0,2	3,8 ± 0,2
Число падения, с.	430,0 ± 1,0	313,0 ± 1,0
Цвет	Белый цвет с сероватым оттенком	Белый цвет с кремовым оттенком
Вкус	Без постороннего привкуса	Без постороннего привкуса
Запах	Без посторонних запахов	Без посторонних запахов
Наличие минеральной примеси	Не имеется	Не имеется
Металломангнитная примесь	Не допускается	Не допускается
Зараженность вредителями	Не допускается	Не допускается
Загрязненность вредителями	Не допускается	Не допускается

емого при слоении теста или добавления его в рецептуру, соответствовало ГОСТ 32188-2013, соль пищевая Экстра – ГОСТ Р 51574-2018, сахар белый – ГОСТ 33222-2015, яйца куриные – ГОСТ 31654-2012, лимонная кислота – ГОСТ 908-2004, вода питьевая – санитарным правилам и нормам СанПиН 2.1.4.1074-01.

Результаты и их обсуждение

При производстве хлебобулочных изделий пшеничная мука является основным видом сырья. В большинстве случаев используется мука пшеничная высшего или первого сорта, отвечающая требованиям ГОСТ 26574-2017.

Технология производства слоеных изделий предусматривает прослаивание пластов теста жировыми компонентами и использование муки с сильной клейковиной не менее 30 %. Количество клейковины влияет не только на упругость и объем готового изделия, но и на результат процесса раскатки теста, т. е. на разрывы при многократной прокатке [11]. Мука пшеничная высшего сорта является рафинированным сырьем, что обуславливает ее низкую пищевую ценность в сравнении с полбяной мукой.

Полба содержит практически все питательные вещества в сбалансированном составе – не только в оболочке зерна, а равномерно по всей зерновке. Это означает, что она сохраняет питательную ценность даже при самом грубом помоле. Однако, исходя из проведенных исследований, при переработке зерна полбы возможно получить только муку 2 сорта. Сравнительный анализ химического состава цельнозерновой полбяной муки и пшеничной муки высшего сорта представлен в таблице 2.

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что химический состав цельнозерновой полбяной муки позволяет

использовать ее в качестве ценного локального нетрадиционного сырья в кондитерской и хлебопекарной промышленности. Сбалансированный химический состав цельнозерновой полбяной муки по сравнению с пшеничной мукой высшего сорта, дает основание для применения ее в технологии обогащенных изделий из слоеного теста с частичной заменой основного сырья.

Технология выработки слоеного теста и слоеных изделий с использованием цельнозерновой полбяной муки в качестве обогатителя пищевой ценности изделий не нашло широкого применения. Многие хлебопекарные предприятия, занимающиеся производством слоеных изделий, работают по старым технологиям без учета новых методов и приемов, в том числе не используют новые виды сырья.

За основу исследований были взяты стандартные рецептуры, представленные в таблицах 3 и 4. Замес теста, слоение и выпечка слоеных изделий производились в лабораторных условиях. Приготовление опытных образцов бездрожжевого теста из смеси пшеничной муки высшего сорта и цельнозерновой полбяной муки, а также контрольного образца из пшеничной муки, производилось согласно рецептуре, представленной в таблице 3.

Приготовление бездрожжевого слоеного теста и изделий из него, производили согласно технологии из сборника технологических инструкций [13]. Замес бездрожжевого теста изготавливали в лабораторной тестомесильной машине. Соль и сахар вносили в тесто в виде раствора. Процесс релаксации осуществлялся в расстоечном шкафу при температуре 25 ± 2 °С. Раскатка и слоение теста маргарином, осуществлялось в лабораторных условиях. Выпечка производилась в лабораторной печи при температуре 220 °С в течение 35 мин.

Таблица 2. Сравнительный анализ химического состава муки

Table 2. Whole-grain spelt flour vs. premium grade wheat flour: chemical composition

Нутриент, г/100 г сухого вещества	Вид муки	
	Пшеничная хлебопекарная высшего сорта	Цельнозерновая полбяная
Белки, г	10,8 ± 0,5	10,9 ± 0,5
Жиры, г	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Углеводы, г	69,9 ± 0,5	73,3 ± 0,5
Пищевые волокна, г	3,5 ± 0,1	4,9 ± 0,1
Витамины:		
Витамин В4, холин, мг	52,0 ± 0,5	220,0 ± 0,5
Витамин В6, пиридоксин, мг	0,2 ± 0,01	0,3 ± 0,01
Витамин Н, биотин, мкг	2,0 ± 0,1	0,2 ± 0,1
β-каротин, мг	–	0,1 ± 0,01
Макроэлементы, мкг:		
Калий, К	122,0 ± 1,0	240,0 ± 1,0
Кальций, Са	18,0 ± 0,5	176,0 ± 0,5
Магний, Mg	16,0 ± 0,5	140,0 ± 0,5
Фосфор, Р	86,0 ± 1,0	376,0 ± 1,0
Микроэлементы:		
Железо, Fe, мг	1,2 ± 0,01	4568,0 ± 0,01
Марганец, Mn, мг	0,6 ± 0,01	5948,0 ± 0,01
Медь, Cu, мкг	100,0 ± 1,0	627,0 ± 1,0
Усвояемые углеводы, г:		
Крахмал и декстрины	67,9 ± 1,0	68,9 ± 1,0
Моносахариды	1,0 ± 0,01	4,4 ± 0,01

Таблица 3. Рецепт контрольного и опытных образцов бездрожжевого слоеного теста

Table 3. Fortified yeast-free puff pastries vs. control: formulation details

Рецептурные компоненты	Контроль (100 % пшеничной муки)	Опытные образцы (количество цельнозерновой полбяной муки, % к массе пшеничной муки)		
		Образец № 1 (30 %)	Образец № 2 (40 %)	Образец № 3 (50 %)
Приготовление бездрожжевого теста				
Мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта	300	210	180	150
Полбяная мука цельнозерновая	–	90	120	150
Соль, 1,5 %	4,5	4,5	4,5	4,5
Яйца, 15 %	45	45	45	45
Лимонная кислота, 0,5%	1,5	1,5	1,5	1,5
Вода, 56 %	170	170	170	170
Приготовление жиромучной смеси				
Маргарин с массовой долей жира 82 % для слоения, 66 %	198	198	198	198
Мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта, 10 %	19,8	19,8	19,8	19,8

Приготовление опытных образцов дрожжевого теста из смеси пшеничной муки высшего сорта и цельнозерновой полбяной муки, а также контрольного образца из пшеничной муки, производилось согласно рецептуре, приведенной в таблице 4.

Замес теста производили безопасным способом. При замесе теста опасным способом наблюдали деформа-

цию и разрыв тестовых заготовок при расстойке и выпечке образцов. Была проведена серия пробных лабораторных выпечек для получения данных о влиянии количества цельнозерновой полбяной муки на качество слоеных изделий (дрожжевых и бездрожжевых).

Серия пробных лабораторных выпечек проводилась для получения данных о влиянии дозировки полбяной

Таблица 4. Рецепт приготовления контрольного и опытных образцов дрожжевого слоеного теста

Table 4. Fortified yeast puff pastries vs. control: formulation details

Рецептурные компоненты	Контроль (100 % пшеничной муки)	Опытные образцы (количество цельнозерновой полбяной муки, % к массе пшеничной муки)		
		Образец № 1 (30 %)	Образец № 2 (40 %)	Образец № 1 (30 %)
Приготовление дрожжевого теста				
Мука пшеничная высшего сорта	300	210	180	150
Полбяная мука цельнозерновая	—	90	120	150
Дрожжи прессованные, 5 %	15	15	15	15
Соль, 1,8 %	5,4	5,4	5,4	5,4
Яйца, 15 %	45	45	45	45
Сахар, 10 %	30	30	30	30
Маргарин, 5 %	15	15	15	15
Вода, 45 %	135	135	135	135
Приготовление жиромучной смеси				
Маргарин с массовой долей жира 82 % для слоения, 45 %	135	135	135	135
Мука пшеничная высшего сорта, 7 %	9,45	9,45	9,45	9,45

муки на слоистость, подъемную силу и качество бездрожжевого и дрожжевого слоеного теста, а также готовых изделий из них. В стандартную рецептуру вносили разную дозировку полбяной муки в количестве 30, 40 и 50 % от общей массы муки.

Контрольный образец бездрожжевого слоеного изделия из пшеничной муки высшего сорта и опытные образцы, приготовленные с разным соотношением пшеничной муки высшего сорта и цельнозерновой полбяной муки, представлены на рисунках 1–4.

Образец № 1 с содержанием полбяной муки 30 % имеет более выраженную слоистость, пропеченные слои отделяются друг от друга, имеется хрустящая корка и хруст при разламывании; без постороннего привкуса и запаха; при выпечке тестовая заготовка поднялась в два раза; при раскатывании и формовании слоеного теста, не наблюдались разрывы теста и вытекание маргарина.

Образец № 2 с содержанием полбяной муки 40 % имеет выраженную слоистость, пропеченные слои, отделяющиеся друг от друга, имеется хрустящая корка и хруст при разламывании; без постороннего привкуса и запаха; при выпечке тестовая заготовка поднялась в два раза, что, возможно, из-за более тонкого раскатывания при формовании изделий.

Образец № 3 с содержанием полбяной муки 50 % имеет менее выраженную слоистость, пропеченные слои с трудностью отделяются друг от друга, не имеется хрустящая корка и хруст при разламывании; без постороннего привкуса и запаха; при выпечке тестовая заготовка не поднялась в два раза.

Контрольный образец дрожжевых слоеных изделий из пшеничной муки высшего сорта и опытные образцы,

приготовленные с разным соотношением пшеничной муки высшего сорта и полбяной муки цельнозерновой, представлены на рисунках 5–8.

Образец № 1 с содержанием полбяной муки 30 %, имеет характерную слоистость; слои отделяются друг от друга; имеется хрустящая корка, но не характерный хруст при разламывании, поверхность шероховатая, вкус и запах изделий соответствует наименованию, при выпечке изделие поднялось в два раза. При прокатке теста с маргарином не наблюдались разрывы, что способствовало бы вытеканию масла при раскатывании теста; при выпечке вытекание не наблюдалось. В процессе выпечки, тестовая заготовка поднялась в объеме в 3 раза.

Образец № 2 с содержанием полбяной муки 40 % имеет характерную слоистость; слои не отделяются друг от друга, имеется хрустящая корка, но не характерный хруст при разламывании, поверхность шероховатая, вкус и запах изделий соответствует наименованию, при выпечке изделие поднялось в два раза. При прокатке теста с маргарином не наблюдались разрывы, что способствовало бы вытеканию масла при раскатывании теста, при выпечке вытекание не наблюдалось. В процессе выпечки, тестовая заготовка поднялась в объеме в 2 раза.

Образец № 3 с содержанием полбяной муки 50 % не имеет характерную слоистость, слои не отделяются друг от друга, не имеется хрустящая корка и характерный хруст при разламывании; поверхность шероховатая, вкус и запах изделий соответствует наименованию. При прокатке теста с маргарином наблюдались небольшие разрывы, что способствовало вытеканию масла при раскатывании теста, при выпечке



Рисунок 1. Контрольный образец – бездрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта

Figure 1. Yeast-free puff pastry with premium grade wheat flour: control sample



Рисунок 5. Контрольный образец – дрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта

Figure 5. Yeast puff pastry with premium grade wheat flour: control sample



Рисунок 2. Образец № 1 – бездрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта, с содержанием цельнозерновой полбяной муки 30 %

Figure 2. Yeast-free puff pastry with 30% whole-grain spelt flour: Sample 1



Рисунок 6. Образец № 1 – дрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта, с содержанием цельнозерновой полбяной муки 30 %

Figure 6. Yeast puff pastry with 30% whole-grain spelt flour: Sample 1



Рисунок 3. Образец № 2 – бездрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта, с содержанием цельнозерновой полбяной муки 40 %

Figure 3. Yeast-free puff pastry with 40% whole-grain spelt flour: Sample 2



Рисунок 7. Образец № 2 – дрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта, с содержанием цельнозерновой полбяной муки 40 %

Figure 7. Yeast puff pastry with 40% whole-grain spelt flour: Sample 2



Рисунок 4. Образец № 3 – бездрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта, с содержанием цельнозерновой полбяной муки 50 %

Figure 4. Yeast-free puff pastry with 50% whole-grain spelt flour: Sample 3



Рисунок 8. Образец № 3 – дрожжевое слоеное изделие из пшеничной муки высшего сорта, с содержанием цельнозерновой полбяной муки 50 %

Figure 8. Yeast puff pastry with 50% whole-grain spelt flour: Sample 3

вытекание не наблюдалось. Таким образом, при замесе теста, необходимо использовать ферментные препараты, для улучшения качества клейковины. В процессе выпечки, тестовая заготовка поднялась в 2 раза.

На следующем этапе исследований провели оценку органолептических показателей полученных бездрожжевых и дрожжевых слоеных изделий согласно ГОСТ 9511-80. Результаты представлены в таблицах 5 и 6.

Результаты, приведенные в таблице 5, показывают, что органолептические показатели контрольного образца бездрожжевого слоеного изделия соответствуют действующему ГОСТу. Опытный образец, с добавлением полбяной муки в количестве 30 % имеет показатели, соответствующие ГОСТ: форма не расплывчатая; поверхность отделана яйцом; хорошо пропеченный с легко отделимыми друг от друга слоями; без постороннего вкуса и запаха.

Полученные результаты (таблица 6) свидетельствуют о том, что показатели контрольного образца дрожжевого слоеного изделия соответствуют ГОСТу. Слои

легко отделяются друг от друга. Однако контрольный образец имеет меньший объем. Опытный образец, с добавлением полбяной муки в количестве 30 % имеет следующие показатели, соответствующие ГОСТ: форма не расплывчатая; поверхность отделана яйцом; цвет светло-коричневый; с легко отделимыми друг от друга слоями; без постороннего вкуса и запаха.

Определили физико-химические показатели опытных образцов, установив оптимальную дозировку применения цельнозерновой полбяной муки при производстве слоеных изделий, которая составила 30 %. Исследуемые образцы соответствовали показателям качества ГОСТ 9511-80. Результаты физико-химических показателей качества слоеных изделий из дрожжевого и бездрожжевого теста производились согласно ГОСТ 9511-80, результаты представлены в таблице 7.

В ходе исследования готовых слоеных изделий были проведены расчеты химического состава и энергетической ценности в 100 г готового продукта. Результаты представлены в виде диаграмм (рис. 11–16).

Таблица 5. Органолептическая оценка бездрожжевых слоеных изделий

Table 5. Yeast-free puff pastry samples: sensory assessment

Наименование показателей	Характеристика		
	по ГОСТ 56631-2015	Контроль	Опытный образец
Форма	Не расплывчатая	Не расплывчатая	Не расплывчатая
Поверхность	С отделкой или без отделки	Отделка яйцом	Отделка яйцом
Цвет	От светло-коричневого до коричневого	Светло-коричневая,	Светло-коричневая
Состояние мякиша:			
Пропеченность	Хорошо пропеченный	Хорошо пропеченный	Хорошо пропеченный
Промес	Без непромесов и комочков	Без непромесов и комочков	Без непромесов и комочков
Слоистость	С легко отделимыми слоями	С легко отделимыми слоями	С легко отделимыми слоями
Вкус	Без постороннего привкуса	Без постороннего привкуса	Без постороннего привкуса
Запах	Без постороннего запаха	Без постороннего запаха	Без постороннего запаха

Таблица 6. Органолептическая оценка дрожжевых слоеных изделий

Table 6. Yeast puff pastry samples: sensory assessment

Наименование показателей	Характеристика		
	по ГОСТ 56631-2015	Контроль	Опытный образец
Форма	Не расплывчатая	Не расплывчатая	Расплывчатая
Поверхность	С отделкой или без отделки	Отделка яйцом	Отделка яйцом
Цвет	От светло-коричневого до коричневого	Светло-коричневая	Светло-коричневая
Состояние мякиша:			
Пропеченность	Хорошо пропеченный, без уплотнений	Хорошо пропеченный	Хорошо пропеченный
Промес	Без непромесов и комочков	Без непромесов и комочков	Без непромесов и комочков
Слоистость	С легко отделимыми слоями	С легко отделимыми слоями	С легко отделимыми слоями
Вкус	Без постороннего привкуса	Без постороннего привкуса	Без постороннего привкуса
Запах	Без постороннего запаха	Без постороннего запаха	Без постороннего запаха

Пищевые ценности, представленные на рисунках 11–16, показывают, что содержание макро- и микронутриентов обогащенных слоеных изделий, в сравнении с контрольными образцами, значительно выше по углеводам, пищевым волокнам и минеральным веществам.

На основании проведенных исследований было установлено, что слоеные изделия с цельнозерновой полбяной мукой соответствуют показателям, установленным ГОСТ 9511-80, а также их можно отнести к обогащенным изделиям.

Таблица 7. Результаты физико-химической оценки дрожжевых и бездрожжевых слоеных изделий с содержанием цельнозерновой полбяной муки 30 %

Table 7. Yeast vs. yeast-free puff pastries with 30% whole-grain spelt flour: physicochemical analysis

Наименование показателей	Контрольный образец	Дрожжевые слоеные изделия с содержанием цельнозерновой полбяной муки 30 %	Бездрожжевые слоеные изделия с содержанием цельнозерновой полбяной муки 30 %
Влажность мякиша, %	29,0	31,0	29,0
Кислотность мякиша, град.	1,95	2,02	2,14

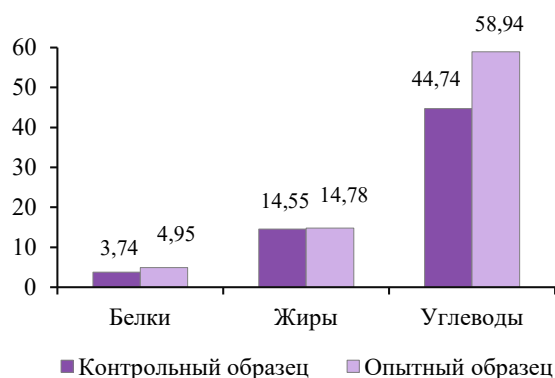


Рисунок 11. Содержание белков, жиров и углеводов в обогащенных (30 % полбяной муки) и контрольного образцов дрожжевых слоеных изделий

Figure 11. Yeast puff pastries with 30% whole-grain spelt flour vs. control: proteins, fats, and carbohydrates



Рисунок 13. Энергетическая ценность обогащенных (30 % полбяной муки) и контрольного образцов дрожжевых слоеных изделий

Figure 13. Yeast puff pastries with 30% whole-grain spelt flour vs. control: energy value

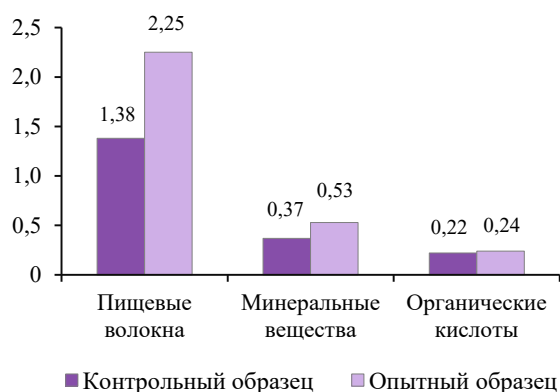


Рисунок 12. Содержание пищевых волокон, минеральных веществ и органических кислот в обогащенных (30 % полбяной муки) и контрольном образцах дрожжевых слоеных изделий

Figure 12. Yeast puff pastries with 30% whole-grain spelt flour vs. control: dietary fiber, minerals, and organic acids

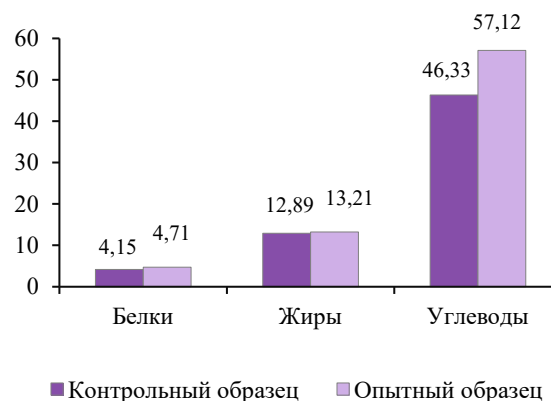


Рисунок 14. Содержание белков, жиров и углеводов в обогащенных (30 % полбяной муки) и контрольном образцах бездрожжевых слоеных изделий

Figure 14. Yeast-free puff pastries with 30% whole-grain spelt flour vs. control: proteins, fats, and carbohydrates

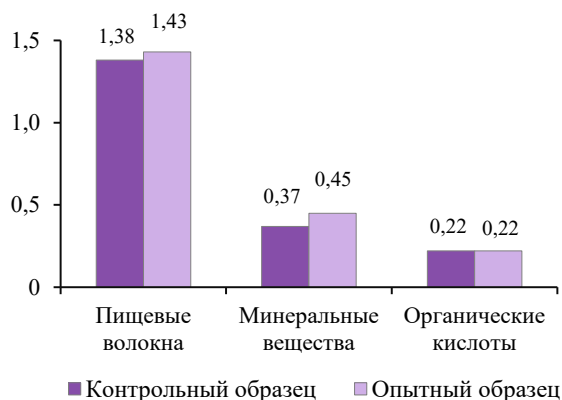


Рисунок 15. Содержание пищевых волокон, минеральных веществ и органических кислот в обогащенных и контрольном образцах (30 % полбяной муки) бездрожжевых слоеных изделий

Figure 15. Yeast-free puff pastries with 30% whole-grain spelt flour vs. control: dietary fiber, minerals, and organic acids

Выводы

На основании проведенных исследований разработали рецептуру производства слоеных мучных изделий повышенной пищевой ценности с использованием цельносомлотой полбяной муки. Установили оптимальную дозировку полбяной муки в тесте из хлебопекарной пшеничной муки высшего сорта для выпечки мучных слоеных изделий, которая составила 30 % от общей массы муки. Выявлено, что замена 30 % пшеничной хлебопекарной муки высшего сорта на цельносомлотую полбяную муку позволяет получать слоеные изделия не только высокого качества, но способствует обогащению изделия необходимыми макро- и микронутриентами, пищевыми волокнами и минеральными веществами для поддержания важных физиологических функций человека. Проведенный расчет химического состава показал, что добавление 30 % полбяной цельносомлотой муки в рецептуру дрожжевых слоеных изделий в замен 30 % пшеничной хлебопекарной муки высшего сорта увеличивает содержание белка на 32,3 %, углеводов – на 31,7 %, пищевых волокон – на 63,0 %, минеральных веществ – на 43,2 %, увеличение жира происходит незначительно – на 1,6 %. При замене 30 % пшеничной хлебопекарной муки высшего сорта полбяной цельносомлотой муки в рецептуре



Рисунок 16. Энергетическая ценность обогащенных (30 % полбяной муки) и контрольного образцов бездрожжевых слоеных изделий

Figure 16. Yeast-free puff pastries with 30% whole-grain spelt flour vs. control: energy value

бездрожжевых слоеных изделий увеличивается содержание белка на 13,5 %, углеводов – на 23,3 %, пищевых волокон – на 3,6 %, минеральных веществ – на 21,6 %, увеличение жира происходит незначительно – на 2,5 %.

Определили, что применение цельносомлотой полбяной муки позволит расширить существующий ассортимент обогащенных слоеных изделий, при этом бездрожжевые слоеные изделия имеют более высокие потребительские характеристики по сравнению с дрожжевыми.

Критерии авторства

Авторы в равной степени принимали участие в проведении исследований и подготовке рукописи статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors were equally involved in the research and preparation of the manuscript.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Khmeleva EV, Kandrov RKh, Korolev DN, Penkova YuV. Baking properties of spelled flour. Bread products. 2018;11:44–47. (In Russ.). <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2018-0-11-44-47>; <https://www.elibrary.ru/YLSILJ>
2. Rumyantseva VV, Yurchenko TI. Study of the influence of spelled flour on changes in the technological properties of wheat flour in the production of waffle dough. Technology and commodity science of innovative food products. 2022;6(77):12–17. (In Russ.). <https://doi.org/10.33979/2219-8466-2022-77-6-12-16>; <https://www.elibrary.ru/NPCJSK>

3. Kandrokov RKh, Balova ER. The influence of hydrothermal treatment on the yield and quality of spelled flour. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2018;(2):11. (In Russ.). [Кандроков Р. Х., Балова Е. Р. Влияние гидротермической обработки на выход и качество полбяной муки // *Аграрный вестник Урала*. 2018. № 2. С. 11.]. <https://www.elibrary.ru/XRRIAИ>
4. Korolev DN, Khmeleva EV, Penkova YuV. Development of technology for wheat bread using spelled flour. *Scientific works of the North Caucasus Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, and Winemaking*. 2019;26:57–64. (In Russ.). [Королев Д. Н., Хмелева Е. В., Пенькова Ю. В. Разработка технологии пшеничного хлеба с использованием полбяной муки // *Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия*. 2019. Т. 26. С. 57–64.]. <https://www.elibrary.ru/TUXVOR>
5. Dolgikh VV. The use of whole grain spelled flour in combination with lupine, flax and Jerusalem artichoke flour for the production of functional protein-spelt breads. *Bread products*. 2020;(8):41–45. (In Russ.). <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-8-41-45>; <https://www.elibrary.ru/SQBPF5>
6. Fazullina OF, Ponomareva SM, Smirnov SO, Semenova LI. Selenium content in spelt, buckwheat, and vegetable pasta. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(2):242–251. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-2-242-251>
7. Kandrokov RKh. Effects of triticale flour on the quality of honey cookies. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(2):215–222. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-568>
8. Kogomedov GO, Lobosova LA, Malyutina TN, Rozhkov SA. Cupcakes with New Functional Ingredients for the Nutrition of Primary School Children. *Storage and Processing of Farm Products*. 2020;(2):112–122. (In Russ.) <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.249>; <https://www.elibrary.ru/GIWRUZ>
9. Belyanskaya IG, Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Shatnyuk LN. Nutritional value of bakery products from spelt flour enriched with vitamins, ferrum and calcium. *Bread products*. 2020;(2):54–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-2-54-57>; <https://www.elibrary.ru/WNPGCM>
10. Khmeleva EV. Spelt Grain Use in the Technology of Grain Bread of Increased Nutritional Value. *Food Industry*. 2023.8(1):64–73. (In Russ.). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2023-8-1-7>; <https://www.elibrary.ru/KCGGFW>
11. Sanzharovskaya NS, Romanenko DV, Rzaeva MMK. The expediency of using spelt flour and beet fibers in the technology of flour confectionery. *Polzunovskiy Vestnik*. 2022;(3):28–36. (In Russ.). <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2022.03.004>; <https://www.elibrary.ru/UHEJXK>
12. Sanzharovskaya NS, Romanova NN, Khrapko OP. Spelt flour in flour confectionery formulations. *Polzunovskiy Vestnik*. 2020;(1):41–45. (In Russ.). <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2020.01.008>; <https://www.elibrary.ru/BAUMGI>
13. Osipova GA, Khmeleva EV, Malchenko TV. Innovative technology for the production of pasta from spelt flour. *Technology and the study of merchandise of innovative foodstuffs*. 2021;(6):51–56. (In Russ.). <https://doi.org/10.33979/2219-8466-2021-71-6-51-56>; <https://www.elibrary.ru/WKNNLV>
14. Astakhov IYu, Kurochkin PP, Ignatov DD. Chemical composition and technological properties of flour spelled // *Innovative Machinery and Technology*. 2015;1(2):59–62. (In Russ.). [Астахов И. Ю., Курочкин П. П., Игнатов Д. Д. Химический состав и технологические свойства полбяной муки // *Инновационная техника и технология*]. <https://www.elibrary.ru/UAWVLF>
15. von Buren M, Stadler M, Luthy Ju. Detection of wheat adulteration of spelt flour and products by PCR. *European Food Research and Technology*. 2001;212(2):234–239. <http://doi.org/10.1007/s002170000230>
16. Müller T, Schierscher-Viret B, Fossati D, Brabant C, A Schori, Keller B, *et al*. Unlocking the diversity of genebanks: whole-genome marker analysis of swiss bread wheat and spelt. *Theoretical and Applied Genetics TAG*. 2018;131:407–416. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-3010-5>
17. Schober TJ, Kuhn M. Capillary zone electrophoresis for gliadin separation: applications in a spelt breeding program. *European Food Research and Technology*. 2003.217:350–359. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0740-1>
18. Sun Q, Wei Y, Ni Z, Xie C, Yang T. Microsatellite marker for yellow rust resistance gene *Yr5* in wheat introgressed from spelt wheat. *Plant Breeding*. 2002;121(6):539–541. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2002.00754.x>
19. Afzal M, Pfannstiel J, Zimmermann J, Bischoff SC, Würschum T, Friedrich C, *et al*. High-resolution proteomics reveals differences in the proteome of spelt and bread wheat flour representing targets for research on wheat sensitivities. *Scientific Reports*. 2020;10:14677. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71712-5>
20. Weckx S, Allemeersch J, Van der Meulen R, Vrancken G, Huys G, Vandamme P. Metatranscriptome analysis for insight into whole-ecosystem gene expression during spontaneous wheat and spelt sourdough fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011;77(2):618–626. <http://doi.org/10.1128/AEM.02028-10>
21. Mankevičiene A, Jablonskyte-Rašče D, Maikšteniene S. Occurrence of mycotoxins in spelt and common wheat grain and their products. *Food Additives and Contaminants: Part A*. 2014;31(1):132–138. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.861614>
22. Desheva G, Kyosev B, Sabeva M, Deshev M. Genetic variation of gliadins and some quality characteristics in spelt wheat. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2021;27(3):541–554.

23. Afzal M, Pfannstiel J, Zimmermann J, Bischoff SC, Würschum T, Longin CFH. High-resolution proteomics reveals differences in the proteome of spelt and bread wheat flour representing targets for research on wheat sensitivities. *Scientific Reports*. 2020;10:14677. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71712-5>
24. Kosakivska IV, Vasyuk VA, Babenko LM, Voytenko LV. Drought stress effects on *Triticum spelta* L. structural and functional characteristics. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. 2018;14(1):12–18.
25. Cole EW, Fullington JG, Kasarda DD. Grain protein variability among species of *Triticum* and *Aegilops*: quantitative SDS-PAGE studies. *Theoretical and Applied Genetics*. 1981;60:17–30. <http://doi.org/10.1007/BF00275173>
26. Onishi I, Hongo A, Sasakuma T, Kawahara T, Kato K, Miura H. Variation and segregation for rachis fragility in spelt wheat, *Triticum spelta* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2006;53:985–992. <http://doi.org/10.1007/s10722-004-7068-y>
27. Blatter RHE, Jacomet S, Schlumbaum A. Spelt-specific alleles in hmw glutenin genes from modern and historical european spelt (*Triticum spelta* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;104:329–337. <https://doi.org/10.1007/s001220100680>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2531>
<https://elibrary.ru/NHCXGL>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Комплексный подход к развитию инфраструктуры сбыта продукции аграрного малого и микро-бизнеса



Г. М. Гриценко

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук , Красноярск, Россия
Алтайский филиал Финансового университета при Правительстве Российской Федерации , Барнаул, Россия

Поступила в редакцию: 09.02.2024
Принята после рецензирования: 03.07.2024
Принята к публикации: 06.08.2024

Г. М. Гриценко: gritcenko_galina_milenium@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3034-9169>

© Г. М. Гриценко, 2024



Аннотация.

Малый сектор (фермерские и личные подсобные хозяйства) играет значительную роль в производстве продукции сельского хозяйства, однако инфраструктуры сбыта их продукции до сих пор не создано, так как заинтересованность и поддержка со стороны государства в данном вопросе отсутствует. В формируемой инфраструктуре фермеры не получили доступа ни к софинансированию её объектов, ни к перечню необходимых им услуг.

Объекты и методы исследования основаны на анализе программных документов Правительства РФ, определяющих развитие оптово-продовольственных рынков и агрегаторов фермерской продукции, обобщении опыта торговых сетей, сельскохозяйственных потребительских сбытовых кооперативов, изучении возможностей малого сельского бизнеса аграрных регионов по формированию сбытовых кооперативов. Проведено библиографическое исследование опыта зарубежных стран по подготовке инфраструктуры фермерской продукции и сравнение подходов к её разработке с российской практикой, предложен авторский подход к формированию условий взаимодействия поставщиков и агрегаторов фермерской продукции с применением абстрактно-логического метода.

Результаты свидетельствуют о том, что наиболее остро проблемы сбыта продукции малого аграрного бизнеса стоят в регионах аграрной специализации. Наличие такой инфраструктуры способно поддержать производство во всех секторах малого бизнеса, а потенциал роста есть везде. Сегодня малый бизнес организует сбыт своей продукции самостоятельно и локально. Опыт работы оптово-распределительных центров страны показал, что для малого бизнеса их услуги недоступны. Работать с малыми поставщиками эти центры могут только через посредников – агрегаторов фермерской продукции. Обобщение первого опыта создания таких агрегаторов между торговой сетью «Магнит» на корпоративных принципах и сельскохозяйственным потребительским сбытовым кооперативом «Калина-Малина» Кемеровской области показало, что у каждого из них есть свои преимущества и недостатки.

В результате предложены условия финансовых отношений участников цепочек товародвижения в разных системах сбыта, включающих производителей и агрегаторов продукции малых форм сельскохозяйственного производства и оптово-распределительные центры. Реализация данного подхода позволит, с одной стороны, снизить цены на потребительских рынках, с другой – повысить эффективность сельскохозяйственного производства в малом секторе.

Ключевые слова. Продукция, сбыт, инфраструктура, агрегаторы, кооперативы, торговые сети, прибыль, распределение

Для цитирования: Гриценко Г. М. Комплексный подход к развитию инфраструктуры сбыта продукции аграрного малого и микро-бизнеса // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 610–620. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2531>

Agricultural Marketing in Small and Micro Businesses: An Integrated Approach to Infrastructural Development



Galina M. Gritsenko 

Siberian Federal Research Center for Agro-BioTechnologies, Russian Academy of Sciences ,
Krasnoobsk, Russia

Altai Branch of the Financial University under the Government of the Russian Federation , Barnaul, Russia

Received: 09.02.2024

Revised: 03.07.2024

Accepted: 06.08.2024

G. M. Gritsenko: gritsenko_galina_milenium@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3034-9169>

© G.M. Gritsenko, 2024



Abstract.

Small and private subsidiary farms are important members of agricultural community. However, they still lack good infrastructure to market their products because they remain beyond the scope of state interest. The agricultural infrastructure in its present condition neither gives farmers access to co-financing nor allows them to shape the list of services they need.

The research featured program documents issued by the Government of the Russian Federation that determine the development of wholesale food markets and aggregators of farm produce. The author generalized the experience of retail chains and agricultural consumer marketing cooperatives, as well as studied the cases of small rural businesses merging into marketing cooperatives in agricultural regions. The bibliographic study covered best foreign practices in shaping infrastructure for small farm produce, which were compared with Russian experience. The author also developed an abstract-logical method of establishing the interaction between stakeholders in a new system of farm produce aggregators.

In this research, agricultural regions demonstrated the most acute problems in small business marketing. A good system of agricultural infrastructure supports production in all sectors of small business with growth potential. Today, small businesses are alone in organizing their own sales as wholesale distribution centers are not available to them. These centers work with small suppliers through intermediaries, i.e., aggregators. In the Kemerovo Region, an example of such aggregators is the one created on corporate principles between the Magnit retail chain and the Kalina-Malina agricultural consumer marketing cooperative. The experience demonstrated some advantages and disadvantages.

The article introduces conditions for successful financial relations in commodity circulation chains in different distribution systems, including farmers, aggregators, and wholesale distribution centers. This approach reduces prices on consumer markets while increasing the efficiency of small farms.

Keywords. Products, sales, infrastructure, aggregators, cooperatives, retail chains, profit, distribution

For citation: Gritsenko GM. Agricultural Marketing in Small and Micro Businesses: An Integrated Approach to Infrastructural Development. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):610–620. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2531>

Введение

Для решения задач импортозамещения и перевода части экспортной выручки с углеводов на сельскохозяйственное сырье и продовольствие, акцент государственной поддержки АПК делается на крупный бизнес, и прежде всего – агрохолдинги, что вытесняет с рынка продукцию малого и микро-бизнеса (и, как следствие, разрушает сельский образ жизни). Формирование инфраструктуры сбыта продукции аграрного малого и микро-бизнеса не является для государства приоритетом. Перед самым малым сектором экономики ставится задача наращивания объемов

производства, а, значит, востребованность в этом виде услуг для него возрастает.

Фермеры и домашние хозяйства реализуют свою продукцию по личным каналам, либо создавая сельскохозяйственные потребительские кооперативы. Но это не является системным подходом, и сдерживает развитие данного сектора экономики. В середине 2000-х годов государство поддержало создание в регионах оптово-распределительных центров аграрной продукции, но они оказались востребованными у крупных поставщиков. Малому бизнесу их услуги оказались недоступны.

В исследовании использовали труды российских ученых в области аграрной специализации регионов, экономики сельскохозяйственного производства, в том числе его малого сектора, сбытовой деятельности малого аграрного бизнеса, инфраструктуры продаж фермерской продукции, в том числе сельскохозяйственной потребительской кооперации, организации оптово-распределительных центров.

Обзор зарубежной и отечественной литературы, освещающей вопросы организации сбыта фермерской продукции в европейских и азиатских странах, показал, что государственная поддержка инфраструктуры сбыта оказывается малому сектору. Крупный бизнес формирует свою систему сбыта самостоятельно, помощь ему оказывается, прежде всего в вопросах продвижения экспортируемой продукции.

Цель исследования – обосновать условия, обеспечивающие комплексный подход к формированию инфраструктуры сбыта сельскохозяйственной продукции, доступной для малого и микро-бизнеса.

Задачи исследования включали в себя анализ сложившейся системы сбыта аграрной продукции, созданной с участием средств государственного бюджета и возможностей аграрного малого и микро-бизнеса по её использованию; обоснование элементов комплексного подхода к развитию инфраструктуры сбыта продукции малого и микро-бизнеса.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись условия развития инфраструктуры сбыта продукции аграрного малого и микро-бизнеса. Для достижения цели применялись сравнения, сопоставления, библиографические, аналитические и абстрактно-логические методы.

Основываясь на методических аспектах типизации регионов России, предложенных С. П. Воробьевым и В. И. Нечаевым о факторах, определяющих рентабельность сельскохозяйственной продукции, и результатах собственных исследований, автором, применительно к регионам аграрной специализации, сформулированы особенности инфраструктуры сбыта продукции малых аграрных предприятий, фермерских и домашних хозяйств [1, 2].

В качестве примера взяли ведущий в Сибири регион аграрной специализации – Алтайский край, роль которого в обеспечении продовольственной безопасности страны, показана в работе М. В. Петровой [4].

Учитывая опыт ведения сельского хозяйства в данном регионе, выявлены наиболее значимые для организации сбыта продукции малых поставщиков макроэкономические факторы. Проанализировали вклад различных секторов сельского хозяйства Алтайского края в общий объем производства продукции (табл. 1). В данной статистике не выделены индивидуальные предприниматели, доля которых составляет около 7 % от общего объема производства.

По результатам проведенного анализа сформулировали перспективные направления формирования инфраструктуры сбыта продукции малого сектора сельского хозяйства, учитывающие подходы к данному вопросу таких ученых, как З. Ч. Пак, Д. П. Кравченко и Л. А. Молчанова [5].

Основываясь на исследованиях А. А. Подрезова, посвященных результативности хозяйственной деятельности агрохолдингов, и учете перспектив развития экспорта аграрной продукции, определенных правительственными документами, сделан вывод о закономерности формирования инфраструктуры сбыта именно крупных партий аграрной продукции в форме оптово-распределительных центров [6].

Соотнесение правоустанавливающих документов и опыта создания оптово-распределительных центров, изложенного в трудах Н. С. Луковниковой, Ш. Момынкуловой, И. Рыковой, С. В. Ламанова, М. Р. Ли, Р. А. Ромашкина и Т. В. Сургановой, позволило автору обобщить выполняемые ими функции и технологические возможности, показать достоинства и недостатки сложившейся системы, в том числе для малого и микро-бизнеса, учитывая мнение таких авторов, как Р. И. Акьюлов, Р. Р. Галиев, В. А. Ковшов и Р. У. Гусманов, А. Р. Халиуллин, И. Г. Гайнутдинов [7–14].

Опыт сбытовой деятельности малых аграрных производителей зарубежных стран изучили в статьях российских и зарубежных авторов: В. П. Чеглова, и S. Rutroy, A. Behera, Европейского Союза – Ю. А. Акимовой и С. А. Кочетковой, А. Осиной, Китая – В. Li, J. Y. Liu, Н. Н. Chang, Индии – К. Chand, A. Suresh, М. В. Dastagiri, S. Kumari, S. Mandal и А. Kumar, М. К. Sumit Yadav, А. К. Rohila, Вьетнама – Т. Т. Pham, L. Theeuwssen, W. Otter, Эфиопии – А. Tafesse, G. R. Megerssa и В. Gebeuehu, Перу – К. Fan и V. B. S. Garcia [15–24].

При обобщении опыта сбытовой кооперации советского периода учли позиции Ф. Н. Мухаметгалиева, Д. Ф. Хафизова, М. М. Хисматуллина, И. Г. Гайнутдинова, Л. Ф. Ситдиковой и В. П. Леошко, О. И. Жуковой, А. С. Жукова, А. С. Нечитайлова, и роли кооперации на современном этапе – мнение К. В. Колончина [25–27].

Изучили проект законодательного акта, определяющего перспективы развития агрегаторов фермерской продукции и сложившийся опыт агрегации продукции малых форм агробизнеса, изложенный в работах Е. И. Артемовой, Е. В. Плотноковой, А. Г. Галкиной и Ж. В. Доможилкиной, Д. Ю. Мишариной [28, 29].

Обобщение опыта торговой сети «Магнит» и сельскохозяйственного потребительского сбытового кооператива «Калина-Малина» Кемеровской области, позволил рассматривать кооперацию, как наиболее перспективную форму развития агрегаторов. В качестве обоснования данного подхода для регионов аграрной специализации использовали:

– анализ институциональной структуры экономических субъектов Алтайского края, который дан в таблице 2.

Таблица 1. Доля секторов экономики сельского хозяйства Алтайского края в производстве основных видов продукции в 2018–2022 гг. (в фактических ценах, млн рублей; %)

Table 1. Share of agricultural economic sectors in basic products in the Altai Region in 2018–2022, mRUB, %

	2019	2020	2021	2022	2023	2023 г. к 2019 г., %
Продукция сельского хозяйства, всего						
Хозяйства всех категорий	144540,3	163229,6	241624,9	249362,4	232156,4	160,6
Сельскохозяйственные организации	81740	94773,3	143974,5	147611,1	137436,6	168,1
Доля сельскохозяйственных организаций в общем объеме производства	56,6	58,1	59,6	59,2	59,2	2,6
Хозяйства населения	36765,5	35769,2	40226,9	47206,5	41556	113,0
Доля хозяйского населения в общем объеме производства	25,4	21,9	16,6	18,9	17,9	-7,5
Крестьянские (фермерские) хозяйства	26034,8	32687,1	57423,5	54544,8	53163,82	204,2
Доля крестьянских (фермерских) хозяйств в общем объеме производства	18,0	20,0	23,8	21,9	22,9	4,9
Продукция растениеводства						
Хозяйства всех категорий	80531,8	101977,6	177105,9	173095	143495,8	178,2
Сельскохозяйственные организации	48406,2	63476,3	111107,7	108672,7	87245,45	180,2
Доля сельскохозяйственных организаций в общем объеме производства	60,1	62,2	62,7	62,8	60,8	0,7
Хозяйства населения	9461,1	9191,6	12208,4	13971,8	13058,12	138,0
Доля хозяйского населения в общем объеме производства	11,7	9,0	6,9	8,1	9,1	-2,6
Крестьянские (фермерские) хозяйства	22664,5	29309,7	53789,8	50450,5	43192,24	190,6
Доля крестьянских (фермерских) хозяйств в общем объеме производства	28,1	28,7	30,4	29,1	30,1	2,0
Продукция животноводства						
Хозяйства всех категорий	64008,5	61252	64519	76267,4	78784,22	123,1
Сельскохозяйственные организации	33333,8	31297	32866,8	38938,4	40258,74	120,8
Доля сельскохозяйственных организаций в общем объеме производства	52,1	51,1	50,9	51,1	51,1	-1,0
Хозяйства населения	27304,4	26577,6	28018,5	33234,7	33562,08	122,9
Доля хозяйского населения в общем объеме производства	42,7	43,4	43,4	43,6	42,6	-0,1
Крестьянские (фермерские) хозяйства	3370,3	3377,4	3633,7	4094,3	4963,406	147,3
Доля крестьянских (фермерских) хозяйств в общем объеме производства	5,3	5,5	5,6	5,4	6,3	1,0

Таблица 2. Распределение экономических субъектов Алтайского края по формам собственности на 01.01.2023 года

Table 2. Economic entities of the Altai Region by types of ownership, January 01, 2023

	Всего по видам экономической деятельности, ед.	из них сельское, лесное хозяйство, охота, рыболовство и рыбоводство	Доля сельского, лесного хозяйства, охоты, рыболовства и рыбоводства в общих показателях по экономике региона, %
Количество экономических субъектов на 1.01.2023 г.	40616	1664	4,1
в том числе по формам собственности:			
Государственная и муниципальная	4205	71	1,7
в % к общему количеству	10,4	4,3	-6,1
Частная	34147	1556	
в % к общему количеству	84,1	93,5	9,4
Смешенная российская	195	7	3,6
в % к общему количеству	0,5	0,4	-0,1

– сравнительный анализ прибыльности экономических субъектов сельского хозяйства и экономических субъектов прочих отраслей экономики Алтайского края представлен в таблице 3.

Выявили факторы, сдерживающие развитие сельскохозяйственной потребительской сбытовой кооперации.

Основываясь на абстрактно-логическом методе, сформулировали требующие решения задачи формирования агрегаторов фермерской продукции, условия распределительных отношений участников цепочек товародвижения в разных системах сбыта, включающих производителей и агрегаторов продукции малых форм сельскохозяйственного производства и оптово-распределительные центры, и основные элементы комплексного подхода к развитию системы сбыта продукции малого аграрного бизнеса.

Результаты и их обсуждение

Проведенный анализ показал, что в регионах аграрной специализации:

- востребованность малого и микро-бизнеса в объектах и субъектах инфраструктуры сбыта сельскохозяйственного сырья и продовольствия гораздо выше, чем в индустриально развитых регионах, так как выше доля данного сектора в общих объемах производства;
- площадь сельских территорий больше, значит, значительнее удаленность поставщиков сырья от центров переработки и сбыта произведенной ими продукции;
- протяженность дорог муниципального и межпоселкового значения больше, значит, выше затраты на транспортировку;
- низкое качество этих дорог, отсутствие подъездных путей к местам погрузки, произведенной малым и микро-бизнесом продукции;
- зависимость поставщиков сырья от конъюнктуры агропродовольственного рынка выше.

Одним из таких регионов на территории Сибирского федерального округа является Алтайский край, где доля АПК в валовом региональном продукте в 2023 году составила 17,7 %. Доля хозяйств населения здесь особенно высока в животноводстве.

Семейные фермерские и домашние (личные подсобные) хозяйства работают в сложных условиях:

- ценовая конъюнктура рынка нестабильна – третий год подряд наблюдается рост стоимости всех ресурсов при неизменной закупочной цене на производимую ими продукцию;
- почти полное отсутствие поддержки их со стороны государства.

В результате их доля в общем объеме производства сократилась на 2,5 %, в том числе в производстве продукции растениеводства – на 2,6 %, животноводства – на 0,1 %, так как производители молока получают государственную поддержку. В производстве продукции растениеводства хозяйства населения почти в два раза уступают фермерскому сектору.

Фермерский сектор имеет возможность участвовать в государственных программах поддержки АПК, так как предоставляет данные о своей деятельности в государственные органы статистики и региональные министерства сельского хозяйства. На его поддержку государство выделяет около 30 % от общего объема бюджетных средств. Поэтому динамика прироста объемов производства в данном секторе положительна, но гораздо скромнее, чем у сельскохозяйственных организаций, получающих наибольшую долю поддержки: за пять анализируемых лет, объемы производства в сельскохозяйственных организациях увеличились на 3,5 %, в фермерских хозяйствах – на 0,7 %, в домашних (личных подсобных) хозяйствах – на 0,2 %.

Объемы производства видов продукции по секторам тоже различаются. Следует учитывать, что каждый вид продукции имеет свою специфику по условиям транспортировки, хранения и предпродажной подготовки. Поэтому развитие инфраструктуры сбыта продукции малого сектора, как в Алтайском крае, так и в иных регионах аграрной специализации, следует начинать, во-первых, с товарной дифференциации, то есть определения видов продукции, требующей транспортировки; во-вторых, с секторальной дифференциации: внутри малого и микро-бизнеса есть различия: семейные фермерские хозяйства и инди-

Таблица 3. Отдельные показатели деятельности организаций сельского хозяйства в сравнении с показателями по экономике Алтайского края в целом в 2022 году – 1 квартале 2023 года

Table 3. Performance indicators in agricultural business against other economic indicators in the Altai Region, 2022 -Q1 2023

	Всего по видам экономической деятельности, ед.	из них сельское хозяйство	Доля сельского хозяйства в общих показателях по экономике региона, %
Численность организаций на 1 января 2023 года	42089	1679	4,0
Сумма прибыли, тыс. руб.	83178550	18861799	22,7
Доля прибыльных организаций в общем числе организаций, %	71,4	92,8	21,4
Сумма убытка, тыс. руб.	3576964	168040	4,7
Доля убыточных организаций в общем числе организаций, %	28,6	7,2	-21,4

видуальные предприниматели, которые используют официальные системы расчета, а домашние (личные подсобные) хозяйства, если не входят в состав сбытовых кооперативов, не ведут официального учета; в-третьих, с территориальной дифференциации: семейные фермерские хозяйства, индивидуальные предприниматели и домашние (личные подсобные) хозяйства территориально рассредоточены, качество подъездных путей к их производственным объектам низкое, поэтому сбор и доставка их продукции высоки по себестоимости, так как требуют концентрации мелких партий однородной продукции.

Именно малый сектор остро нуждается в услугах по сбыту продукции, его субъекты не располагают для этого ни трудовыми ресурсами, позволяющими диверсифицировать производственную деятельность, ни знаниями и навыками для организации сбыта, даже ведения переговоров и транспортировки, тем более предпродажной подготовки.

Государство, заинтересованное в развитии крупного бизнеса, инициировало создание сети оптово-распределительных центров, которая по замыслу её разработчиков, должна была стать частью транспортно-логистической системы экспорта и импорта сельскохозяйственной и продовольственной продукции наряду с транспортной инфраструктурой (рефрижераторными, контейнерными и прочими перевозками) и дополнительными объектами (электронными торговыми площадками, овоще-, фрукто-, зернохранилищами, сельскохозяйственными и продовольственными биржами, транспортно-логистическими терминалами, агро-индустриальными парками и продовольственными рынками).

Судя по правоустанавливающим документам, главной целью оптово-распределительного центра является координация товарных потоков продовольствия, как в стране, так и при экспортно-импортных операциях. К их функциям отнесена организация:

- закупки сельскохозяйственного сырья для предпродажной подготовки и продовольствия по ценам, учитывающим нормы рентабельности региона;
- хранения, подработки, формирования партий товарной продукции;
- контрактной работы с торговыми сетями и прочими покупателями;
- собственной мелкооптовой и розничной торговли;
- фитосанитарного контроля поставляемой продукции;
- таможенного оформления экспортируемых партий продукции;
- условий для инвестирования в логистическую инфраструктуру.

Современные высокотехнологичные оптово-распределительные центры включают мультитемпературные площади (под хранение и оптовую торговлю), полноценную 3PL-логистику (от ответственного хранения, подбора заказов и стикерования до калибровки, упаковки и вакуумизации), единую IT-среду (личный

кабинет поставщика, маркетплейс, мобильные приложения отдельно для поставщиков и покупателей), информационные каналы обмена информацией о наличии продовольственных товаров по объемам, срокам годности, ценам, условиям поставок всей имеющейся в том или ином регионе номенклатуры.

Крупные оптово-распределительные центры вмещают до 200 поставщиков сельскохозяйственного сырья и продовольствия. Наличие этих центров призвано обеспечить экономику регионов мощностями, позволяющими рационально организовать транспортные маршруты, сформировать сборные грузы от нескольких поставщиков для нескольких покупателей, продвигать готовую к реализации продукцию.

Разработчики программы создания оптово-распределительных центров в 2015 году предполагали, что её реализация позволит примерно на 20 % снизить розничные цены и не менее, чем на 10 % увеличить совокупный объем потребления продовольствия, расширить для малых и средних производителей рынки сбыта за счет удобной транспортировки, увеличить сроки хранения их продукции, а розничным торговым организациям и организациям общественного питания облегчить выбор поставщиков через электронную систему маркетплейс, где все зарегистрированные участники получают возможность отслеживать актуальные предложения онлайн и дистанционно оформлять доставку заказов. Однако до сих пор большинство поставленных задач так и не решены по ряду причин.

Во-первых, строительство или приобретение подобных объектов предполагает долгосрочное вложение капитала, часто с привлечением кредитных средств. Располагают таким капиталом либо владельцы высокомаржинального бизнеса, либо лица, накопившие достаточный для этого капитал. Поэтому 90 % из имеющихся на сегодняшний день оптово-распределительных центров – это частный бизнес (в форме общества с ограниченной ответственностью). Они принадлежат крупным рыночным игрокам: федеральным сетям, агрохолдингам, переработчикам, дистрибьюторам; 5 из 60 – находятся в федеральной собственности (в форме федерального государственного казенного учреждения), 1 – в региональной, 1 – в совместной (в форме акционерного общества). В силу высоких затрат на организацию таких площадей, малые и средние производители, зачастую не могли стать их соучредителями и не получили выхода на рынок со своей продукцией.

Во-вторых, многие оптово-распределительные центры создавались на основе существовавших ранее складских помещений и овощехранилищ или строились с использованием не самого современного оборудования, поэтому имеют категорию «Фермерский рынок». В частности, такого типа оптово-распределительные центры в Сибири построены в городах Омск, Красноярск, Барнаул. Более современный, категории А+, построен в Новосибирске и строится в Хакасии. Основная их доля оказывает услуги только хранения,

11 из 60 – хранения и транспортировки, 5 – хранения, транспортировки и предпродажной подготовки.

В частности, оптово-распределительный центр Агропарк «Барнаул» в Алтайском крае общей площадью – 26753 м², оказывает услуги по хранению, переработке и реализации оптом и в розницу сельскохозяйственной продукции в формате «Фермерский рынок». В центре Алтайского края действует 129 самостоятельных организаций, занимающихся хранением продукции АПК.

В-третьих, при существующих оптово-распределительных центрах не было создано агрегаторов продукции – организаций, которые занимались бы сбором мелких партий однородной продукции, у малого аграрного бизнеса – семейных фермерских и домашних (личных подсобных) хозяйств. Это не позволило центрам стать местом концентрации всей производимой на территории региона продукции и решить для малого бизнеса главную проблему, сдерживающую его развитие, – проблему сбыта.

В четвертых, условия «входа» в оптово-распределительные центры, то есть приобретение места хранения продукции и прочих услуг (аренда торгового места, хранение, которое тарифицируется за каждую палету и каждую операцию, услуги кассира, место в торговом зале, мойку, фасовку, нарезку, упаковку, место хозяйства в электронном каталоге, полку в «интернет-магазине», рекламное продвижение продукции арендатора, межрегиональную доставку автотранспортом и другое) одинаковы для всех, а, значит, в большинстве случаев непосильны для малого и микро-бизнеса.

Наличие законодательной базы и строительство самих центров за годы их функционирования не имело положительных для малого бизнеса последствий, что послужило стимулом для развития маркетплейсов, торгующих фермерской продукцией.

У всех оптово-распределительных центров разная политика по отношению к поставщикам: согласно уставным документам, они ведут «закупочную» деятельность сельскохозяйственного сырья и продовольствия, но отдельные субъекты «сами ничего не покупают и не продают». Эта разница в функциях, во-первых, поставила в неравные условия поставщиков разных регионов; во-вторых, сделала невыгодным механизм распределения прибыли от конечной стадии реализации продукции, в-третьих, менеджмент многих созданных центров с большим трудом обеспечивал заполняемость мощностей по хранению даже при их удобной локализации, что привело к остановке строительства многих центров на стадии предпроектных проработок.

По мнению экспертов, опыт создания оптово-распределительных центров был позаимствован на западе, где аналогичные структуры формировались, во-первых, начиная с создания сети заготовительных пунктов, во-вторых, на кооперативной основе. В России их создание было инициировано распоряжением сверху. При этом не были учтены опыт ни советской кооперации,

ни организации современной сельскохозяйственной сбытовой кооперации. В частности, в советский период уже существовал уникальный опыт работы потребительской кооперации системы Центросоюза, которая сегодня превратилась в обычного посредника между поставщиком и потребителем. Обобщение и трансформация данного опыта могли бы стать хорошей основой для создания механизма передачи продукции мелких товаропроизводителей в оптово-распределительных центрах и распределения прибыли от реализации конечной продукции между всеми участниками цепочки товародвижения.

Осознание значимости малого аграрного бизнеса для реализации задач не только импортозамещения, но и развития экспорта продовольствия, пришло только после пандемии, особенно с началом специальной военной операции. Вместе с этим вновь было обращено внимание на проблемы централизации функций сбыта продукции малого аграрного бизнеса. Результатом этого стало принятие в 2023 году программы развития агрегаторов фермерской продукции, которые согласно проекту соответствующего закона, будут заниматься закупкой, первичной и последующей переработкой, хранением и сбытом этой продукции и сбором документации для реализации товаров. Речь идет о продукции, получившей статус фермерской, то есть произведенной малым бизнесом (продовольственная продукция, произведенная из дикорастущих плодов – ягод, орехов, грибов, семян и иных лесных ресурсов, не включена в состав фермерской продукции).

Согласно указанному законопроекту, в качестве агрегаторов могут выступать торговые сети и сельскохозяйственные потребительские кооперативы. При этом разработчиками данного документа обобщен опыт торговой сети «Магнит», создавшей собственного агрегатора для оказания фермерам поддержки. В данную поддержку, как свидетельствуют источники, входят:

- консультирование по вопросам производства и сбыта продукции, внедрения маркировки продукции, их участия в государственных программах поддержки;
- помощь во внедрении в хозяйствах передовых практик управления и новых технологий;
- предоставление аналитических данных;
- софинансирование закупок сырья (семян, удобрений, кормов) и оборудования;
- обучение сотрудников фермерских хозяйств, отработка с ними бизнес-процессов на этапах перевозки, обработки, хранения и сбыта товаров;
- разработка стандартов фермерской продукции;
- тестирование IT-решений для планирования заказов, управления транспортом и др.;
- планирование централизованных закупок сырья и оборудования для участников агрегатора;
- организация продаж продукции в своих торговых точках;
- создание мощностей для переработки продукции.

Продовольствие у местных товаропроизводителей закупает также и торговая сеть «Мария Ра», созданная в Алтайском крае.

Опыта создания агрегаторов фермерской продукции на кооперативной основе в стране пока нет, так как сельскохозяйственная потребительская кооперация развита слабо. Сельскохозяйственные потребительские сбытовые кооперативы, создающие иерархию второго уровня, стремятся формировать собственную переработку, сотрудничая с торговыми сетями, но чаще пытаются формировать собственные, хотя опыт по регионам разный. Например, кооператив «Калина-малина» Кемеровской области, создал торговую сеть, вышедшую за пределы региона, а в Алтайском крае, кооперативы создаются преимущественно по инициативе предприятий по переработке молока и это направление активно поддерживается администрацией региона.

Объективной предпосылкой для развития кооперативных отношений в АПК является институциональная структура сельского хозяйства, где преобладает, по сравнению с экономикой региона в целом, частный сектор.

Сельское хозяйство, имея 4,0 % от общей численности экономических субъектов региона, является одной из наиболее прибыльных отраслей. А значит, потенциала для активизации частной инициативы здесь больше. Хотя активности в вопросах кооперирования крестьяне не проявляют: по данным Росстата по Алтайскому краю, на конец 2022 года в сельскохозяйственные потребительские сбытовые кооперативы региона входило 1324 хозяйства, в том числе в 1320 фермерских хозяйствах и индивидуальных предпринимателях (4,04 % от их общего числа) и 1128 личных подсобных хозяйства, занимающихся производством сельскохозяйственной продукции на реализацию (0,25 % от их общего количества).

Причин таких низких показателей много, это и организация учета, отчетности и налогообложения, и дефицит кадров, способных организовать разностороннюю деятельность кооператива, и продолжительность организационного периода, когда регистрация кооператива, как юридического лица уже произошла, а результатов деятельности нет, труд председателя еще не оплачивается, и многие другие нерешенные вопросы, которые в том числе и автор данного исследования поднимал не раз. Если не изменить политику по отношению к этим кооперативам со стороны государства, они не смогут стать агрегаторами производимой малым аграрным бизнесом продукции даже при увеличении размера господдержки их, как агрегаторов.

Пока по подготовительным документам к законопроекту не понятно, не превратятся ли агрегаторы фермерской продукции в обычное посредническое звено между торговлей, теми же оптово-распределительными центрами, и производителями сельскохозяйственного сырья и продовольствия, защитят ли фермеров от низких цен на их продукцию.

Для формирования эффективной инфраструктуры сбыта продукции малого аграрного бизнеса страны необходимо решить целый ряд задач:

- разработать и закрепить законодательно условия распределения прибыли между участниками цепочки товародвижения (от производителя продукции, получившей статус фермерской, до конечного потребителя) пропорционально затратам, понесенным каждым из них;
- разработать и законодательно утвердить правила ведения экономической деятельности сельскохозяйственных потребительских кооперативов, в соответствии с которыми они перестанут быть фактором, сдерживающим торговлю сельскохозяйственной продукцией;
- создать условия, стимулирующие взаимодействие сельскохозяйственных потребительских сбытовых кооперативов с профильными некоммерческими организациями;
- создать условия для привлечения на договорной основе в фермерские хозяйства профессиональные кадры, способные организовать сбыт произведенной фермерами продукции;
- организовать качественную подготовку руководителей сельскохозяйственных потребительских сбытовых кооперативов на базе образовательных учреждений, не просто выигрывающих конкурсы, а имеющих отношение к аграрному сектору и системе организации сбыта продовольствия.

Необходимо законодательно урегулировать отношения купли-продажи, основанные на распределении прибыли от реализации продукции конечному потребителю по всей цепочке товародвижения пропорционально затратам, понесенным в каждом из её звеньев.

В ситуации, когда агрегаторы будут реализовывать полученную от производителей продукцию по общепринятой схеме «по договоренности» или «исходя из среднерыночной цены» или «исходя из биржевых цен» (рис. 1), и они, и оптово-распределительные центры остаются всего лишь дополнительными звеньями цепи товародвижения, не снижающими цену для конечного потребителя и не позволяющими первичному производителю получать дополнительные бонусы (в виде большей прибыли), кроме снижения затрат (финансовых, материальных, временных) на выполнение функций сбыта своей продукции.

- Создание механизма распределения прибыли от реализации конечной продукции пропорционально затратам каждого из участников цепи товародвижения даст экономике и обществу ряд преимуществ (рис. 1):
- рост доходности малого аграрного бизнеса, а, значит, его привлекательности в глазах населения и, в первую очередь, выпускников аграрных учебных заведений;
 - снижение нагрузки на малый аграрный бизнес за счет передачи несвойственных для него функций в руки агрегаторов, а, значит, улучшение условий труда предпринимателей;
 - снижение цены продовольствия для конечного потребителя.

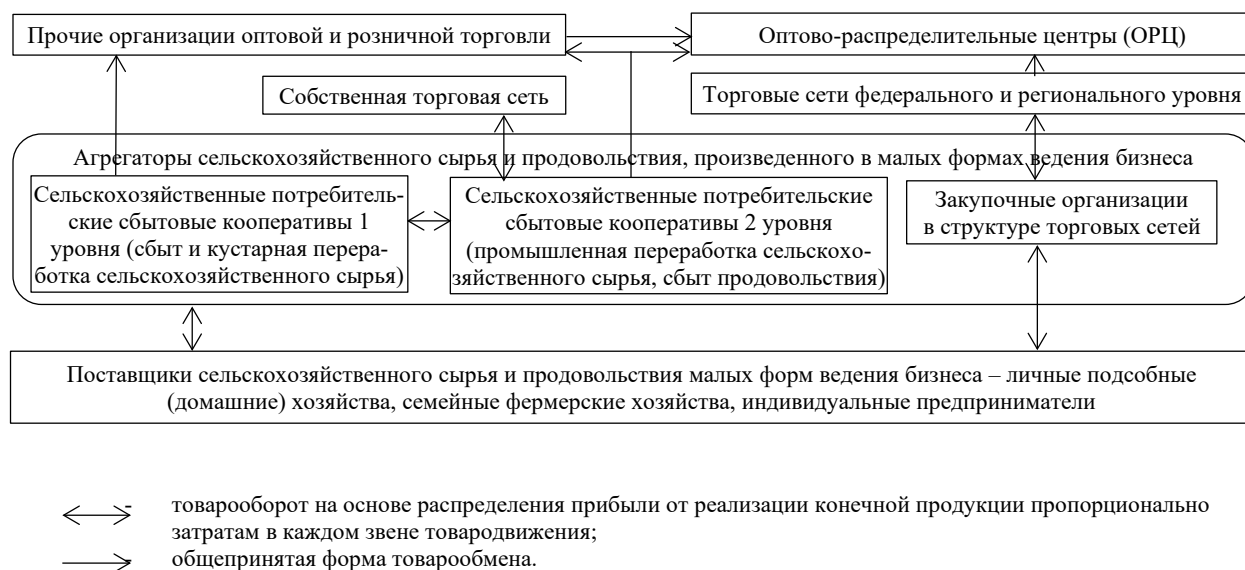


Рисунок 1. Виды условий распределительных отношений участников цепочек товародвижения в разных системах сбыта, включающих производителей и агрегаторов продукции малых форм сельскохозяйственного производства и оптово-распределительные центры

Figure 1. Conditions of distribution relations between stakeholders in commodity distribution chains in different distribution systems, including producers and aggregators of small agricultural production and wholesale distribution centers

Комплексный подход к развитию системы сбыта продукции малого аграрного бизнеса должен включать одновременное решение таких вопросов, как:

- законодательное закрепление распределительных отношений, основанных на учете затрат их участников,
- подготовка кадров, обладающих способностями работать с людьми, знаниями законодательства и организационных форм работы на принципах кооперации и торгового дела;
- допуск субъектов малого аграрного бизнеса к финансированию проектов строительства объектов инфраструктуры переработки и сбыта сельскохозяйственного сырья и продовольствия;
- выделение средств государственной поддержки малому и микро-бизнесу не только на техническое перевооружение процессов производства, но и на строительство объектов для первичной обработки и хранения сельскохозяйственной продукции.

Выводы

Аграрный малый и микро-бизнес испытывает острую потребность в объектах и субъектах сбыта произведенной им продукции. Особенно актуальна эта проблема в регионах аграрной специализации. Созданные с участием бюджетных средств, оптово-распределительные центры не решили этой задачи, как это планировалось изначально, так как агрегировать, то есть собирать по селам малые партии разнородной продукции в их функции не входило, и до сих пор делать это в большинстве случаев некому. К запланированным для решения этой

задачи агрегаторам фермерской продукции, согласно проекту закона, отнесены торговые сети и сельскохозяйственные потребительские сбытовые кооперативы. Чтобы они не превратились в таких же посредников, как множество уже имеющихся на рынке, автор предлагает решить ряд задач: усовершенствовать законодательство о сельскохозяйственных потребительских сбытовых кооперативах, исключив из их практики двойное налогообложение их участников; закрепить в качестве обязательного условия деятельности агрегаторов фермерской продукции распределение прибыли от реализации конечной продукции участниками между создаваемой ими цепочки пропорционально их затратам, допустить субъекты малого и микро-бизнеса к финансированию проектов строительства инфраструктурных объектов, готовить специалистов в аграрных учебных заведениях, знающих специфику реализуемой продукции, тонкости бухгалтерского учета в сельскохозяйственных потребительских кооперативах, логистики и торгового дела. Реализация данного подхода позволит, с одной стороны, снизить цены на потребительских рынках, с другой – повысить эффективность сельскохозяйственного производства в малом секторе.

Критерии авторства

Автор самостоятельно проводил исследование и оформлял рукопись.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The author is solely responsible for the research and manuscript.

Conflict of interest

The author reported no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Vorobyov SP. Methodological aspects of typification of Russian regions based on the analysis of the institutional structure of the economy of the agro-industrial complex. *Economics. Profession. Business*. 2020;(3):21–27. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/epb201982>; <https://www.elibrary.ru/TFLOZY>
2. Nechaev VI. Increasing the profitability of agricultural production: significant factors and solutions. *Economy, labor, management in agriculture*. 2024;(3):72–85. (In Russ.). <https://doi.org/10.33938/243-72>; <https://www.elibrary.ru/OLTROS>
3. Gritsenko G. Methodological approaches to the substantiation of forecasts for the development of the infrastructure for the maintenance of the agricultural sector of a rural municipality. *AIC: Economics, Management*. 2019;(10):79–86. (In Russ.). <https://doi.org/10.33305/1910-79>; <https://www.elibrary.ru/IARFHG>
4. Petrova MV. The role and importance of the agro-industrial complex of the Altai territory in ensuring food security in Russia. *Regional Economy and Management: Electronic Scientific Journal*. 2021;(3):12. (In Russ.). [Петрова М. В. Роль и значение агропромышленного комплекса Алтайского края в обеспечении продовольственной безопасности России // Региональная экономика и управление: электронный научный журнал. 2021. № 3. Номер статьи: 6712]. <https://www.elibrary.ru/WLQFJO>
5. Pak Z, Kravchenko D, Molchanova L. Mechanisms and tools for managing the development of small businesses. *AIC: Economics, Management*. 2021;(4):3–12. (In Russ.). <https://doi.org/10.33305/214-3>; <https://www.elibrary.ru/ZPNBBH>
6. Podrezov AA. Analysis of the performance of economic activities of agricultural holdings. *Economy, Labor, Management in Agriculture*. 2022;(10):116–123. (In Russ.). <https://doi.org/10.33938/2210-116>; <https://www.elibrary.ru/WQLNOC>
7. Lukovnikova NS. Wholesale distribution centers as a stimulus for the development of agriculture. *AgriFood Economics*. 2019;(2):17–24. (In Russ.). [Луковникова Н. С. Оптово-распределительные центры как стимул развития сельского хозяйства // Агропродовольственная экономика. 2019. № 2. С. 17–24.]. <https://www.elibrary.ru/ZAUFGP>
8. Momynkulova SH. Formation of wholesale distribution centers in the food supply system of regions of Kazakhstan. *Central Asian Economic Review*. 2023;(1):72–83. <https://doi.org/10.52821/2789-4401-2023-1-72-83>; <https://www.elibrary.ru/NZQXZX>
9. Rykova I. Developing a network of wholesale distribution centers for agricultural sales, including engineering and transport infrastructure, automated information logistics, and calculation systems. Moscow; 2014. (In Russ.). [Рыкова И. Развитие сети оптово-распределительных центров для сбыта сельскохозяйственной продукции, включая создание необходимой инженерной и транспортной инфраструктуры и обеспечение функционирования автоматизированных информационных логистических и расчетных систем. Москва. 2014]. (Дата обращения 12.01.2024) https://www.nifi.ru/images/FILES/Reports/Metodicheskie_recomendacii_ORC.pdf
10. Lamanov SV, Li MR, Romashkin RA, Surganova TV. Prospects for the formation of a two-level system of agro-logistic centers in the face of new challenges for the agro-industrial complex of Russia. *Exploitation and protection of natural resources in Russia*. 2022;(3):123–130. (In Russ.). [Перспективы формирования двухуровневой системы агрологистических центров в условиях новых вызовов для АПК России / С. В Ламанов [и др.] // Использование и охрана природных ресурсов в России. 2022. № 3. С. 123–130.]. <https://www.elibrary.ru/ORFOZD>
11. Lamanov SV, Romashkin RA, Surganova TV. A case study of a network of wholesale distribution centers in Russia. (In Russ.). Ламанов С. В., Ромашкин Р. А., Сурганова Т. В. Анализ опыта создания сети оптово-распределительных центров в России. (Дата обращения 21.01.2024). <https://ecfs.msu.ru/Analytics/Оптово-распределительные%20центры%20в%20РФ%20история%20вопроса.pdf>
12. Akyulov RI. Marketplace as an innovative method of promoting food products in e-commerce. *Innovation and Investment*. 2023;(11):91–93. (In Russ.). [Акюлов Р. И. Маркетплейс как инновационный метод продвижения продовольственных товаров в электронной торговле // Инновации и инвестиции. 2023. № 11. С. 91–93.]. <https://www.elibrary.ru/HDWWVL>
13. Galiev RR, Kovshov VA, Gusmanov RU. Agrolandshering cooperative marketplace project. *Bulletin NGIEI*. 2021;(2):101–112. (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/2227-9407-2021-2117-101-112>; <https://www.elibrary.ru/MUDAJF>
14. Khaliullin AR, Gainutdinov IG. Digital agricultural online platform and its role in improving the efficiency of raw milk sales. *Scientific Diary*. 2023;(9):10. (In Russ.). [Халиуллин А. Р., Гайнутдинов И. Г. Цифровая сельскохозяйственная онлайн платформа и её роль в повышении эффективности реализации сырого молока // Дневник науки. 2023. № 9. Номер статьи 10.]. <https://www.elibrary.ru/VOSFTD>
15. Cheglov VP, Yagudin AN. Development of farm sales infrastructure in Russia: analysis of foreign experience. *Journal of Economy and Entrepreneurship*. 2019;(8):790–793. (In Russ.). [Чеглов В. П., Ягудин А. Н. Развитие инфраструктуры продаж продукции фермерских хозяйств в России на основе анализа зарубежного опыта. Экономика и предпринимательство. 2019. № 8. С. 790–793.]. <https://www.elibrary.ru/UYWZDT>

16. Routroy S, Behera, A. Agriculture supply chain: A systematic review of literature and implications for future research. *Journal of Agribusiness in Developing and Emerging Economies*. 2017;7(3):275–302. <https://doi.org/10.1108/JADEE-06-2016-0039>
17. Akimova YA, Kochetkova SA. The european experience of regulation of development of agrarian sphere economy. *Economic Sciences*. 2015;(12–7):1261–1265. (In Russ.). [Акимова Ю. А., Кочеткова С. А. Европейский опыт регулирования развития аграрной сферы экономики // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 12–7. С. 1261–1265.]. <https://www.elibrary.ru/VJFUAT>
18. Promoting agricultural exports in the EU and what Russia can adopt from this experience. [Internet]. [cited 2020 May 06]. Available from: <https://agrarian.expert/eksportnaya-politika-es-prodvizhenie-selhozprodukcii-na-rynki-tretih-stran/>
19. Lee B, Liu J-Y, Chang H-H. The choice of marketing channel and farm profitability: Empirical evidence from small farmers. *Agribusiness*. 2020;36(3):402–421. <http://doi.org/10.1002/agr.21640>
20. Chand K, Suresh A, Dastagiri MB, Kumar S, Mandal S. Fruit marketing, its efficiency and supply chain constraints in India: A case study. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 2021;91(8):1146–1150. <https://doi.org/10.56093/ijas.v91i8.115800>
21. Kumar A, Sumit, Yadav MK, Rohila AK. Constraints faced by the farmers in production and marketing of vegetables in Haryana. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 2019;89(1):153–160. <https://doi.org/10.56093/ijas.v89i1.86198>
22. Pham TT, Theuvsen L, Otter V. Determinants of Smallholder Farmers' Marketing Channel Choice: Evidence from the Vietnamese Rice Sector. *Asian Economic Journal*. 2019;33(3):281–300. <https://doi.org/10.1111/asej.12187>
23. Tafesse A, Megerssa GR, Gebeyehu B. Factors determining commercialization of agricultural products in Offa District, Ethiopia. *Cogent Food and Agriculture*. 2020;6:1816253. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1816253>
24. Q Fan, Garcia VBS. Access to information and market participation of smallholder farmers in Peru. *Journal of Agricultural Economics*. 2018;69(2):476–494. <https://doi.org/10.1111/1477-9552.12243>
25. Mukhametgaliev F, Khafizov D, Khismatullin M, Gaynutdinov I, Sitdikova L. Issues of small forms of economic and cooperation development in rural areas. *Vestnik of the Kazan State Agrarian University*. 2019;14(1):138–144. https://doi.org/10.12737/article_5ccedf76d50a12.50893731; <https://www.elibrary.ru/WYJOFF>
26. Leoshko VP, Zhukova OI, Zhukov AS, Nechitailov AS. Cooperation in the system of wholesale distribution centers of the regional economy. *Fundamental and Applied Research Studies of the Economics Cooperative Sector*. 2022;(2):33–41. (In Russ.). [Кооперация в системе оптово-распределительных центров региональной экономики / В. П. Леошко / [и др.] // Фундаментальные и прикладные исследования кооперативного сектора экономики. 2022. № 2. С. 33–41.]. <https://doi.org/10.37984/2076-9288-2022-2-33-41>; <https://www.elibrary.ru/QLKFMYY>
27. Kolonchin KV. Organization of agro-food market infrastructure: targets and problems at the current stage of development. *Food Industry*. 2018;12:14–19. (In Russ.). [Колончин К. В. Организации инфраструктуры агропродовольственного рынка: целевые установки и проблемы современного этапа развития. Пищевая промышленность. 2018. № 12. С.14–19]. <https://www.elibrary.ru/YUKJLN>
28. Artemova EI, Plotnikova EV, Galkina AG. Solving the problem of selling products of small agricultural producers based on the development of local retail chains. *Bulletin of the Academy of Knowledge*. 2021;(43):36–41. (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/2304-6139-2021-11034>; <https://www.elibrary.ru/RXGASJ>
29. Domozhilkina ZhV, Misharina DYu. Perspectives of the creation of a shared logistics centre of produce of aprc in the republic of Crimea. *Agroindustrial Complex of Upper Volga Region Herald*. 2018;2:66–69. (In Russ.). [Доможилкина Ж. В., Мишарина Д. Ю. Перспективы создания единого логистического центра продукции АПК в Республике Крым // Вестник АПК Верхневолжья. 2018. № 2. С. 66–69.]. <https://www.elibrary.ru/XTTONN>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2525>
<https://elibrary.ru/UHDAVH>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Перспективы комплексной переработки ягод черной смородины



В. М. Коденцова¹, Д. В. Рисник²,
Е. М. Серб^{3,*}, И. М. Абрамова³, Е. Н. Соколова³,
Е. Р. Крючкова³, Л. В. Римарева³

¹ Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи^{ROR}, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова^{ROR}, Москва, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 09.02.2024

Принята после рецензирования: 26.03.2024

Принята к публикации: 02.04.2024

*Е. М. Серб: serbae@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-1660-2634>

В. М. Коденцова: <https://orcid.org/0000-0002-5288-1132>

Д. В. Рисник: <https://orcid.org/0000-0002-3389-8115>

И. М. Абрамова: <https://orcid.org/0000-0001-9297-0554>

Е. Н. Соколова: <https://orcid.org/0000-0002-6084-7786>

Е. Р. Крючкова: <https://orcid.org/0000-0001-8012-0907>

Л. В. Римарева: <https://orcid.org/0000-0003-3097-0836>

© В. М. Коденцова, Д. В. Рисник, Е. М. Серб, И. М. Абрамова,
Е. Н. Соколова, Е. Р. Крючкова, Л. В. Римарева, 2024



Аннотация.

Чёрная смородина (*Ribes nigrum* L.) является одной из самых доступных в России ягод, которую можно использовать в здоровом питании. Цель исследования – характеристика пищевой ценности ягод чёрной смородины и продуктов их переработки с позиции удовлетворения физиологической потребности человека в витамине С, антоцианах, пищевых волокнах, и оценка их использования в пищевой промышленности и питании.

В ходе работы провели анализ оригинальных исследовательских и обзорных статей на русском и английском языках, опубликованных в научных журналах в ретроспективе с 2015 по 2023 гг., индексируемых базами данных РИНЦ и Pubmed. Поиск осуществляли по ключевым словам: «blackcurrant» или «чёрная смородина».

Ягоды чёрной смородины содержат значительные количества пищевых волокон, полифенольных соединений, антоцианов, витамина С и калия, благодаря чему являются источником этих пищевых веществ, в значительной мере покрывая потребность человека в этих нутриентах. Добавление ягод или вторичных продуктов их переработки в кисломолочные, зерновые пищевые продукты в количестве 5–20 % взамен основного сырья позволяет достигнуть их обогащения пищевыми волокнами, витамином С, антоцианами, снизить калорийность. Ягоды чёрной смородины и вторичные продукты их переработки, содержащие цвето-, вкусо- и ароматобразующие соединения, используются при производстве различных спиртных напитков. В технологическом отношении выжимки ягод являются функциональным ингредиентом, обладающим влагоудерживающей способностью, повышающим антиоксидантную способность продукта. Сок (1,43 %) и водный экстракт выжимок применяют в составе маринадов для рыбной и мясной продукции, что повышает их микробиологическую безопасность и увеличивает срок годности.

Результаты исследований подтверждают целесообразность комплексной переработки ягод чёрной смородины, которые являются ценным источником пищевых волокон, витамина С и антоцианов. Вторичные продукты их переработки представляют собой концентрат пищевых волокон, содержащий значительное количество природных антиоксидантов. При разработке функциональных пищевых продуктов – источников биологически активных веществ – необходимо руководствоваться критериями, предъявляемыми к обогащенным продуктам. Добавление небольших количеств ягодного сырья и побочного сырья из них, потенциально являющихся источником ценных биологически активных веществ, хотя и послужит расширению ассортимента пищевых продуктов, но не позволит достигнуть цели обогащения дефицитными в рационе человека биологически активными веществами и снизить общую калорийность.

Ключевые слова. Чёрная смородина, выжимки ягод, пищевые волокна, фенольные соединения, витамин С, пищевые продукты, обогащение

Финансирование. Исследование выполнено в рамках поисковых научных исследований по теме № FGMP-2023-0004.

Для цитирования: Перспективы комплексной переработки ягод черной смородины / В. М. Коденцова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 621–632. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2525>

Prospects for Integrated Processing of Black Currant



Vera M. Kodentsova¹, Dmitry V. Risnik²,
Elena M. Serba³, Irina M. Abramova³, Elena N. Sokolova³,
Elizaveta R. Kryuchkova³, Liubov V. Rimareva³

¹ Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety^{ROR}, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University^{ROR}, Moscow, Russia

³ All-Russian Research Institute of Food Biotechnology^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 09.02.2024

Revised: 26.03.2024

Accepted: 02.04.2024

Elena M. Serba: serbae@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-1660-2634>

Vera M. Kodentsova: <https://orcid.org/0000-0002-5288-1132>

Dmitry V. Risnik: <https://orcid.org/0000-0002-3389-8115>

Irina M. Abramova: <https://orcid.org/0000-0001-9297-0554>

Elena N. Sokolova: <https://orcid.org/0000-0002-6084-7786>

Elizaveta R. Kryuchkova: <https://orcid.org/0000-0001-8012-0907>

Liubov V. Rimareva: <https://orcid.org/0000-0003-3097-0836>



Abstract.

Black currant (*Ribes nigrum* L.) is one of the most popular berries in Russia. Its biochemical properties make it part of a healthy diet. This review describes the role of black currant and its by-products in the food industry and defines its nutritional value, i.e., vitamin C, anthocyanins, and dietary fiber. It covered original Russian and English research articles and reviews published in 2015–2023 and indexed in the Russian Research Citation Index or Pubmed databases. The keywords were *black currant* in Russian and English.

Black currant berries are rich in dietary fiber, polyphenolic compounds, anthocyanins, vitamin C, and potassium. They cover human needs for these nutrients. Added to fermented dairy and grain foods at 5–20%, fresh or processed berries fortify them with dietary fiber, vitamin C, and anthocyanins while reducing energy value. As ingredients with color, taste, and aromatic compounds, black currant berries and their secondary products can be introduced into the formulations of various alcoholic beverages. Berry pomace is a technologically functional ingredient with a moisture-retaining ability that increases the antioxidant capacity of the final product. Juice and aqueous extracts of black currant pomace are used as picklers for fish and meat products to increase their microbiological safety and shelf-life.

Complex processing of black currant berries is feasible as they are a valuable source of dietary fiber, vitamin C, and anthocyanins. Products of their processing provide a concentrate of dietary fiber with natural antioxidants. However, functional foods as sources of biologically active substances need to follow special criteria for fortified products. Black currant and its by-products are a potential source of valuable biologically active substances. In small quantities, they can expand the range of food products but fail to satisfy human diet with biologically active substances or reduce the overall energy value.

Keywords. Black currant, black currant berry pomace, dietary fiber, phenolic compounds, food products, vitamin C, fortification

Financing. The study was carried out as part of exploratory scientific research on topic No. FGMF-2023-0004.

For citation: Kodentsova VM, Risnik DV, Serba EM, Abramova IM, Sokolova EN, Kryuchkova ER, et al. Prospects for Integrated Processing of Black Currant. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):621–632. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2525>

Введение

Ягоды и фрукты, а также продукты на их основе, являются неотъемлемой частью рациона человека. Ягоды чёрной смородины (*Ribes nigrum* L.) являются одними из самых доступных в России, которые можно использовать в здоровом питании [1]. Ягоды чёрной смородины содержат целый комплекс биологически активных и пищевых веществ (витаминов, фенольных соединений, органических кислот, пищевых волокон, микронутриентов), оказывающих стимулирующее

воздействие на многие функции организма человека. В составе сахаров, характеризующих пищевую ценность ягод, количественно преобладает фруктоза с незначительным содержанием глюкозы и сахарозы [2].

Ягоды чёрной смородины и продукты их переработки используются в пищевой промышленности для повышения пищевой ценности продукции, придания ей специфических органолептических свойств, характерных для данного вида сырья, и уменьшения калорийности

пищевых продуктов. Наиболее широко черносмородиновое сырье применяют в производствах соков, сиропов, фруктовых нектаров, варенья, джемов, желе, мармелада, начинок для пирогов, кондитерских изделий, консервов, йогуртов, мороженого, минеральных вод, травяных чаев, алкогольных и безалкогольных напитков, уксуса. Чёрную смородину и продукты её переработки применяют в качестве вспомогательных средств для улучшения качества и повышения хранимоспособности целевой продукции [3].

Полезь ягод чёрной смородины для здоровья человека напрямую связана с наличием в них пищевых волокон, полифенольных соединений, антоцианов, витамина С и минеральных элементов. Полифенолов (производных фенольной кислоты, антоцианов, флавонолов, конденсированных дубильных веществ (проантоцианидины), флаван-3-ола (катехины) и гидролизуемых дубильных веществ (эллагитанины и галлотанины)) в ягодах чёрной смородины содержится больше, чем в плодах крыжовника, клубники, красной и белой смородины и малины [4]. Однако недостаточное внимание уделяется обоснованию целесообразности применения этого вида сырья для формирования функциональных свойств создаваемой пищевой продукции.

Цель обзора – анализ и обобщение данных, характеризующих пищевую ценность ягод чёрной смородины и продуктов их переработки, с позиции удовлетворения физиологической потребности человека, и оценка перспективы их использования в пищевой промышленности и питании.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись актуальные данные научных статей о свойствах и биохимическом составе ягод чёрной смородины, о методах выделения и применения функциональных компонентов черносмородинового сырья, перспективах его комплексной переработки для производства пищевых продуктов.

Методология. Базы данных и временные рамки.

Обзор существующей по проблеме литературы, преимущественно за последние 8 лет, осуществляли по ключевым словам по базам данных Pubmed и РИНЦ: «blackcurrant» или «чёрная смородина». Поиск источников был ограничен периодом с 2015 по 2023 гг., за редким исключением для статей, имеющих принципиальное значение. Во всех найденных статьях была изучена библиография с целью выявления дополнительных, не обнаруженных публикаций. Анализировали оригинальные исследовательские и обзорные статьи на русском и английском языках, опубликованные в научных журналах.

Критерии включения и исключения источников.

Критериями включения были статьи, в которых имеются данные по химическому составу ягод, продуктов их переработки, в частности выжимок ягод чёрной смородины. В обзор включали данные об использовании ягод, сока, выжимок ягод и экстрактов в технологиях

разных пищевых продуктов. Критерием включения в обзор данных о пользе ягод чёрной смородины или сока были только наблюдения с участием людей, которые содержали сведения о продолжительности наблюдения и количестве перорально потребляемого продукта.

Критериями исключения были тезисы, опубликованные в сборниках материалов конференций, исследования, не содержащие сведения о влиянии введения продуктов переработки ягод на физико-химические свойства пищевых продуктов, а также данные, касающиеся химического состава и применения листьев, семян чёрной смородины и способов получения экстрактов антоцианов. Современная зарубежная литература в основном сконцентрирована на разработке различных способов получения экстрактов антоцианов, что не являлось целью данного исследования, поскольку в задачу исследования входила оценка пищевой ценности ягод чёрной смородины и продуктов их переработки с позиции удовлетворения физиологической потребности человека. Несмотря на большое количество статей, опубликованных на русском языке, в основном посвященных разработке новых пищевых продуктов смешанного состава с добавлением ягод чёрной смородины, т. е. расширению ассортимента, они либо не содержат сведений о содержании в них витамина С и/или антоцианов, либо содержат результаты определения суммы полифенольных соединений, антиоксидантной способности продукта, что не позволяет достоверно оценить степень возможного вклада таких продуктов в потребление антоцианов и витамина С потребителем. В исследованиях, опубликованных на английском языке, приводятся сведения о содержании индивидуальных антоцианов, что позволяет систематизировать данные о полифенольных соединениях, среди которых антоцианы составляют лишь определенную часть.

Количество публикаций, содержащих ключевые слова «чёрная смородина» в базе данных РИНЦ составило 246, подавляющее большинство из них тезисы. После исключения тезисов и статей ботанического плана по выведению новых сортов и характеристике их макронутриентного состава (углеводы, сахара и т.д.) были отобраны 18 статей, соответствующих цели исследования.

Количество публикаций, содержащих ключевое слово «blackcurrant» в базе данных Pubmed, составило 330, подавляющее большинство из них посвящены разработке современных способов получения антоцианов и полифенольных соединений. В результате были отобраны 30 статей на английском языке, соответствующих цели исследования.

Результаты и их обсуждение

Пищевая ценность сырья из чёрной смородины.

Химический состав ягод чёрной смородины значительно варьирует в зависимости от сорта и года выращивания. На химический состав влияют многие факторы

окружающей среды (широта места произрастания, температура и др.). В ягодах, собранных на молодых побегах, обнаружено более высокое содержание фенольных соединений, аскорбиновой кислоты, а также более высокая способность удаления радикалов DPPH – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила, представляющего собой стабильный свободный радикал, который используют для измерения способности антиоксидантов улавливать радикалы [5]. Более высокое содержание летучих веществ было обнаружено в ягодах, выращенных на более высокой широте (66°34' северной широты), чем в ягодах, выращенных южнее (60°23' северной широты). Содержание летучих веществ имеет отрицательную связь с инсоляцией ультрафиолетом и температурой в течение последнего месяца перед сбором урожая, а также продолжительностью хранения ягод [6].

Основными сахарами в ягодах чёрной смородины являются фруктоза 48–60 % от общего содержания сахаров, глюкоза 38–47 %, и сахароза. Содержание фруктозы в отечественных сортах чёрной смородины из Тамбовской области в среднем составило 4,2 %, глюкозы 2,6 % [7]. Отношение содержания сахаров к содержанию органических кислот в плодах отечественных сортов чёрной смородины, выращенных в Ленинградской области, составило 15 [8]. Сахарокислотный индекс ягод, выращенных в условиях средней подзоны тайги Республики Коми, составил примерно 3,5 [9].

Органические кислоты, содержащиеся в чёрной смородине, представлены лимонной – 75–97 % от общего содержания кислот, яблочной, хинной и аскорбиновой кислотами [10]. Содержание лимонной кислоты в 100 г ягод, выращенных в Тамбовской области, составило около 2 г, яблочной – 0,18 г [7]. Основной органической кислотой, обнаруженной в выжимках чёрной смородины, была лимонная кислота, хотя также была идентифицирована и яблочная кислота [11].

Ягоды чёрной смородины содержат значительные количества пищевых волокон, в том числе 2,68 % нерастворимых и 1,62 % растворимых [7]. Общее содержание пищевых волокон в микронизированных бессемянных выжимках ягод смородины составило

71,3 г/100 г (5,6 г растворимых пищевых волокон, 65,7 г нерастворимых пищевых волокон) [4]. По другим данным в выжимках чёрной смородины содержится значительное количество пищевых волокон: растворимые волокна составляют от 25 до 30 % по массе, а нерастворимые пищевые волокна около 47 % [12].

В таблице 1 представлен диапазон содержания пищевых волокон, микронутриентов и антоцианидинов в ягодах чёрной смородины.

Высокое содержание пектина 0,9–1,5 % определяет вязкость ягоды, которая сильно отличается от других ягод [14]. Сок, изготовленный с применением пектина, получается менее вязким, но более горьким по сравнению с соком, полученным без обработки ферментами. Это обусловлено тем, что сок, полученный с добавлением ферментов, содержит в 4–10 раз больше фенольных соединений, имеет немного более высокий pH (увеличение на ~ 0–0,2) и более низкое соотношение сахара и кислот (увеличение на ~ 0,6–1,1) [14]. Жмых после прессования быстрозамороженных ягод содержал 1,2 % фенольных соединений и 2,4 % пектиновых веществ и 0,8 % органических кислот в пересчете на яблочную [15].

Фенольные соединения. По данным сравнительного анализа 21 сорта ягод чёрной смородины, выращенных в Шотландии (9 сортов), Литве (5 сортов), Латвии (1 сорт), Польше (1 сорт) и Финляндии (5 сортов), в ягодах было идентифицировано 63 химических соединения, среди которых антоцианы (15 соединений), флавонолы (19), флаван-3-олы (4), производные фенольной кислоты (14), органические кислоты (4) и сахара (6) [10].

По своей сути выжимки ягод чёрной смородины представляют собой концентрат пищевых волокон, содержащий значительное количество природных антиоксидантов (фенольные соединения), связанных с углеводной матрицей. В отношении организма человека выжимки ягод сочетают в себе свойства двух типов веществ – пищевых волокон и антиоксидантов. Общее содержание фенольных соединений в ягодах варьирует от 598 до 2798 мг/100 г, содержание антоцианов нахо-

Таблица 1. Содержание пищевых волокон, микронутриентов и антоцианидинов в ягодах чёрной смородины

Table 1. Dietary fiber, micronutrients, and anthocyanidins in black currant berries

Пищевое вещество	РНП [14] (АУП) [15]	Содержание в 100 г	% от РНП (АУП) в 100 г
Пищевые волокна	20–25 г	3,4–4,3 г	17–21
Витамин С	100 мг	116–342 мг	116–342
Калий	3500 мг	250–360 мг	7–10
Магний	420 мг	24–34 мг	6–8
Медь	1 мг	60–130 мкг	2–13
Антоцианины (гликозиды цианидина, мальвидина и др.)	(50 мг)	160–411 мг	320–822

Примечание: РНП – рекомендуемая норма потребления, АУП – адекватный уровень потребления.

Note: РНП – recommended intake; АУП – adequate level of intake.

дится в диапазоне 160–411 мг/100 г, среди которых дельфинидин-3-О-глюкозид, дельфинидин-3-О-рутинозид, цианидин-3-О-глюкозид и цианидин-3-О-рутинозид характерны именно для черной смородины [10, 11]. 92–97 % от общего количества антоцианов в чёрной смородине составляют гликозиды цианидина и дельфинидина (3-О-глюкозид и 3-О-рутинозид) [10].

В технологическом отношении выжимки ягод являются функциональным ингредиентом, обладающим влагоудерживающей способностью, а также способствующим повышению антиоксидантных свойств продукта. Согласно определению Р. Арак, антиоксидантная способность отражает эффективность окислительного стехиометрического превращения антиоксиданта окисляющим агентом и связана с константой равновесия этого превращения, единицами ее измерения обычно является количество молей активных веществ, поглощенных 1 молекул антиоксиданта в течение определенного периода времени [16]. Общая антиоксидантная способность чёрной смородины, измеренная фотометрическим методом FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) с использованием фотометрического реагента – трипиридилтриазин, 1,10-фенантролин, 2,2'-дипиридила по интенсивности восстановления Fe^{3+} , составляет $51,6 \pm 1,2$ мкмоль Fe^{2+} /г, и является одной из самых высоких по сравнению с другими ягодами [14].

Микронутриенты. Плоды чёрной смородины содержат 116–342 мг/100 г аскорбиновой кислоты и 160–411 мг/100 г антоцианов, которые являются наиболее распространенными представителями полифенольных соединений в этом фрукте [11, 17]. Содержание аскорбиновой кислоты, определенное в 15 образцах ягод чёрной смородины, составило 235 ± 103 мг/100 г (медиана 230 мг, диапазон значений 20–400 мг в 100 г) [18]. В ягодах 12 сортов, выращенных в экспериментальных насаждениях «Федерального научного центра им. И. В. Мичурина» и собранных по достижении потребительской спелости, среднее содержание витамина С составило 178 мг/100 г (116–248 мг/100 г), антоцианов – 28,5 мг/100 г [7].

Одна порция (150 г) ягод чёрной смородины служит хорошим источником витамина С, с избытком покрывая суточную потребность организма в этом витамине. Содержание витаминов группы В в ягодах весьма небольшое, такая же порция ягод покрывает потребность организма человека в витаминах В₁, В₂ и Е всего лишь на 6 % [7]. Другими словами, за исключением витамина С существенного вклада в обеспечение организма другими витаминами ягоды чёрной смородины не вносят. Это означает, что отнесение многими авторами ягод чёрной смородины к поливитаминным продуктам является ошибочным [19].

При хранении быстрозамороженной ягоды в течение 6–9 мес. наблюдается незначительное снижение содержания витамина С на 5 % [19, 20]. Сублимационная сушка ягод при 50 °С с продолжительностью процесса 18 ч приводит к снижению содержания витамина С

на 20 % [21]. Содержание витамина С в соке чёрной смородины варьирует от 150 до 172 мг/л [17].

В 100 г ягод чёрной смородины содержится около 250–360 мг калия, 25–34 мг магния (табл. 1), что составляет 7–8 % от их рекомендуемой нормы потребления, а также 60–130 мкг меди и 0,3 мг марганца, что обеспечивает 13–15 % от рекомендуемой нормы потребления [7, 22].

Ягоды чёрной смородины являются источником ряда пищевых веществ (пищевые волокна, углеводы) и природных биологически активных соединений (полифенольные соединения, витамин С), которые обладают антиоксидантными и другими полезными для здоровья человека свойствами.

Использование ягодного сырья из чёрной смородины для повышения пищевой ценности и уменьшения калорийности пищевых продуктов. Разнообразие пищевой продукции из ягод черной смородины. Ягоды чёрной смородины и продукты их переработки имеют большой потенциал для применения в пищевой промышленности. Черносмородиновое сырье используют в соко-морсовом производстве, в составе кондитерских и хлебобулочных изделий, в производстве безалкогольных и спиртных напитков, мороженого и кисломолочных продуктов [15, 20]. В торговой сети продают ягоды в свежем виде, ягоды индивидуальной быстрой заморозки, ягоды блочной заморозки, а также в качестве продукта «Чёрная смородина в сахарной пудре» [25]. Сохраняемость витамина С в консервах, изготовленных из плодов 10 различных сортов, находилась в пределах: компот – 43,8–90,3 %, ягоды протертые с сахаром – 37,4–64,3 %, нектар с мякотью – 45,0–67,0 %, ягоды дробленные с сахаром – 43,5–66,5 %, содержание фенольных соединений уменьшилось на 35,7–49,5 %, пектиновых веществ на 47,0–67,9 %, сохранение окраски составило 25,0–37,2 % от таковой у свежих ягод [24]. По степени сохранности исходного качества сырья продукты переработки распределились в следующий ряд: компот > ягоды, дробленные с сахаром > ягоды, протертые с сахаром > нектар с мякотью, такая последовательность, по мнению автора, является следствием большего измельчения и длительного контакта с кислородом воздуха [24]. Эти данные противоречат известным фактам о том, что аскорбиновая кислота нестабильна в условиях кислой среды, при нагревании, окисляется на свету и ее потери могут достигать 100 %, что объясняется тем, что в приведенном исследовании спектрометрически после реакции с α - α -дипиридилем определяли сумму аскорбиновой кислоты и окисленной формы витамина С – дегидроаскорбиновой кислоты.

Снэки сублимационной сушки из ягод чёрной смородины сохраняют антиоксидантную способность и содержат примерно 380 мг калия в 100 г продукта [25]. Антиоксидантная способность, обусловленная содержанием фенольных соединений, в определенной мере сохраняется в джемах и мармеладах, приготовленных

из ягод черной смородины, причем даже через 6 мес. хранения [26]. Показано, что в 100 г джема содержание витамина С составило 97 мг (для сравнения в свежих ягодах чёрной смородины – 213 мг), содержание калия – около 300 мг [27].

На основе ягод чёрной смородины и йогурта с добавлением мёда и изомальта, или изомальта и стевии были разработаны рецептуры лиофилизированных конфет, целью разработки которых было снижение потребления сахара и увеличение потребления фруктов [21]. Ягоды и выжимки ягод использовали для получения экстрактов, применяемых в качестве ингредиента при производстве специализированных и функциональных пищевых продуктов, биологически активных добавок к пище и натуральных красителей – антоцианов (blackcurrant extract) E163iii, а также природных консервантов.

Использование чёрной смородины в технологиях кисломолочных продуктов. Ягодное сырье из чёрной смородины использовали в качестве наполнителя при производстве мороженого, кисломолочных продуктов, творожков, в том числе для детского питания, изготовления смузи, фруктовых десертов, пюреобразных полуфабрикатов. Добавление ягодного сырья чёрной смородины к творогу привело к окрашиванию его в фиолетовый цвет, увеличило содержание аскорбиновой кислоты и антоцианов, обеспечило отсутствие плесени на протяжении 47 сут. хранения [28].

Разработали рецептуру творожного полуфабриката (сырники) функциональной направленности с частичной заменой основного сырья (творог) на цитрусовые пищевые волокна (5 %) и ягоды черной смородины (5 %) [29].

Добавление в сырную массу порошков ягод чёрной смородины и черноплодной аронии в соотношении 1:1 в дозе 3 %, позволило получить новый вид десертного мягкого сыра, разнообразив его потребительские характеристики [30].

В полумягком сыре Качотта, изготовленном из пастеризованного цельного коровьего молока с добавлением лиофилизированных ягод чёрной смородины, обнаружено более высокое количество молочнокислых бактерий, более высокие уровни органических кислот, аминокислот, γ -аминомасляной кислоты, гистамина и меньшее количество моносахаридов, образующихся в результате бактериальной ферментации, что позволило предположить положительное влияние соединений чёрной смородины на рост и активность молочнокислых бактерий [13].

Разработали кисломолочный продукт с добавлением в ходе сквашивания 15 % сиропа чёрной смородины, содержащего 378 мг антоцианов и 198 мг аскорбиновой кислоты, что не повлияло на процесс образования сгустка, накопление молочной кислоты и качество готового продукта и повысило содержание в 100 г витамина С до \approx 30 мг (30 % от рекомендуемой нормы потребления) и антоцианов до 56 мг (112 % от реко-

мендуемой нормы потребления), что позволяет отнести продукт к категории обогащенных этими пищевыми веществами [31].

Использование чёрной смородины в технологиях зерновых продуктов. Имеется положительный опыт использования высушенных измельченных выжимок чёрной смородины при выпечке крекеров (табл. 2). Сравнение свойств традиционных крекеров, рецептура которых содержала 50 % пшеничной муки, 30 % гречневой муки и 20 % кукурузной муки, с крекерами в которых кукурузная мука и гречневая мука были заменены выжимками в количестве 10, 20 и 30 %, привело к уменьшению на 57 % объема крекеров, содержащих 20 и 30 % выжимок, по сравнению с крекерами, изготовленными по традиционному рецепту, и крекерами, содержащими 10 % выжимок, а также снижению твердости готового изделия [34]. В отличие от обычного светло-коричневого цвета у крекеров с добавлением выжимок появился красный оттенок. Тем не менее, дегустаторы высоко оценили продукт с добавлением выжимок (4,17 по шкале приемлемости от 1 до 7 против 4,37 у эталонного крекера).

Выжимки чёрной смородины в количестве 30 % были использованы для изготовления снеков на основе ячменной или овсяной муки (40 %) и картофельного крахмала (30 %), небольшого количества сахара и соли, что положительно сказалось на их выраженном ягодном вкусе, цвете [33].

Введение жмыха, образовавшегося после прессования быстрозамороженных ягод чёрной смородины, предварительно высушенного при температуре 40 °С до влажности 20 %, в количестве 15 % от массы муки по сравнению с контрольным образцом сдобного печенья незначительно увеличило содержание в нем минеральных веществ и суммы фенольных соединений до 2,4 % [15]. Печенье с добавлением жмыха имело характерный для ягод чёрной смородины вкус и аромат, содержание в нем витамина С составило 30 мг/100 г. Однако содержание микроэлементов в печенье не превысило 5 % от рекомендуемого суточного потребления, что не позволяет отнести его к разряду обогащенных мучных кондитерских изделий, тем более что в случае высококалорийных продуктов расчет должен производиться на 100 ккал [34].

Использование чёрной смородины в технологиях спредов. В последнее время особое внимание уделяется комплексному использованию черносмородинового сырья, в том числе жмыха (выжимок) – вторичного ресурса, образуемого при переработке ягод на сок [15]. Даже после экстракции экстрагируемых фенольных соединений из выжимок ягод остаются неэкстрагируемые фенольные соединения или связанные фенольные соединения, которые включают широкий спектр фенольных соединений от низкомолекулярных до высокополимерных полифенолов, присоединенных к другим макромолекулам, например, клеточным стенкам и белкам [35].

Микронизированные до частиц с размером менее 30 мкм (путем влажного планетарного измельчения) смородиновые выжимки без семян, в количестве 16 г на 100 г были использованы при изготовлении фруктовых спредов с уменьшенным количеством кокосового масла, вкус которых напоминал сладкие ореховые спреды [4].

Использование чёрной смородины в технологиях ферментированных напитков. Проводятся исследования по подбору рас дрожжей, перспективных для сбраживания черносмородиновой мезги в технологиях дистиллированных напитков. Установлено, что для сбраживания сула, приготовленного из мезги чёрной смородины, наиболее приемлемыми являются расы Черносмородиновая 7 или Red Fruit, проявившие наиболее высокую бродильную активность [36].

В соке чёрной смородины и напитках брожения идентифицировано 98 летучих соединений. В зависимости от использованных рас дрожжей наблюдалось значительное увеличение по сравнению с исходным соком содержания эфиров (131 %), высших спиртов (391 %) и жирных кислот (исходно отсутствующих в соке). При сенсорной оценке напитков, ферментированных дрожжами, не относящимися к *Saccharomyces*, выявлен более сильный аромат чёрной смородины. Однако все напитки обладали сильно кислым вкусом, что может стать серьезной проблемой при разработке алкогольных ягодных напитков [37].

В алкогольных напитках с низким содержанием этанола (3,84–4,47 % по объему), полученных ферментацией сока чёрной смородины дрожжами *Saccharomyces*, увеличилось содержание органических кислот и флавонолов, тогда как содержание антоцианов снизилось [38, 39]. Последовательная ферментация *Saccharomyces cerevisiae* и *Metschnikowia pulcherrima* привела к получению напитка с самым высоким общим содержанием гидроксикоричных кислот и антоцианов среди всех способов ферментации [38, 39].

Для получения напитка на основе выжимок чёрной смородины, ферментированных добавлением съедобного гриба *Wolfiporia cocos*, использовали среду, состоящую из 80 г/л выжимок чёрной смородины (с рН, доведенным до 4,4) и 100 мл сахарного сиропа (58 г/л сахара), ферментировали в течение трех-четырёх дней до достижения рН $3,5 \pm 0,1$. После ферментации мицелий и другие твердые вещества удаляли, и напиток подвергали газированию. Напиток обладал приятным кисло-сладким вкусом [40].

Добавление измельченных ягод чёрной смородины к разбавленному мёду перед ферментацией *Saccharomyces cerevisiae* привело к увеличению содержания полифенольных соединений до 200 мг/л медовухи и появлению красного цвета [41].

Ягоды чёрной смородины, содержащие цвето-, вкусо- и ароматообразующие соединения, являются перспективным сырьем для разработки технологии производства оригинальных спиртных напитков на

основе конверсии зерно-фруктового сырья, что позволит расширить ассортимент отечественных напитков, производимых на основе натурального отечественного сырья взамен использования синтетических ароматизаторов [42]. Исследования, проведенные на крысах, подтвердили снижение негативных последствий при хронической интоксикации животных для образцов настойки сладкой крепостью 20 %, содержащей черносмородиновый спиртованный морс, по сравнению с раствором этилового спирта аналогичной крепости [43].

Использование чёрной смородины в технологических целях. Известно, что ягоды и побочные продукты их переработки, являясь природными источниками полифенольных антиоксидантов, обладают антимикробными свойствами, что позволило их использовать в пищевых технологиях для повышения хранимости готовой продукции.

Добавление сока чёрной смородины в количестве 1,43 % к маринаду для маринования свиной грудки (0,57 % соли, 2,85 % воды) предотвращало повышение рН и бактериальную порчу, а также ингибировало образование биогенных аминов при хранении в холодильнике в течение 10 сут. [3].

Добавление в маринад, содержащий 3 % сахара, 3 % соли, 1 % уксусной и 0,25 % лимонной кислоты, водного экстракта выжимок ягод чёрной смородины, полученного экстракцией при соотношении вес/объем 1:10, на водяной бане при температуре 70–80 °С в течение 30 мин., для филе форели радужной подавляло рост бактерий *Pseudomonas* и *Listeria Monocytogenes*, обеспечивая хорошее микробиологическое качество в течение 22 сут. [44]. При дегустации был отмечен приятный кисловатый ягодный вкус и запах.

В таблице 2 суммированы результаты использования черносмородинового сырья при изготовлении некоторых пищевых продуктов.

Использование продуктов переработки ягод чёрной смородины в технологических целях позволяет увеличить антиоксидантную способность продукции, предотвратить окислительную и бактериальную порчу.

Перспективные биологические эффекты чёрной смородины. Употребление студентами дважды в сутки в течение 8 дней по 450 мл нектара, приготовленного из 100 г ягод чёрной смородины, в 100 г которого содержалось 193 мг гликозида мальвидина, 175 мг гликозида цианидина и около 300 % от рекомендуемого суточного потребления витамина С, на 4-й день уменьшало симптомы мышечного повреждения (уровень креатинкиназы и интерлейкина-6 в крови), вызванного физической нагрузкой (эксцентрическое разгибание колена) по сравнению с показателями студентов из группы плацебо, принимавших изокалорийный напиток с таким же вкусом и цветом [45].

Прием в течение 6 мес. женщинами в ранней постменопаузе ($n = 11$) по 784 мг порошка ягод чёрной смородины по сравнению с женщинами, получавшими плацебо ($n = 13$), привел к значительному увеличению

Таблица 2. Влияние добавления ягод чёрной смородины и продуктов черносмородинового сырья в различные виды пищевых продуктов на технологические параметры и пищевую ценность

Table 2. Effect of black currant berries and their by-products on technological parameters and nutritional value of various foods

Продукт	Добавляемый продукт	Доза	Технологические параметры	Пищевая ценность	Источники
Для обогащения пищевой продукции					
Творожный полуфабрикат (сырники)	Измельченные ягоды + цитрусовые пищевые волокна	5 %	–	Пищевые волокна ↑, калорийность ↓	[29]
Кисломолочный продукт	Сироп черной смородины, содержащий 378 мг антоцианов и 198 мг аскорбиновой кислоты	15 %	Отсутствие влияния на образование сгустка, накопление молочной кислоты, качество продукта	Витамин С ↑, антоцианы ↑	[31]
Спред	Выжимки без семян взамен кокосового масла	16 %	Улучшение вкуса	Калорийность ↓	[4]
Крекеры	Выжимки ягод взамен кукурузной и гречневой муки	10 и 20 %	Уменьшение объема и снижение твердости, появление красного цвета	–	[32]
Печенье сдобное	Жмых ягод сухой	15 %	Вкус и аромат черной смородины	Витамин С ↑, фенольные соединения ↑	[15]
Снеки на основе ячменной или овсяной муки и картофельного крахмала	Выжимки ягод сухие	30 %	Ягодный вкус, приятный цвет	Пищевые волокна ↑	[33]
Для технологических целей					
Маринад для свиной грудинки	Сок черной смородины	1,43 %	Предотвращение повышения pH, бактериальной порчи, снижение образования биогенных аминов	–	[3]
Маринад для форели	Водный экстракт (1:1) выжимок ягод черной смородины	–	Подавление роста бактерий	Возникновение приятного кисловатого ягодного вкуса и запаха	[44]

Примечание: ↑ – увеличение, ↓ – уменьшение.

Note: ↑ – increase, ↓ – decrease.

в сыворотке крови маркера костеобразования – аминоконцевого пропептида проколлагена 1 типа (P1NP), что отражает улучшение костеобразования [46].

Употребления здоровыми мужчинами-курильщиками ($n = 8$) чёрной смородины (100 г) перед курением предотвращало обычно наблюдаемое у курильщиков уменьшение слюноотделения [47].

Результаты исследований эффективности сока ягод чёрной смородины показали, что потребление по 250 мл разбавленного водой сока чёрной смородины 4 раза в день в течение 6 недель привело к повышению уровня аскорбиновой кислоты в плазме крови и снижению концентрации маркера окислительного стресса F2-изопростана, что отражало уменьшение окислительного стресса по сравнению с участниками, получавшими плацебо [48].

Выводы

В большинстве статей, особенно отечественных авторов, содержатся утверждения о том, что ягоды чёрной смородины являются ценным пищевым сырьем, т. к. содержат большие количества витаминов, минеральных и биологически активных веществ. В этой связи следует отметить, что в соответствии с техническим регламентом Таможенного союза ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки» (Приложение 5) и ГОСТ Р 55577— 2013 «Продукты пищевые функциональные информация об отличительных признаках и эффективности» содержание витаминов, минеральных веществ или биологически активных веществ в 100 см³ или 100 г, или разовой порции пищевого продукта должно составлять не менее 15 % от уровня рекомендуемой нормы потребления. Источником пище-

вых волокон пищевой продукт является только при условии, если продукт содержит 3 г волокон на 100 г или, как минимум, 1,5 г волокон на 100 ккал; для продукта с высоким содержанием пищевых волокон эти показатели в 2 раза выше. Исходя из этих критериев, ягоды чёрной смородины действительно являются источником пищевых волокон, витамина С и антоцианов. Условием для заявления о пользе для здоровья, а именно о том, что продукт способствует защите клеток от окислительного стресса, является содержание витамина С ≥ 12 мг в 100 г продукта или ≥ 6 мг в 100 мл [49]. Другими словами, и ягоды, и сок соответствуют этим требованиям.

Оценку возможности обогащения пищевых продуктов путем добавления ингредиентов из чёрной смородины необходимо проводить исходя из величин рекомендуемой нормы потребления для пищевых волокон и адекватного уровня потребления для фенольных соединений. Добавление к продукту ягод чёрной смородины в количестве от 5 до 20 % приводит к тому, что на практике можно достичь обогащения конечного продукта в основном антоцианами, а также снизить калорийность.

Основными свойствами выжимок ягод чёрной смородины являются высокое содержание пищевых волокон и соединений, обладающих антиоксидантными свойствами. По своей сути выжимки ягод чёрной смородины представляют собой концентрат пищевых волокон, содержащий значительное количество природных антиоксидантов (фенольные соединения), связанных с углеводной матрицей. В отношении организма человека выжимки ягод сочетают в себе свойства двух типов веществ – пищевых волокон и антиоксидантов. Однако понятие «антиоксидант» различаются в пищевой промышленности и биомедицине, а антиоксидантные индексы, полученные с помощью химических анализов, не всегда можно экстраполировать на результаты исследования *in vivo* [50]. Выжимки ягод в подходящих формах (порошки, экстракты), обладающие антиоксидантными свойствами, предотвращающими окислительную порчу, могут использоваться в продуктах животного происхождения для повышения микробиологической безопасности этих продуктов и увеличения сроков годности.

Результаты исследований позволяют заключить, что ягоды чёрной смородины являются ценным источником пищевых волокон, витамина С и антоцианов,

а вторичные продукты их переработки представляют собой концентрат пищевых волокон, содержащий значительное количество природных антиоксидантов. Однако остаются недостаточно изученными вопросы использования этого вида сырья при конструировании пищевых продуктов функционального и специализированного назначения, поскольку добавление небольших количеств ягодного сырья, потенциально являющегося источником ценных биологически активных веществ, в таком случае послужит расширению ассортимента пищевых продуктов, но не позволит достигнуть цели обогащения дефицитными в рационе биологически активными веществами, и снизить общую калорийность. Анализ научных публикаций о химическом составе и применяемых технологиях использования ягод чёрной смородины и побочных продуктов из них в производстве пищевой продукции подтверждает целесообразность комплексной переработки черносмородинового сырья для производства широкого спектра пищевой продукции.

Критерии авторства

В. М. Коденцова, Д. В. Рисник, Е. М. Серба, И. М. Абрамова, Л. В. Римарева – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация литературных данных, написание статьи и её редактирование, включающее существенные дополнения в содержании, подготовка статьи к публикации.

Е. Н. Соколова, Е. Р. Крючкова – сбор и анализ литературных данных, обработка таблиц.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.M. Kodentsova, D.V. Risnik, E.M. Serba, I.M. Abramova, and L.V. Rimareva developed the research concept and design, analyzed and interpreted the data, drafted the manuscript and proofread it for publication.

E.N. Sokolova and E.R. Kryuchkova collected, analyzed, and visualized the data as tables.

Conflict of interest

The author declares that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Prichko TG, Droficheva NV. Use of perspective varieties of black currant in the formation of products of medicinal and preventive purpose. *Innovations and Food Safety*. 2019;(4):109–116. (In Russ.) <https://doi.org/10.31677/2311-0651-2019-26-4-109-116>
2. Prichko TG, Droficheva NV, Smelyk TL. Chemical quality parameters of berries of black currant cultivars. *Scientific Works North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making*. 2019;25:123–127. (In Russ.) <https://doi.org/10.30679/2587-9847-2019-25-123-127>; <https://elibrary.ru/JFOCYA>

3. Cho J, Kim H-J, Kwon J-S, Kim H-J, Jang A. Effect of Marination with Black Currant Juice on the Formation of Biogenic Amines in Pork Belly during Refrigerated Storage. *Food Science of Animal Resources*. 2021;41(5):763–778. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2021.e34>
4. Reißner A-M, Rohm H, Struck S. Sustainability on Bread: How Fiber-Rich Currant Pomace Affects Rheological and Sensory Properties of Sweet Fat-Based Spreads. *Foods*. 2023;12(6):1315. <https://doi.org/10.3390/foods12061315>
5. Djordjević B, Djurović D, Zec G, Zagorac DD, Natić M, Meland M, et al. Does Shoot Age Influence Biological and Chemical Properties in Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Cultivars? *Plants*. 2022;11(7):866. <https://doi.org/10.3390/plants11070866>
6. Marsol-Vall A, Kortensniemi M, Karhu ST, Kallio H, Yang B. Profiles of Volatile Compounds in Blackcurrant (*Ribes nigrum*) Cultivars with a Special Focus on the Influence of Growth Latitude and Weather Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018;66(28):7485–7495. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02070>
7. 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>; <https://elibrary.ru/UOAQLM>
8. Shelenga TV, Popov VS, Konarev AV, Tikhonova NG, Tikhonova OA, Kerv YuA, et al. Metabolomic profiles of *Ribes nigrum* L. and *Lonicera caerulea* L. from the collection of the N.I. Vavilov Institute in the setting of Northwest Russia. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(7):630–636. (In Russ.). <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-77>
9. Timusheva OK, Sorokopudov VN. Comparative evaluation of black currant varieties in the conditions of the middle subzone of the taiga of the Komi Republic. *Vegetable Crops of Russia*. 2023;(3):73–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2023-3-73-78>
10. Tian Y, Laaksonen O, Haikonen H, Vanag A, Ejaz H, Linderborg K, et al. Compositional Diversity among Blackcurrant (*Ribes nigrum*) Cultivars Originating from European Countries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(19):5621–5633. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00033>
11. Ejaz A, Waliat S, Afzaal M, Saeed F, Ahmad A, Din A, et al. Biological activities, therapeutic potential, and pharmacological aspects of blackcurrants (*Ribes nigrum* L.): A comprehensive review. *Food Science and Nutrition*. 2023;11(10):5799–5817. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3592>
12. Alba K, Macnaughtan W, Laws AP, Foster TJ, Campbell GM, Kontogiorgos V. Fractionation and characterisation of dietary fibre from blackcurrant pomace. *Food Hydrocolloids*. 2018;81:398–408. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.023>
13. Skurikhin IM, Tutelyan VA. Chemical composition of Russian food products. Moscow: DeLi Print; 2002. 236 p. (In Russ.). [Скүрихин И. М., Тутельян В. А. Химический состав российских пищевых продуктов. Москва: ДеЛи принт, 2002. 236 с.]
14. Kowalski R, Gustafson E, Carroll M, de Gonzalez ME. Enhancement of Biological Properties of Blackcurrants by Lactic Acid Fermentation and Incorporation into Yogurt: A Review. *Antioxidants*. 2020;9(12):1194. <https://doi.org/10.3390/antiox9121194>
15. Bakin IA, Mustafina AS, Vechtomova EA, Kolbina AYU. The use of secondary resources of fruit raw material in technology of confectionery and bakery products. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2017;45(2):5–12. (In Russ.). [Бакин И. А., Мустафина А. С., Вечтомова Е. А., Колбина А. Ю. Использование вторичных ресурсов ягодного сырья в технологии кондитерских и хлебобулочных изделий // Техника и технология пищевых производств. 2017. Т. 45, № 2. С. 5–12.] <https://elibrary.ru/ZCOQCZ>
16. Apak R. Current Issues in Antioxidant Measurement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(33):9187–9202. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03657>
17. Trych U, Buniowska M, Skąpska S, Kapusta I, Marszałek K. Bioaccessibility of Antioxidants in Blackcurrant Juice after Treatment Using Supercritical Carbon Dioxide. *Molecules*. 2022;27(3):1036. <https://doi.org/10.3390/molecules27031036>
18. Kosheleva OV, Kodentsova VM. Vitamin c in fruits and vegetables. *Problems of Nutrition*. 2013;83(3):45–52. (In Russ.). [Коселева О. В., Коденцова В. М. Содержание витамина С в плодовоовощной продукции // Вопросы питания. 2013. Т. 83, № 3. С. 45–52.] <https://elibrary.ru/QLIFDV>
19. Myasishcheva NV, Makarkina MA, Knyazev SD. The use of fresh and frozen black currant berries in the technology of jelly products. *Food industry*. 2017;(3):18–21. (In Russ.). [Мясищева Н. В., Макаркина М. А., Князев С. Д. Использование свежих и замороженных ягод черной смородины в технологии жележных продуктов // Пищевая промышленность. 2017. № 3. С. 18–21.] <https://elibrary.ru/YNDGAN>
20. Bakin IA, Mustafina AS, Lunin PN. The study of the black currant berry chemical composition in the processing. *Bulletin of KSAU*. 2015;6:159–162. (In Russ.). [Бакин И. А., Мустафина А. С., Лунин П. Н. Изучение химического состава ягод черной смородины в процессе переработки // Вестник КрасГАУ. 2015. № 6. С. 159–162.] <https://elibrary.ru/UDTMFZ>
21. Archaina D, Sosa N, Rivero R, Schebor C. Freeze-dried candies from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) and yoghurt. Physicochemical and sensorial characterization. *LWT*. 2019;100:444–449. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.049>
22. Cosmulescu S, Trandafir I, Nour V. Mineral composition of fruit in black and red currant. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*. 2015;6(1):43–51.

23. Cortez RE, de Gonzalez ME. Blackcurrants (*Ribes nigrum*): A review on chemistry, processing, and health benefits. *Journal of Food Science*. 2019;84(9):2387–2401. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14781>
24. Maksimenko MG. Change of the chemical composition of blackcurrant at different ways of caning. *Food industry: science and technology*. 2017;(3):27–31. (In Russ.). [Максименко М. Г. Изменение химического состава смородины чёрной при разных способах консервирования // Пищевая промышленность: наука и технологии. 2017. № 3. С.27–31.]. <https://elibrary.ru/YQANBE>
25. Makarova NV, Ignatova DF, Vasilyeva EA, Solina YuI, Eliseeva EA. Development of a technology for the production of snacks based on blackcurrant berries (*Ribes nigrum*). *Proceedings Of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2019;81(3):158–167. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-3-158-167>; <https://elibrary.ru/JYKSUH>
26. Yucel EE, Kaya C. Effect of jam and marmalade processing and storage on the phytochemical properties of currant cultivars (*Ribes spp.*) *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15820>
27. Svechnikova EM, Usubalieva AM, Kozhobekova KK. Content of vitamin C in blackcurrant jam growing in the Issyk-kul region. *Science, New Technologies and Innovations in Kyrgyzstan*. 2018;(2):39–40. (In Russ.). [Свечникова Е. М., Усубалиева А. М., Кожобекова К. К. Содержание витамина С в джеме из черной смородины, выращенной в Иссык-кульской области // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. 2018. № 2. С. 39–40.]. <https://elibrary.ru/XSHLNR>
28. Zakharov VL, Zubkova TV. Berry additives effect on the cottage cheese quality and preservation. *Bulletin of KSAU*. 2022;(5):200–205. (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-5-200-205>; <https://elibrary.ru/CXOE EW>
29. Tretyakova EN, Nечeporuk AG. Functional prefabricated cottage cheese with fiber and berries of black currant and cranberry. *Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex-Healthy Food Products*. 2016;(3):62–67. (In Russ.). [Третьякова Е. Н., Нечепорук А. Г. Функциональный полуфабрикат из творога с пищевыми волокнами и ягодами черной смородины и клюквы // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. 2016. № 3. С. 62–67.]. <https://elibrary.ru/WNGAFN>
30. Rogachikova NM, Serpunina LT. Study of efficiency of use of berry powders in the technology of the soft cheese without ripening. *Cheese- And Buttermaking*. 2020;(3):30–32. (In Russ.). <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-3-30-32>; <https://elibrary.ru/XOXDYX>
31. Chernyshenko YuN, Yarmukhamedova EI, Krupina OV, Mironova IV. Development of functional fermented milk products with berry fillings. *Russian Electronic Scientific Journal*. 2022;(4):55–65. (In Russ.). <https://doi.org/10.31563/2308-9644-2022-46-4-55-65>; <https://elibrary.ru/RJHXVL>
32. Schmidt C, Geweke I, Struck S, Zahn S, Rohm H. Blackcurrant pomace from juice processing as partial flour substitute in savoury crackers: Dough characteristics and product properties. *International Journal of Food Science and Technology*. 2018;53(1):237–245. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13639>
33. Mäkilä L, Laaksonen O, Diaz JMR, Vahvaselkä M, Myllymäki O, Lehtomäki I, *et al.* Exploiting blackcurrant juice press residue in extruded snacks. *LWT- Food Science and Technology*. 2014;57(2):618–627. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.005>
34. Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Spirichev VB, Shatnyuk LN. Substantiation of vitamins and minerals level in fortified foodstuffs. *Problems Of Nutrition*. 2010;79(1):23–33. (In Russ.). [Коденцова В. М., Вржесинская О. А., Спиричев В. Б., Шатнюк Л. Н. Обоснование уровня обогащения пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами // Вопросы питания. 2010. Т. 79, № 1. С. 23–33.]. <https://elibrary.ru/NDLOZX>
35. Zeng Y, Zhou W, Yu J, Zhao L, Wang K, Hu Z, *et al.* By-Products of Fruit and Vegetables: Antioxidant Properties of Extractable and Non-Extractable Phenolic Compounds. *Antioxidants*. 2023;12(2):418. <https://doi.org/10.3390/antiox12020418>
36. Oganesyants LA, Peschanskaya VA, Dubinina EV, Trofimchenko VA. Yeast selection for fruit pulp fermentation for further distillation. *Beer and Beverages*. 2017;(6):26–30. (In Russ.). [Оганесянц Л. А., Песчанская В. А., Дубинина Е. В., Трофимченко В. А. Подбор рас дрожжей для сбраживания фруктовой мезги, предназначенной для дистилляции // Пиво и напитки. 2017. № 6. С. 26–30.]. <https://elibrary.ru/YMJWHX>
37. Kelanne NM, Siegmund B, Metz T, Yang B, Laaksonen O. Comparison of volatile compounds and sensory profiles of alcoholic black currant (*Ribes nigrum*) beverages produced with *Saccharomyces*, *Torulaspora*, and *Metschnikowia* yeasts. *Food Chemistry*. 2022;370:131049. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131049>
38. Nanashima N, Horie K, Kitajima M, Takamagi S, Mikami K, In N, *et al.* Hypocholesterolemic Effect of Blackcurrant (*Ribes nigrum*) Extract in Healthy Female Subjects: A Pilot Study. *Molecules*. 2021;26(13):4085. <https://doi.org/10.3390/molecules26134085>
39. Kelanne N, Yang B, Liljenbäck L, Laaksonen O. Phenolic Compound Profiles in Alcoholic Black Currant Beverages Produced by Fermentation with *Saccharomyces* and Non-*Saccharomyces* Yeasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(37):10128–10141. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03354>
40. Sommer S, Hoffmann JL, Fraatz MA, Zorn H. Upcycling of black currant pomace for the production of a fermented beverage with *Wolfiporia cocos*. *Journal of Food Science and Technology*. 2023;60(4):1313–1322. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05677-4>

41. Chitarrini G, Debiassi L, Stuffer M, Ueberegger E, Zehetner E, Jaeger H, et al. Volatile Profile of Mead Fermenting Blossom Honey and Honeydew Honey with or without *Ribes nigrum*. *Molecules*. 2020;25(8):1818. <https://doi.org/10.3390/molecules25081818>
42. Rimareva LV, Serba EM, Sokolova EN, Ignatova NI, Fursova NA. On the question of the expediency of using black currant berries to obtain original grain-fruit distillates. *Food Industry*. 2023;(5):61–63. (In Russ.). <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.5.5.017>; <https://elibrary.ru/YQKFEI>
43. Kalinina AG, Abramova IM, Golovacheva NE, Morozova SS, Galliamova LP. Investigation of the effect of black-currant alcohol-based mors in the composition of an alcoholic beverage on the degree of intoxication of laboratory animals with ethyl alcohol. *Food Industry*. 2021;(9):29–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.9.9.009>; <https://elibrary.ru/exjadz>
44. Roasto M, Mäesaar M, Püssa T, Anton D, Rätsep R, Elias T, et al. The Effect of Fruit and Berry Pomaces on the Growth Dynamics of Microorganisms and Sensory Properties of Marinated Rainbow Trout. *Microorganisms*. 2023;11(12):2960. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122960>
45. Hutchison AT, Flieller EB, Dillon KJ, Leverett BD. Black currant nectar reduces muscle damage and inflammation following a bout of high-intensity eccentric contractions. *Journal of Dietary Supplements*. 2016;13(1):1–15. <https://doi.org/10.3109/19390211.2014.952864>
46. Nosal BM, Sakaki JR, Macdonald Z, Mahoney K, Kim K, Madore M, et al. Blackcurrants Reduce the Risk of Postmenopausal Osteoporosis: A Pilot Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrients*. 2022;14(23):4971. <https://doi.org/10.3390/nu14234971>
47. Konić-Ristić A, Šavikin K, Zdunić G, Besu I, Menković N, Glibetić M, et al. Acute effects of black currant consumption on salivary flow rate and secretion rate of salivary immunoglobulin a in healthy smokers. *Journal of Medicinal Food*. 2015;18(4):483–488. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0149>
48. Khan F, Ray S, Craigie AM, Kennedy G, Hill A, Barton KL, et al. Lowering of oxidative stress improves endothelial function in healthy subjects with habitually low intake of fruit and vegetables: A randomized controlled trial of anti-oxidant-and polyphenol-rich blackcurrant juice. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014;72:232–237. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.04.006>
49. Ciudad-Mulero M, Domínguez L, Morales P, Fernández-Ruiz V, Cámara M. A Review of Foods of Plant Origin as Sources of Vitamins with Proven Activity in Oxidative Stress Prevention according to EFSA Scientific Evidence. *Molecules*. 2023;28(21):7269. <https://doi.org/10.3390/molecules28217269>
50. Pérez-Lamela C, Franco I, Falqué E. Impact of High-Pressure Processing on Antioxidant Activity during Storage of Fruits and Fruit Products: A Review. *Molecules*. 2021;26(17):5265. <https://doi.org/10.3390/molecules26175265>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2532>
<https://elibrary.ru/KMRQHK>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Подбор параметров экстракции биоактивных веществ из лекарственных растений с применением молочной сыворотки



Н. С. Величкович*^{ORCID}, А. А. Степанова^{ORCID}, О. В. Козлова^{ORCID},
В. А. Люц^{ORCID}, Т. А. Ларичев^{ORCID}

Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 01.06.2024
Принята после рецензирования: 23.08.2024
Принята к публикации: 03.09.2024

*Н. С. Величкович: velichkovich@yandex.ru,
<http://orcid.org/0000-0002-9061-1256>
А. А. Степанова: <https://orcid.org/0000-0001-7774-8859>
О. В. Козлова: <https://orcid.org/0000-0002-2960-0216>
В. А. Люц: <https://orcid.org/0009-0002-5706-7727>
Т. А. Ларичев: <https://orcid.org/0000-0003-0166-2527>

© Н. С. Величкович, А. А. Степанова, О. В. Козлова, В. А. Люц,
Т. А. Ларичев, 2024



Аннотация.

Молочная сыворотка обладает уникальным нутриентным составом и способна оказывать положительное влияние на организм человека. Однако по причине высокого содержания органических веществ, молочная сыворотка может наносить вред окружающей среде. Перспективным вариантом использования молочной сыворотки может стать её применение в качестве экстрагента для получения растительных экстрактов и извлечения из них биологически активных веществ для пищевой промышленности. На этом основании целью настоящей работы являлся подбор параметров извлечения биологически активных веществ (флавоноидов) из экстрактов растительного сырья с помощью нетрадиционного вида экстрагента, в качестве которого используется молочная сыворотка.

Объектами исследования выступали молочная сыворотка (в качестве экстрагента) и растительное сырьё (в виде смесей лекарственных трав). Конечные продукты (экстракты) проверяли на содержание флавоноидных соединений методом тонкослойной хроматографии. Антиоксидантную активность оценивали с применением спектрофотометрического метода. Для повышения эффективности экстракции подбирали параметры экстрагирования (температуру, продолжительность экстракции, соотношение сырья к экстрагенту, состав растительных смесей).

Продолжительность экстрагирования выступала в качестве изменяемого параметра и составляла от 1 до 5 часов при температуре экстракции 90 ± 1 °С. Предложенные образцы, содержащие от 7,5 до 12,5 г смесей трав в 450 мл молочной сыворотке при времени экстрагирования 3 ч обладали максимальной антиоксидантной активностью. Содержание флавоноидов в растительных экстрактах было сопоставимым и не зависело от продолжительности экстракции.

Продолжительность экстракции имеет определяющее значение в интенсификации процесса получения флавоноидов из растительного сырья, поэтому выбор должен осуществляться по наименьшему значению продолжительности при сопоставимых значениях флавоноидов и максимальном уровне антиоксидантной активности.

Ключевые слова. Молочная сыворотка, экстракция, растительное сырьё, флавоноиды, антиоксидантная активность, тонкослойная хроматография

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда^{ROR}, грант № 23-16-00113.

Для цитирования: Подбор параметров экстракции биоактивных веществ из лекарственных растений с применением молочной сыворотки / Н. С. Величкович [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 633–644. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2532>

Extraction of Bioactive Substances from Medicinal Plants with Whey: Selecting Optimal Parameters



Natalia S. Velichkovich*^{ORCID}, Ann A. Stepanova^{ORCID},
Oksana V. Kozlova^{ORCID}, Veronika A. Lutz^{ORCID}, Timothy A. Larichev^{ORCID}

Kemerovo State University^{ORCID}, Kemerovo, Russia

Received: 01.06.2024
Revised: 23.08.2024
Accepted: 03.09.2024

Natalia S. Velichkovich: velichkovich@yandex.ru,
<http://orcid.org/0000-0002-9061-1256>
Ann A. Stepanova: <https://orcid.org/0000-0001-7774-8859>
Oksana V. Kozlova: <https://orcid.org/0000-0002-2960-0216>
Veronika A. Lutz: <https://orcid.org/0009-0002-5706-7727>
Timothy A. Larichev: <https://orcid.org/0000-0003-0166-2527>

© N.S. Velichkovich, A.A. Stepanova, O.V. Kozlova, V.A. Lutz,
T.A. Larichev, 2024



Abstract.

Due to its natural chemical composition, whey can have both a positive effect on the human body and cause significant harm to the environment. It is rich in organic substances, which creates an additional organic burden on nature. However, whey has good prospects for the food industry as an extractant for the production of plant extracts and biologically active substances. The present research objective was to select optimal parameters for obtaining flavonoids from plant extracts using an unconventional type of extractant, i.e., whey.

The study featured whey as an extractant and mixes of medicinal herbs. The resulting extracts were tested for the content of flavonoid compounds by thin-layer chromatography. The antioxidant activity was assessed using the spectrophotometric method. The extraction variables included temperature, extraction time, material-to-extractant ratio, and composition of herbal mixes. The extraction time ranged from 1 to 5 h at $90 \pm 1^\circ\text{C}$. The maximal antioxidant activity belonged to the samples containing 7.5–12.5 g herbal mix and 450 ml whey. The optimal extraction time was 3 h. The content of flavonoids in the plant extracts was comparable and did not depend on the extraction time.

Extraction time proved to be the key parameter to intensify the process of flavonoid extraction from plant raw materials. Therefore, the choice was made according to the shortest time with comparable values of flavonoids and the maximal level of antioxidant activity.

Keywords. Whey, extraction, vegetable raw materials, flavonoids, antioxidant activity, thin-layer chromatography

Funding. This research was supported by the Russian Science Foundation^{ORCID}, grant no. 23-16-00113.

For citation: Velichkovich NS, Stepanova AA, Kozlova OV, Lutz VA, Larichev TA. Extraction of Bioactive Substances from Medicinal Plants with Whey: Selecting Optimal Parameters. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):633–644. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2532>

Введение

Промышленная переработка молока классическими способами приводит к получению такого побочного продукта, как молочная сыворотка, которая в 7–8 раз превышает выработку основного продукта. Нерациональный слив её приводит к значительным экологическим проблемам из-за высокого содержания в ней органических веществ. Лактоза, жир и белки составляют основную часть органической нагрузки. В отсутствие устойчивых методов переработки, сыворотка считается серьезным загрязнителем окружающей среды в молочной промышленности. Поскольку большая ее часть выбрасывается в сточные воды, это вызывает серьез-

ную угрозу для экономики предприятия и окружающей среды. При организации комплексной переработки и рационального использования ресурсов молочной сыворотки появляется возможность повысить показатели по экономической эффективности производства, расширения ассортимента производства биологически полноценных пищевых продуктов, а также продуктов функциональной направленности [1].

В зависимости от первичной переработки молока выделяют нативную, кислую, сладкую и соленую сыворотку.

Нативная молочная сыворотка, полученная в результате молочнокислого брожения, содержит около 50 %

составляющих молока, таких как лактоза (~70 %, в зависимости от кислотности сыворотки), белок (~14 %), минералы и липиды. Основные различия заключаются в содержании кальция, фосфатов и молочной кислоты [2].

Кислая молочная сыворотка получается в основном в результате биологического свертывания молока при производстве творога, и частично при производстве разных видов йогуртов, в том числе греческого йогурта и плавленого сыра. Например, при производстве греческого йогурта третья часть молока перерабатывается в кислую сыворотку, которая имеет меньшее содержание белка, лактозы и более низкую активную кислотность, но более высокое содержание кальция, фосфора и молочной кислоты по сравнению со сладкой [3].

Сладкая молочная сыворотка получается вследствие обработки молока сычужными ферментами для производства различных видов сыров, в большинстве случаев по определенным технологиям, которые строго защищены патентами. Сладкая молочная сыворотка, кроме сывороточных белков, содержит гликомакропептиды, образующиеся в результате ферментативного гидролиза κ -казеина.

Соленая молочная сыворотка получается при производстве сыров Cheddar, Colby и других твердых сыров. Содержание соли в соленой молочной сыворотке варьирует от 4,1 до 10 %, pH соленой молочной сыворотки – около 5,2. Состав соленой молочной сыворотки: соль – 8,71 %, липиды – 1,69 % и вода – 82,2 %. В соленой сыворотке содержится около 1 % белка, но его содержание в этом виде молочной сыворотки мало изучено [4]. Из-за высокого содержания соли, переработка соленой молочной сыворотки требует высоких затрат. Количество соленой молочной сыворотки, получаемой ежедневно, составляет от 2 до 5 % от общих её объемов [5, 6].

Согласно стратегии развития пищевой и перерабатывающей промышленности РФ и статистическим данным, на переработку отправляется около 44 % от производимой молочной сыворотки. В связи с этим, приоритет развития отдается предприятиям полного цикла переработки. Традиционные и инновационные способы переработки молочной сыворотки направлены на разработку специализированных продуктов (сывороточные порошки, сывороточные белки, функциональные продукты питания и напитки), пищевых пленок и покрытий, молочной кислоты и других биологически активных веществ, биопластика, биотоплива и прочее [1].

Большие объемы сыворотки могут быть переработаны в биоэтанол, а для малых количеств наиболее экономично производить ферментированные или не ферментированные напитки на основе сыворотки. Варианты переработки молочной сыворотки разнообразны. Развитие новых технологий привело к изучению альтернативных способов переработки сыворотки в ценные продукты с добавленной стоимостью.

Сывороточные порошки. Производство сухой сыворотки является одним из самых популярных спо-

собов использования сыворотки и обычно включает в себя несколько процессов [1]:

- осветление сыворотки;
- отделение сливок и пастеризация;
- концентрирование сухих веществ выпариванием (40–60 %);
- кристаллизация лактозы;
- распылительная сушка сыворотки.

Обладая уникальным нутриентным составом, сухая сыворотка применяется в самых разных спектрах пищевой промышленности. Наиболее широкое применение – в качестве добавки при производстве детских смесей, мясных продуктов, супов, соусов, топпингов, сливок, ореховой глазури, прессованных орехов, сырных соусов, картофельных чипсов, хлебобулочных изделий, пиццы, печенья, макарон, а также при производстве суфле и тортов. Сухую сыворотку можно использовать в качестве адсорбента и носителя жиров и масел. Продукты питания, приготовленные с добавлением сухой сыворотки, имеют улучшенные сенсорные и физические свойства (пенообразование и кислотоустойчивость) [7, 8].

Функциональные продукты и напитки. Большой интерес среди потребителей вызывают инновационные технологии переработки сыворотки, в результате которого выступают функциональные продукты питания и напитки. Богатый многокомпонентный состав сыворотки применяют в качестве функциональных ингредиентов в диетических, спортивных и медицинских продуктах. На сегодняшний день производители рассматривают способы изготовления напитков на основе нативной кисло-сладкой сыворотки или из порошкообразной, депротеинизированной и разжиженной сыворотки. Существует ряд трудностей, связанных с производством таких напитков – это подверженность микробной порче и чувствительность сывороточных белков к термообработке при температуре выше 60 °С. Большинство сывороточных белков выпадает в осадок после обычной термической обработки сыворотки (при 72 °С в течение 15–20 с). Поэтому многие исследования направлены на внедрение нетермических методов в производстве напитков – мембранное разделение, высокоинтенсивный ультразвук или использование сверхкритического диоксида углерода [9, 10].

Биогаз. Использование «зеленых технологий» в рамках получения экологически чистого топлива из возобновляемых источников усиливают позиции РФ на мировом рынке. Водород – это так называемая «чистая» энергия, которая не способствует возникновению парниковых газов и не вызывает кислотных дождей. Отходы или побочные продукты молочной промышленности, богатые лактозой, имеют огромный потенциал для производства биоводорода. Ферментативные бактерии, анаэробные бактерии и цианобактерии – три наиболее распространенных типа микроорганизмов, вырабатывающих водород и использующих лактозу в качестве источника углерода. Из-за высокой

органической и низкой буферной способности анаэробное сбраживание сыворотки приводит к быстрому выделению кислоты и низкому образованию биогаза. Поэтому для повышения продуктивности сыворотку следует смешивать с другими типами отходов или навозом [11, 12].

Лактоза. Лактоза является основным компонентом, входящим в состав сухих веществ сыворотки (70–72 % общего количества сухих веществ). С точки зрения здорового питания лактоза имеет множество преимуществ, поскольку действует как пищевая клетчатка, обладает пребиотическими свойствами. Она используется в качестве источника питательных веществ и субстрата кишечными бактериями для выработки молочной кислоты и жирных кислот с коротким углеродным циклом, тем самым создавая слабокислую реакцию в кишечнике и предотвращая рост и размножение вредных бактерий. Данный углевод оказывает меньшее влияние на уровень сахара в крови из-за низкого гликемического индекса (в два раза меньше, чем у глюкозы). Лактозу можно получить несколькими методами. Путем выделения из депротеинизированной сыворотки (например, пермеата сыворотки, полученного ультрафильтрацией): концентрирование сыворотки выпариванием, кристаллизация лактозы из концентрированной сыворотки и отделение полученных кристаллов центрифугой или декантером. В настоящее время разработаны прогрессивные технологии по выделению лактозы из сыворотки и ее дальнейшей переработки в продукты промышленного значения: органические кислоты (молочная и лимонная), кефироподобные ферментированные сывороточные напитки, белки одноклеточных организмов, пробиотические закваски, этанол, биогаз, биопластик и этиллактат [13].

Молочная кислота. Молочная кислота и ее производные уже давно применяются в пищевой, фармацевтической, текстильной, кожевенной и химической промышленности, прежде всего в качестве консервантов и подкислителей [14, 15]. Получение молочной кислоты в последнее время увеличивается за счет использования в производстве экологически чистых биоразлагаемых полимеров с целью заменить значительное применение пластика на основе нефти. Молочную кислоту можно производить из лактозы путем ферментации с использованием следующих групп микроорганизмов: *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* и *Candida*, а также нитчатых грибов *Rhizopus oryzae* [16]. Перед производством молочной кислоты сыворотку необходимо предварительно обработать мембранными методами, чтобы снизить содержание белка и повысить концентрацию лактозы и минеральных солей. Для повышения эффективности процесса ферментации к сыворотке необходимо добавлять дополнительные источники азота и других питательных веществ, таких как дрожжевой экстракт, пептон или кукурузный настой. Для получения конечного продукта – чистой

молочной кислоты, не содержащей примесей, – требуется последующая обработка, которая включает несколько процессов мембранного разделения (например, микро- и нанофильтрация, электродиализ с монополярными и биполярными мембранами или концентрирование) [17, 18].

Полимолекулярная кислота. Представляет собой биоразлагаемый биополиэфир, полученный путем конденсации мономеров молочной кислоты, и один из наиболее перспективных экологически чистых (зеленых) пластиков. Благодаря своей низкой токсичности полимолекулярная кислота имеет статус GRAS (обычно считается безопасным пластиком) и может использоваться в упаковке пищевых продуктов. Он биоразлагаем, поэтому его можно компостировать в земляных траншеях вместе с другими биоразлагаемыми материалами. При неправильной утилизации разлагаться будет долгие годы, как бензиновый пластик. Некоторые виды полимолекулярной кислоты могут продуцироваться штаммами дикого типа *Sporolactobacillus laevollacticus*, *Lactobacillus plantarum*, *Sporolactobacillus ilulins* и *Lactobacillus bulgaricus*. Полимолекулярная кислота является хорошей заменой полимерам на основе углеводов, но из-за высокой стоимости ферментации производство поли (d-молочной кислоты) не является конкурентоспособным. При использовании агропромышленных отходов, таких как сыворотка и сывороточный пермеат, становится возможным экономичное альтернативное производство поли (d-молочной кислоты) [15, 16].

Биопластик. Использование сырной сыворотки в качестве субстрата для производства биопластиков в последнее время набирает популярность, поскольку лактоза, присутствующая в пермеате сыворотки, может быть легко преобразована в полигидроксиалканоаты и полимолекулярную кислоту. Произведенные таким образом биопластики могут в дальнейшем использоваться в упаковке, расплываемых материалах, материалах для устройств, электронных продуктах, сельскохозяйственной продукции, продуктах автоматизации, химических средах и растворителях. В качестве микроорганизмов, перерабатывающих сыворотку в биополимеры, могут выступать *Lactobacillus*, *Haloferax mediterranei*, смешанный фотосинтетический консорциум бактерий и водорослей, смешанная микробная культура (в основном роды *Tauera* и *Lampropedia*) [19, 20].

Полигидроксиалканоаты. Представляют собой биополиэфиры, синтезируемые аэробными бактериями и накапливающиеся в виде внутриклеточных гранул в качестве запаса углерода и энергии, в условиях, ограничивающих рост микроорганизмов. За последние два десятилетия проведено заметное количество исследований по получению полигидроксиалканоаты из сывороточного пермеата с использованием чистых культур микроорганизмов дикого типа или рекомбинантных. Существует три возможных пути: прямое преобразование лактозы в полигидроксиалканоаты,

гидролитическое (химическое или ферментативное) преобразование глюкозы и галактозы в полигидроксиалканоаты и ферментация лактозы в молочную кислоту с последующим преобразованием молочной кислоты в полигидроксиалканоаты [21].

Биоэтанол. Зарекомендовал себя как потенциальное альтернативное и экологически чистое топливо будущего (зеленое топливо). Поскольку биоэтанол не производит никаких токсичных выбросов при сгорании, он эффективен в снижении загрязнения воздуха и замедлении глобального потепления. Сыворотка, как агропромышленный отход, является подходящим субстратом для производства биоэтанола с целью снижения органической нагрузки на окружающую среду. Большого выхода биоэтанола можно достичь путем концентрирования сыворотки ультрафильтрацией или обратным осмосом для повышения концентрации в ней лактозы. Штаммы дрожжей *Kluyveromyces marxianus* обладают способностью метаболизировать лактозу и могут использоваться для производства биоэтанола. Биоэтанол, полученный из сыворотки, может быть применен в пищевой, химической, фармацевтической и косметической промышленности, а также в качестве альтернативного топлива [22–24].

Белки одноклеточных организмов. Получают из культивируемой биомассы различных представителей: водорослей, актиномицетов, бактерий, дрожжей, плесеней, выращенных в крупномасштабных культуральных системах, для использования в качестве источника белка в продуктах питания человека или корма для животных. Цельная сыворотка или сывороточный пермеат являются субстратами для производства белков одноклеточных организмов. Используются микроорганизмы, которые напрямую способны расщеплять лактозу, или неспособные ее потреблять с предварительным гидролизом лактозы ферментативными или химическими способами. Виды *Kluyveromyces* наиболее широко изучали на предмет получения белков из сыворотки, а именно штаммы *K. marxianus* и *K. fragilis* [25].

Сывороточные белки. Представляют собой смесь глобулярных белков с относительно равномерным распределением неполярных, полярных и заряженных аминокислот, которые можно выделить из сыворотки. Сывороточный белок считается одним из наиболее ценных с питательной точки зрения компонентов сыворотки. Инженерно-технические методы разделения, очистки и сушки белков (мембранное разделение и хроматография, электродиализ, распылительная и сублимационная сушка) позволяют расширить применение сывороточных белков [26]. Помимо продуктов питания и напитков, сывороточные белки имеют и другие многочисленные применения в пищевой промышленности, поскольку им можно легко придать различные свойства (макро-, микро- и наноструктуры), подходящие для переноса биологически активных соединений [27]. Возможно использование сывороточных белков в качестве поверхностно-активных компонентов, модифика-

торов текстуры, пенообразователей и гелеобразователей, загустителей и эмульгаторов [28, 29].

Съедобные пленки и покрытия. Съедобные или биоразлагаемые пленки являются экологически чистой альтернативой традиционным пластикам и позволяют контролировать загрязнение окружающей среды [30]. Прежде всего их можно употреблять вместе с продуктом без предварительного удаления. Пленки сывороточного белка, изолирующие доступ кислорода, характеризуются как биоразлагаемые альтернативные материалы, заменяющие обычно используемые нейлоновые или полиэфирные пленки [31, 32]. Данные покрытия обладают улучшенными механическими и барьерными свойствами по сравнению с пленками на основе полисахаридов и могут обеспечивать стерильность поверхности. Такие пленки быстро биоразлагаются. Для разработки новых экологически эффективных упаковочных материалов с улучшенной устойчивостью к переносу влаги и повышенной гибкостью сывороточные белки необходимо смешивать с подходящими пластификаторами, такими как сорбит или глицерин [33, 34].

Гидрогели. Это полимерные трехмерные сети, которые могут ассимилировать большие объемы воды или биологических жидкостей благодаря наличию гидрофильных групп. Помимо формирования био пленок, сывороточные белки могут образовывать гидрогели. Для разработки новых пищевых продуктов важно понимать взаимодействие между сывороточными белками и биополимерами, такими как пектин, κ -каррагинан, ксантан и камедь семян базилика. Носителями биоактивных веществ гидрогелей являются частицы размером 10^{-9} – 10^{-3} , то во время потребления обеспечивается контролируемое высвобождение включенных веществ, что позволяет улучшить питательные и функциональные свойства продуктов питания [35].

Использование молочной сыворотки как экстрагента. Молочная сыворотка по своим биохимическим свойствам не уступает другим экстрагентам, которые часто используются для экстракции растительного сырья.

В патенте РФ № 2491947, в качестве растительного сырья использовалась ромашка обыкновенная (*Matricaria recutita* L.), предварительно смоченная деионизированной водой. Процесс экстракции проходил в прямоточном перколяторе с помощью водно-жировой смеси – натурального коровьего молока с массовой долей жира 6 % при 70 °С, продолжительность экстракции составила 6 ч. Экстракцию осуществляли при соотношении растительного сырья к экстрагенту 1:10. Анализ полученного экстракта проводили на жидкостном хроматографе. Содержание активных веществ составило 0,21 %. В экстракте широко представлена терпеноидная фракция (34,8 %), в составе которой циклические сесквитерпены β - и α -фарензены (10,03 %); β -кубенен, гермакрен, лепидозен (0,7 %); неофитоидиен, тетрагидроинон, мюристин, β -сесквифелландрен

(0,22 %); метоксикумарин (1,6 %); нафталиндиол и спатуленол (1,74 %) и дициклоэфир (18,58 %). Самым высоким, по сравнению с известными остальными экстрактами (спиртовые, водные, масляные), было содержание бисаболола (13,9 %) и хамазулена (0,3 %), причем последний был обнаружен еще только в водно-спиртовом экстракте в количестве 0,29 % [36].

В патенте РФ № 2792775 описан способ получения БАД на основе молочной сыворотки и растительного экстракта. В качестве растительного сырья выступают каллусная культура тимьяна обыкновенного и корневая культура женьшеня настоящего. Экстракцию тимьяна осуществляли при 70 °С и концентрации этилового спирта 70 %. Экстракцию женьшеня проводили при 50 °С и концентрации этилового спирта 30 %. В обоих случаях был взят гидромодуль 1:86 с продолжительностью экстракции 4 ч. Далее экстракт фильтровали, выпаривали экстрагент и сушили на распылительной сушилке. Сухой экстракт смешивали с сухой молочной сывороткой, таким образом, обеспечивая продукт антиоксидантным комплексом БАВ [37].

Каледина М. В. и др. в качестве объектов исследования рассматривали экстракты зеленого чая, чабреца и плодов шиповника. Экстрагентом служила подсырная несоленая и творожная сыворотки. Для проведения эксперимента были применены следующие параметры процесса экстрагирования: температура 40–60 °С, количество сырья от 1 до 10 % от массы экстрагента. Предварительно высушенное, измельченное растительное сырье смешивали с подсырной или творожной сывороткой и экстрагировали в интервале 40–60 °С, продолжительность процесса составила 0,5 ч. По результатам исследования были сделаны выводы: водорастворимые витамины более устойчивы в кислой среде, экстракция витамина С и рутина в творожную сыворотку выше, чем в подсырной, содержание витамина С в экстракте, полученном из смеси шиповник-зеленый чай, больше, чем из смеси зеленый чай-чабрец [38].

В работе автора Д. М. Халанской и др. представлены результаты процесса экстракции биологически активных веществ (БАВ) алоэ, боярышника и солодки с применением нетрадиционных экстрагентов (молочная сыворотка, пермеат обезжиренного молока). Выбраны следующие параметры экстрагирования: температура 40–60 °С, продолжительность экстрагирования – 30 мин., соотношение сырья и экстрагента в трех разных соотношениях: 1:2, 1:4, 1:6. Результаты исследования свидетельствуют о том, что наибольшее выделение БАВ наблюдается при соотношении компонентов 1:2 [39].

С. Иванова и др. затрагивают проблему создания функциональных напитков, содержащих экстракты отечественного растительного сырья и молочную сыворотку. Технологический процесс производства напитка включал в себя следующие стадии: подготовка сырья к переработке, приготовление экстрактов каротиноидов и БАВ родиолы розовой и левзеи сафлоровидной,

внесение функциональных ингредиентов в молочную сыворотку согласно рецептуре и физиологическим потребностям организма человека, охлаждение, фасовка, хранение. Выбор молочной сыворотки в качестве одного из компонентов напитка обусловлен наличием в составе ценных аминокислот, витаминов, в том числе достаточно редких форм витаминов В7 и В4, минеральных элементов [40].

Работа А. Лодыгина и др. отражает результаты применения молочной сыворотки в качестве экстрагента для извлечения БАВ из растительного сырья: плоды расторопши, листья мяты перечной, листья шалфея, трава эхинацеи пурпурной. Параметры процесса экстракции БАВ: температура – 55–60 °С, продолжительность – 2 ч; скорость вращения термошейкера – 70 об/мин. Оптимальное соотношение сыворотки к растительному сырью: расторопши и мяты – 1:8; шалфея и эхинацеи пурпурной – 1:10. Шалфей и эхинацея пурпурная рекомендованы для дальнейшего изучения с учетом более высоких выходов суммы сухих веществ в их экстрактах по сравнению с экстрактами расторопши пятнистой и мяты перечной. Предварительно высушенное и измельченное растительное сырье смешивали с экстрагентами согласно параметрам. Выдерживали в термошейкере при заданных условиях процесса и по окончании экстракции фильтровали. Согласно результатам исследования, антиоксидантная активность сывороточных экстрактов выше по сравнению с водными экстрактами БАВ исследуемого растительного сырья. Наибольшие значения выхода фенольных соединений достигаются при соотношении сырья и экстрагента 1:8. Концентрация суммы фенольных соединений в экстрактах шалфея значительно больше, чем в эхинацее пурпурной. Существенной разницы в количестве общих фенольных соединений в водных и сывороточных экстрактах нет [41].

Таким образом, после проведения литературного обзора, пришли к выводу, что применение сыворотки в качестве экстрагента не распространено, данный факт позволяет дополнительно изучать и исследовать нетрадиционные виды экстрагентов, используя их для получения БАВ из растительного сырья.

Целью настоящей работы является получение БАВ из растительного сырья с помощью нетрадиционного вида экстрагента, в качестве которого используется молочная сыворотка.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали лекарственные растения Сибирского региона: сирень обыкновенную (*Syringa vulgaris* L.), клевер луговой (*Trifolium pratense* L.), медуницу лекарственную (*Pulmonaria officinalis* L.), борщевик сибирский (*Heraclium sibiricum* L.), таволгу вязолистную (*Filipendula ulmaria* L.), тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.), лопух паутинистый (*Arctium tomentosum* Mill.), тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.),

люцерну посевную (*Medicago sativa* L.), копеечник забытый (*Hedysarum neglectum* Ledeb.); молочную сыворотку подсырную.

Перед процессом экстрагирования подготавливали молочную сыворотку к экстракции. Подсырную молочную сыворотку нагревали до 45 °С и центрифугировали для отделения жира, затем подвергали нагреву до 95 °С для коагуляции оставшегося сывороточного белка и дополнительной пастеризации. Продолжительность выдерживания молочной сыворотки при вышеуказанной температуре составила 15 мин. Затем нагретую сыворотку центрифугировали с целью разделения на фракции – жидкую (экстракт) и густую (белок). Далее получившийся раствор пропускали через ватно-марлевый фильтр для дополнительной очистки [41, 42]. Отбирали контрольную пробу молочной сыворотки.

Следующий этап включал получение экстрактов на основе сухого растительного сырья. Растительные объекты измельчали до состояния порошка. Были составлены смеси растительного сырья на основе собственных фитохимических исследований:

- смесь 1: сирень обыкновенная, клевер луговой, медуница лекарственная, борщевик сибирский, таволга вязолистная;
- смесь 2: сирень обыкновенная, медуница лекарственная, тысячелистник обыкновенный, лопух паутинистый, борщевик сибирский, тимьян обыкновенный;
- смесь 3: сирень обыкновенная, люцерна посевная, тысячелистник обыкновенный, копеечник забытый;
- смесь 4: копеечник забытый, женьшень настоящий, медуница лекарственная.

Экспериментальным путем подобрали параметры экстракции – температуру нагрева, продолжитель-

ность экстракции, а также соотношение сырья к экстрагенту. В качестве изменяемого параметра для определения наибольшего выхода флавоноидов выступала продолжительность экстракции, которая составляла 1; 2; 3; 4; 5 ч, 7,5–12,5 г растительного сырья вносили в 450 мл молочной сыворотки. Температура нагрева во время процесса экстракции – 90 ± 1 °С. Навески переносили в круглодонные колбы на 500 мл и добавляли молочную сыворотку. Экстрагирование проводили на водяной бане с помощью установки обратного холодильника в соответствии с рисунком 1.

По завершению процесса экстрагирования экстракты фильтровали через стерильный ватно-марлевый фильтр, затем дополнительно прогоняли через обеззоленный фильтр. Экстракты хранили в темном месте при температуре от +2 до +6 °С в конических колбах объемом 500 мл с резиновыми пробками для проведения дальнейших исследований.

Определение антиоксидантной активности. Исследование проводили по методу ТЕАС (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) с использованием раствора ABTS⁺. Метод основан на измерении изменения степени окраски долгоживущего катион-радикала голубого цвета при воздействии антиоксиданта. Водный раствор ABTS⁺ готовили, смешивая 7 мМ раствора ABTS⁺ с 2,45 мМ персульфатом аммония в соотношении 1:1 соответственно. Полученную смесь настаивали 16 ч при комнатной температуре 20 ± 1 °С. В контрольную кварцевую кювету наливали дистиллированную воду, обнуляли значения прибора. Затем во вторую кювету добавляли рабочий раствор ABTS⁺ и разбавляли водой до тех пор, пока оптическая плотность раствора не станет равной 0,7–0,8 при длине волны 734 нм.

В пробирки вносили 3 мл раствора ABTS⁺ и добавляли 0,4 мл растительного экстракта. После 8 мин. инкубации при 20 ± 1 °С переносили во вторую кварцевую кювету и измеряли оптическую плотность растворов.

Антиоксидантную активность выражали как степень восстановления радикала ABTS⁺ по формуле 1:

$$X = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

где X – степень восстановления радикала ABTS⁺, %; A₀ – оптическая плотность контрольной пробирки; A₁ – оптическая плотность образцов.

Результаты расчетов представили в виде среднего арифметического значения ± стандартного отклонения, которые занесены в таблицу 1. Эксперименты проводили с трехкратной повторностью. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в MS Excel.

Определение содержания флавоноидов в экстрактах на основе растительного сырья методом тонкослойной хроматографии. Для проведения анализа подготовили пластины для тонкослойной хроматографии, обозначали карандашом линию «старта», отступив

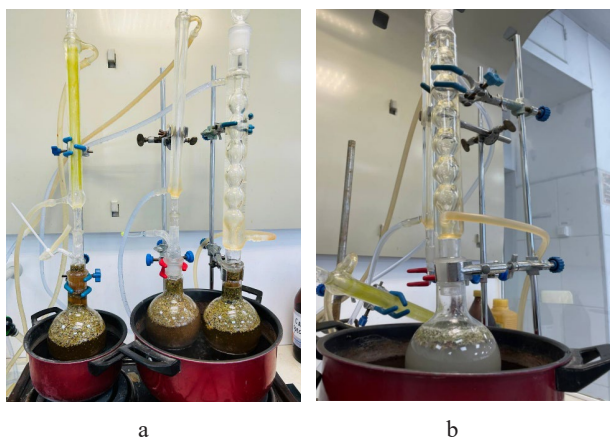


Рисунок 1. Экстрагирование растительного сырья молочной сывороткой: а – процесс экстракции на водяной бане с помощью установки обратного холодильника; б – конструкция установки – обратный холодильник

Figure 1. Extracting plant material with whey: a – extraction process: water bath with a reflux condenser; b – reflux condenser design

от нижнего края пластины 1 см. Затем примерно на одинаковом расстоянии друг от друга наметили карандашом три точки: 1 – место нанесения дозатором образца растительного экстракта, 2 – рутин, 3 – кверцетин [43, 44].

После нанесения необходимых реактивов, помещали пластины для тонкослойной хроматографии в большой химический стакан (объемом 1 л). Пластины размещали в вертикальном положении так, чтобы не допустить соприкосновения краями соседних пластин. В химический стакан наливали свежеприготовленный элюент (подвижная фаза) на высоту 1 см от дна – раствор *n*-бутанола с ледяной уксусной кислотой с добавлением дистиллированной воды (в соотношении 4:1:5). Линию «финиша» проводили карандашом после окончания процесса элюирования на расстоянии 5–10 мм от верхнего края пластины.

После проведения процесса элюирования необходимо было проявить результаты хроматографического разделения. Для этого обрабатывали пластину проявителем, в качестве которого использовали пары 5 %-ного раствора FeCl₃. После проведения анализа тонкослойной хроматографией проявляли пятна в ультрафиолетовом свете.

Определение величины относительной скорости перемещения флавоноидов осуществляли по формуле:

$$R = \frac{x}{L} \quad (2)$$

где *R* – величина относительной скорости перемещения веществ; *x* – расстояние, пройденное веществом, см; *L* – расстояние, пройденное элюентом, см.

Результаты и их обсуждение

В подготовленной молочной сыворотке определили титруемую кислотность – 47,2 ± 0,16 °Т. Антиоксидантная активность сыворотки обусловлена присутствием высоко- и низкомолекулярных антиоксидантов (белкового компонента, витаминов и минеральных веществ) и активной кислотности (рН 6–7) механизмы действия на растительную клетку предполагают высвобождение из неё биоактивных веществ [45].

Результаты спектрофотометрического определения антиоксидантной активности полученных экстрактов сведены в таблицу 1.

Исходя из данных таблицы 1, можно утверждать, что во всех образцах отмечался высокий уровень восстановления катион-радикала. Предложенные образцы экстрактов превосходят значение антиоксидантной активности по сравнению с контрольным образцом – молочной сывороткой. Более выраженной антиоксидантной активностью обладают смеси из трав под номерами 4 и 3, среднее значение которых 86,6 и 84,9 % соответственно. Однако максимальный результат определения антиоксидантной активности характерен для образцов с продолжительностью экстракции 3 ч в смесях из трав под номерами 2, 3, 4, значение которых

Таблица 1. Результаты определения общей антиоксидантной активности экстрактов на основе растительного сырья и молочной сыворотки

Table 1. Total antioxidant activity of extracts based on plant raw materials and whey

Наименование образца	Продолжительность экстракции, τ, ч	Среднее значение оптической плотности A ₁ (при A ₀ = 0,761)	Степень восстановления катион-радикала, %
Молочная сыворотка подсырная	Контроль	0,339 ± 0,003	55,40 ± 0,32
Смесь 1: сирень обыкновенная, клевер луговой, медуница лекарственная, борщевик сибирский, таволга вязолистная	1	0,275 ± 0,001	63,90 ± 0,13
	2	0,250 ± 0,003	67,20 ± 0,40
	3	0,128 ± 0,001	83,20 ± 0,14
	4	0,119 ± 0,001	84,20 ± 0,13
	5	0,131 ± 0,002	82,80 ± 0,27
Смесь 2: сирень обыкновенная, медуница лекарственная, тысячелистник обыкновенный, лопух, борщевик сибирский, тимьян обыкновенный	1	0,139 ± 0,003	81,70 ± 0,39
	2	0,227 ± 0,002	70,20 ± 0,27
	3	0,074 ± 0,001	90,30 ± 0,14
	4	0,114 ± 0,003	85,00 ± 0,40
	5	0,080 ± 0,001	88,40 ± 0,92
Смесь 3: сирень обыкновенная, люцерна посевная, тысячелистник обыкновенный, копеечник забытый	1	0,119 ± 0,002	84,40 ± 0,26
	2	0,117 ± 0,001	84,60 ± 0,13
	3	0,098 ± 0,001	87,10 ± 0,13
	4	0,120 ± 0,002	84,20 ± 0,26
	5	0,119 ± 0,001	84,40 ± 0,13
Смесь 4: копеечник забытый, женьшень настоящий, медуница лекарственная	1	0,121 ± 0,002	84,10 ± 0,25
	2	0,110 ± 0,001	85,50 ± 0,13
	3	0,072 ± 0,001	90,54 ± 0,14
	4	0,090 ± 0,001	88,17 ± 0,13
	5	0,118 ± 0,002	84,49 ± 0,26

90,3, 87,1, 90,5 % соответственно. В смеси 1 наивысший результат был достигнут при 4 ч экстрагирования и составил 84,4 %.

Смесь 4, имея наименьшее количество растительных компонентов, показала максимальное значение антиоксидантной активности, что может говорить о наиболее высокой совместимости всех растительных объектов между собой и экстрагентом.

На основании полученных хроматограмм определяли величины относительной скорости перемещения флавоноидов (R_f) по формуле 2. Результаты опреде-

ления флавоноидов (кверцетина и рутина) методом тонкослойной хроматографии в экстрактах на основе растительного сырья представлены в таблице 2.

Согласно результатам отмечено наличие кверцетина и рутина в исследуемых экстрактах. Используя данные из таблицы 2, рассчитали величины относительной скорости перемещения флавоноидов, изображенные на рисунке 2.

Ориентируясь на результаты исследования, у растительных объектов выявили максимальное наличие рутина в смеси 1 в условиях 5-часового процесса экстра-

Таблица 2. Результаты определения флавоноидов (кверцетина и рутина) в экстрактах на основе растительного сырья методом тонкослойной хроматографией

Table 2. Flavonoids (quercetin and rutin) in plant extracts, thin-layer chromatography

Наименование образца	Время экстракции, τ , ч	Высота экстракта (1), $\times 1$, см	Высота экстракта (1), $\times 2$, см	Высота рутина (3), $\times 3$, см	Высота кверцетина (4), $\times 4$, см	Высота от «линии старта» до «фронта элюента», L , см
Смесь 1: сирень обыкновенная, клевер луговой, медуница лекарственная, борщевик сибирский, таволга вязолистная	1	5,80	7,50	5,60	7,40	7,50
	2	5,00	6,80	4,90	6,40	6,90
	3	5,10	6,60	5,20	6,60	6,70
	4	4,90	6,40	5,00	6,80	6,90
	5	5,50	6,70	5,50	6,60	6,90
Смесь 2: сирень обыкновенная, медуница лекарственная, тысячелистник обыкновенный, лопух, борщевик сибирский, тимьян обыкновенный	1	5,00	5,80	4,70	5,90	6,10
	2	5,20	7,00	5,20	6,80	7,10
	3	5,00	6,80	5,10	7,00	7,10
	4	4,10	6,00	4,20	6,10	6,20
	5	4,80	5,80	4,50	5,90	6,15
Смесь 3: сирень обыкновенная, люцерна посевная, тысячелистник обыкновенный, копеечник забытый	1	4,70	6,40	4,80	6,50	6,80
	2	4,60	5,90	4,30	5,90	6,15
	3	5,45	6,90	5,50	6,60	6,90
	4	5,10	6,50	5,10	6,30	7,30
	5	5,40	6,80	5,40	6,70	6,90
Смесь 4: копеечник забытый, женьшень настоящий, медуница лекарственная	1	4,80	6,40	5,10	6,90	7,30
	2	4,95	6,40	4,95	6,35	6,50
	3	5,00	6,50	5,00	6,40	7,30
	4	5,40	6,40	5,30	6,60	6,70
	5	5,00	6,40	5,00	6,30	6,80

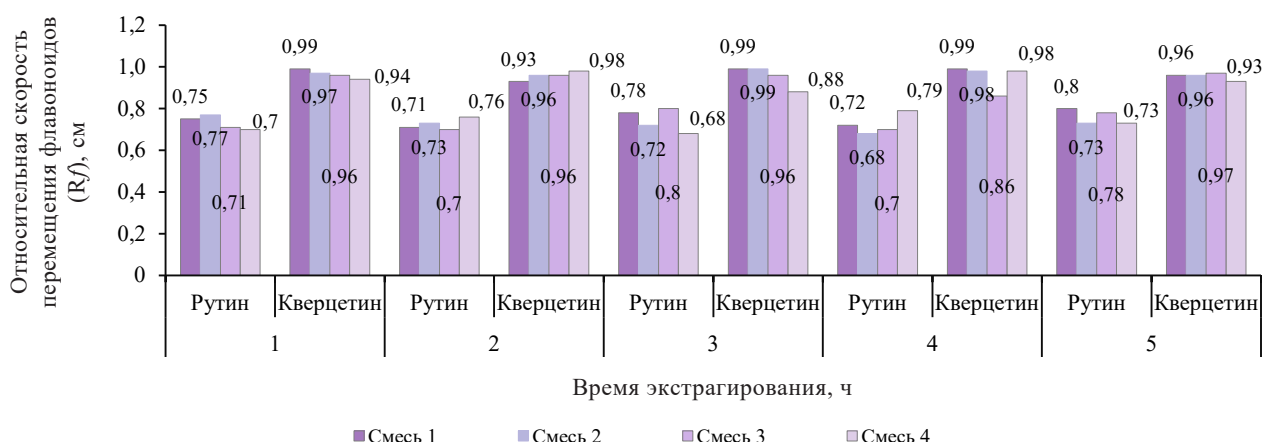


Рисунок 2. Результаты определения величины относительной скорости перемещения флавоноидов

Figure 2. Relative flow rate of flavonoids

гирования, значение которого составило $0,80 \pm 0,05$ см; в смеси 2 ($\tau = 1$ ч) – $0,77 \pm 0,05$ см; в смеси 3 ($\tau = 3$ ч) – $0,80 \pm 0,05$ см; в смеси 4 ($\tau = 4$ ч) – $0,79 \pm 0,05$ см. Максимальное наличие кверцетина в смеси 1 в условиях 1-, 3- и 4-часового процесса экстрагирования, составило $0,99 \pm 0,05$ см; в смеси 2 ($\tau = 3$ ч) – $0,99 \pm 0,05$ см; в смеси 3 ($\tau = 5$ ч) – $0,97 \pm 0,05$ см; в смеси 4 ($\tau = 2$ и 4 ч) – $0,98 \pm 0,05$ см.

Предложенный экстрагент позволяет получить образцы экстрактов из растительного сырья с высоким содержанием флавоноидов. Продолжительность экстракции имеет определяющее значение в интенсификации процесса получения флавоноидов из растительного сырья, поэтому выбор осуществляется по наименьшему значению продолжительности при сопоставимых значениях флавоноидов и максимального уровня антиоксидантной активности.

Выводы

В связи с высокой загрязняющей способностью молочной сыворотки повторное ее использование и переработка становится серьезной научной задачей, направленной на сокращение молочных отходов и достижение целей устойчивого развития [44, 46].

В данной работе сыворотка рассматривается, как возможный нетрадиционный вид экстрагента, с помощью которого получают экстракты из растительного сырья с высоким содержанием флавоноидов и высокой антиоксидантной активностью. Такой вариант позволяет решить проблему загрязнения окружающей среды вторичными отходами производства, повысить экономическую эффективность производства за счет получения новых ценных продуктов, в том числе получение экстрактов, которые в перспективе можно использовать в пищевой промышленности для создания функциональных продуктов питания.

Параметры экстракции заданы произвольно: смеси растительного сырья, температура экстракции – 90 ± 1 °C, соотношение сырья к экстрагенту – навески по 2,5 г каждого растения к 450 мл молочной сыворотки, а также изменяемый параметр процесса – продолжительность экстрагирования. Последний параметр позволил выявить зависимость уровня антиоксидантной активности от продолжительности экстракции. С постепенным увеличением времени экстрагирования возрастает антиоксидантная активность. Однако, показав максимальное значение при 3-часовом экстрагировании, показатель антиоксидантной активности постепенно снижался, что может свидетельствовать о разрушении или окисле-

нии флавоноидных соединений при высокой температуре 90 °C и продолжительной экстракции до 5 ч.

Рассматриваемая в работе смесь 4, имеющая в составе копеечник забытый, женьшень настоящий, медуницу лекарственную, при времени экстрагирования 3 ч, обладала самой высокой из исследуемых смесей антиоксидантной активностью 90,54 %, которую определяли спектрофотометрическим методом, и повысила степень восстановления катион-радикала молочной сыворотки более чем на 35 %.

По данным тонкослойной хроматографией, содержание рутина и кверцетина в растительных образцах было сопоставимо.

Таким образом, молочная сыворотка, используемая в качестве экстрагента имеет большой потенциал для отечественной науки как перспективное дешевое сырье для получения биоактивных веществ из растений Сибирского региона. Трехчасовые экстракты показали наибольшую степень восстановления катион-радикала. Провели качественные исследования на наличие флавоноидов в данных смесях. Выявили, что содержание рутина и кверцетина не зависит от времени экстрагирования. Данные соединения эффективно высвобождаются в натуральный органический экстрагент и стабильны в течение всего времени экстракции. На основании полученных результатов планируется изучить фитохимический состав смесей методами высокоэффективной жидкостной хроматографией, которые в перспективе будут применены для создания на их основе фитогенных кормовых добавок направленного действия.

Критерии авторства

Все авторы в равной степени несут ответственность за полученные результаты исследований и рукопись.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflicts of interests regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

References/Список литературы

1. Zandona E, Blažić M, Jambrak AR. Whey Utilisation: Sustainable Uses and Environmental Approach. Food Technology and Biotechnology. 2021;59(2):147–161. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.02.21.6968>
2. Nishanthi M, Chandrapala J, Vasiljevic T. Compositional and structural properties of whey proteins of sweet, acid and salty whey concentrates and their respective spray dried powders. International Dairy Journal. 2017;74:49–56. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.01.002>

3. Božanić R, Barukčić I, Lisak K, Jakopović, Tratnik L. Possibilities of Whey Utilisation. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*. 2014;2(7):1036.
4. Kapoor R, Metzger LE. Evaluation of Salt Whey as an Ingredient in Processed Cheese. *Journal of Dairy Science*. 2004;87(5):1143–1150. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73262-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73262-2)
5. El-Tanboly E-S, El-Hofi M, Youssef YB, El-Desoki W, Ismail A. Utilization of salt whey from Egyptian Ras (cephalotyre) cheese in microbial milk clotting enzymes production. *Acta scientiarum polonorum. Technologia alimentaria*. 2013;12(2):9–20. <https://doi.org/10.21608/jfds.2012.75391>
6. Lappa IK, Papadaki A, Kachrimanidou V, Terpou A, Koulougliotis D, Eriotou E, *et al.* Cheese Whey Processing: Integrated Biorefinery Concepts and Emerging Food Applications. *Foods*. 2019;8(8):347. <https://doi.org/10.3390/foods8080347>
7. Blažić M, Zavadlav S, Kralj E, Šarić G. Production of whey protein as nutritional valuable foods. *Croatian Journal of Food Science and Technology*. 2018;10(2):255–260. <https://doi.org/10.17508/CJFST.2018.10.2.09>
8. Papademas P, Kotsaki P. Technological Utilization of Whey towards Sustainable Exploitation. *Advances in Dairy Research*. 2019;7(4):231. <https://doi.org/10.35248/2329-888X.19.7.231>
9. Amaral GV, Silva EK, Cavalcanti RN, Martins CPC, Andrade LGZS, Moraes J, *et al.* Whey-grape juice drink processed by supercritical carbon dioxide technology: Physicochemical characteristics, bioactive compounds and volatile profile. *Food Chemistry*. 2018;239:697–703. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.003>
10. Jambrak AR, Vukušić T, Donsi F, Paniwnyk L, Djekic I. Three Pillars of Novel Nonthermal Food Technologies: Food Safety, Quality, and Environment. *Journal of Food Quality*. 2018;2018:8619707. <https://doi.org/10.1155/2018/8619707>
11. Rivera I, Bakonyi P, Cuautle-Marín MA, Buitrón G. Evaluation of various cheese whey treatment scenarios in single-chamber microbial electrolysis cells for improved biohydrogen production. *Chemosphere*. 2017;174:253–259. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.128>
12. Blanco VMC, Oliveira GHD, Zaiat M. Dark fermentative biohydrogen production from synthetic cheese whey in an anaerobic structured-bed reactor: Performance evaluation and kinetic modeling. *Renewable Energy*. 2019;139:1310–1319. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.03.029>
13. Simone E, Tyler AII, Kuah D, Bao X, Ries ME, Baker D. Optimal Design of Crystallization Processes for the Recovery of a Slow-Nucleating Sugar with a Complex Chemical Equilibrium in Aqueous Solution: The Case of Lactose. *Organic Process Research and Development*. 2019;23(2):220–233. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.8b00323>
14. Pleissner D, Dietz D, van Duuren JBeJH, Wittmann C, Yang X, Lin CISK, *et al.* Biotechnological Production of Organic Acids from Renewable Resources. In: Wagemann K, Tippkötter N, editors. *Biorefineries*. Cham: Springer; 2019. pp. 373–410. https://doi.org/10.1007/10_2016_73
15. Awasthi D, Wang L, Rhee MS, Wang Q, Chauliac D, Ingram LO, *et al.* Metabolic engineering of *Bacillus subtilis* for production of D-lactic acid. *Biotechnology and Bioengineering*. 2018;115(2):453–460. <https://doi.org/10.1002/bit.26472>
16. Liu P, Zheng Z, Xu Q, Qian Z, Liu J, Ouyang J. Valorization of dairy waste for enhanced D-lactic acid production at low cost. *Process Biochemistry*. 2018;71:18–22. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.05.014>
17. Sahoo TK, Jayaraman G. Co-culture of *Lactobacillus delbrueckii* and engineered *Lactococcus lactis* enhances stoichiometric yield of d-lactic acid from whey permeate. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103:5653–5662. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09819-7>
18. Ziadi M, M'Hir S, Aydi A, Hamdi M. Bioreactor Scale-Up and Kinetic Modeling of Lactic Acid and Biomass Production by *Enterococcus faecalis* SLT13 during Batch Culture on Hydrolyzed Cheese Whey. *Journal of Chemistry*. 2020;2020:1236784. <https://doi.org/10.1155/2020/1236784>
19. Carlozzi P, Giovannelli A, Traversi ML, *et al.* Poly(3-hydroxybutyrate) bioproduction in a two-step sequential process using wastewater. *Journal of Water Process Engineering*. 2021;39:101700. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101700>
20. Raho S, Carofiglio VE, Montemurro M, *et al.* Production of the Polyhydroxyalkanoate PHBV from Ricotta Cheese Exhausted Whey by *Haloferax mediterranei* Fermentation. *Foods*. 2020;9(10):1459. <https://doi.org/10.3390/foods9101459>
21. Koller M, Maršálek L, de Sousa Dias MM, BrauneGG G. Producing microbial polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolymers in a sustainable manner. *New Biotechnology*. 2017;37:24–38. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.05.001>
22. Sampaio FC, de Faria JT, da Silvac MF, de Souza Oliveira RP, Converti A. Cheese whey permeate fermentation by *Kluyveromyces lactis*: a combined approach to wastewater treatment and bioethanol production. *Environmental Technology*. 2019;41(24):3210–3218. <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1604813>
23. Beniwal A, Saini P, De S, Vij S. Harnessing the nutritional potential of concentrated whey for enhanced galactose flux in fermentative yeast. *LWT*. 2021;141:110840. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110840>
24. Tesfaw A, Oner ET, Assefa F. Evaluating crude whey for bioethanol production using non-Saccharomyces yeast, *Kluyveromyces marxianus*. *Discover Applied Sciences*. 2021;3:42. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03996-1>
25. Putri D, Ulhidayati A, Musthofa IA, Wardani AK. Single cell protein production of *Chlorella* sp. using food processing waste as a cultivation medium. *International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy*. 2018;131:012052. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/131/1/012052>

26. 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>
27. Abbas HM, Abd El-Gawad MAM, Kassem JM, Salama M. Application of fat replacers in dairy products: A review. *Foods and Raw Materials*. 2024;12(2):319–333. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-612>
28. Khalifa I, Nie R, Ge Z, Li K, Li C. Understanding the shielding effects of whey protein on mulberry anthocyanins: Insights from multispectral and molecular modelling investigations. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;119:116–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.117>
29. Prosekov AYu. The role of interphase surface phenomena in the production of dispersed products with foam structure (revive). *Storage And Processing of Farm Products*. 2001;(8):24–27. (In Russ.). <https://elibrary.ru/yxyby>
30. Braber NLV, Giorgio LD, Aminahuel CA, Vergara LID, et al. Antifungal whey protein films activated with low quantities of water soluble chitosan. *Food Hydrocolloids*. 2021;110:106156. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106156>
31. Çakmak H, Özselek Y, Turan OY, Fıratlıgil E, Karbancıoğlu-Güler F. Whey protein isolate edible films incorporated with essential oils: Antimicrobial activity and barrier properties. *Polymer Degradation and Stability*. 2020;179:109285. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109285>
32. Guimarães A, Ramos Ó, Cerqueira M, Venâncio A, Abrunhosa L. Active Whey Protein Edible Films and Coatings Incorporating *Lactobacillus buchneri* for *Penicillium nordicum* Control in Cheese. *Food and Bioprocess Technology*. 2020;13:1074–1086. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02465-2>
33. Kalkan S, Erginkaya Z. Impact of whey protein isolate coatings containing different antimicrobial agents on sliced bologna-type sausage during refrigerated storage. *Food Science and Technology*. 2020;40:136–145. <https://doi.org/10.1590/fst.05119>
34. Muley AB, Singhal RS. Extension of postharvest shelf life of strawberries (*Fragaria ananassa*) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. *Food Chemistry*. 2020;329:127213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127213>
35. Sogut E, Balqis AMI, Hanani ZAN, Seydim AC. The properties of κ-carrageenan and whey protein isolate blended films containing pomegranate seed oil. *Polymer Testing*. 2019;77:105886. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.05.002>
36. Sargin BV, Bobkov GV, Pavlov SA. Method for preparing extracts of herbal raw material by water-in-oil extraction in natural extractants. Russia patent RU 2491947C2. 2011.
37. Prosekov AYu, Dyshliuk LS, Milenteva IS, Asiakina LK, Fedorova AM, Loseva AI. Method for obtaining a biologically active additive based on whey and plant extract. Russia patent RU 2792775C1. 2022. [Способ получения биологически активной добавки на основе молочной сыворотки и растительного экстракта: пат. 2792775C1 Рос. Федерация. № 2022112230 / А. Ю. Просеков [и др.] заявл. 05.05.2022; опубли. 24.03.2023. 17 с. Бюл. № 9.].
38. Kaledina MV, Fedosova AN, Shramko MI, Salatkova NP, Martinova IA. Fermented milk drinks with herbal extracts on the basis of whey. *Newsletter of North-Caucasus Federal University*. 2013;(6):92–96. (In Russ.). <https://elibrary.ru/RXANWJ>
39. Khalanskaya DM, Lodygin AD, Kurchenko VP. Effect of technological factors on the extraction of biologically active substances from plant raw materials. *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference on Molecular Genetics and Biotechnology in Obtaining and Using Synthetic and Natural Biologically Active Substances*;2017; Stavropol. Stavropol: North-Caucasus Federal University; 2017. p. 290–293. (In Russ.). <https://elibrary.ru/ZISHHT>
40. Ivanova SA, Milentyeva IS, Asyakina LK, Lukin AA, Kriger OV, Petrov AN. Biologically Active Substances of Siberian Medical Plants in Functional Wgey-Based Drinks. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(1):14–22. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-14-22>; <https://elibrary.ru/XQHWBO>
41. Lodygin A, Khalanskaya D, Evdokimov I, Kurchenko V, Lodygina S, Kapustin M, et al. Application of whey for plant biologically active substances extraction. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. 2024;46:73–79. <https://keypublishing.org/jhed/wp-content/uploads/2024/03/03.-Full-paper-Alexey-Lodygin.pdf>
42. Nesterenko PG. Production of condensed concentrates based on whey. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*. 1992;(2):5–10. (In Russ.). [Нестеренко П. Г. Производство сгущенных концентратов на основе молочной сыворотки // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 1992. № 2. С. 5–10.]. <https://elibrary.ru/QCAAUV>
43. Bryukhachev EN, Zaushintsena AV, Fotina NV, Skomorokhov AV. The development of production technology of functional drink based on milk whey. *Bulletin of KSAU*. 2020;(8):144–152. (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-8-144-152>; <https://elibrary.ru/IMZYJF>
44. Trineeva OV, Safonova II, Safonova EF, Slivkin AI. Definition of flavonoides and research of influence of storage conditions on their contents in hippophaes fruits a TLC method. *Sorption and Chromatography Processes*. 2012;12(5):806–813. (In Russ.). [Определение флавоноидов и исследование влияния условий хранения на их содержание в плодах облепихи методом ТСХ / О. В. Тринеева [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. 2012. Т. 12. № 5. С. 806–813.]. <https://elibrary.ru/PIWVSZ>
45. Danilchuk TN, Novosad YuG, Sidorova ES. Antioxidant activity of milk whey. *Food Industry*. 2022;(3):39–42. <https://doi.org/10.52653/PPI.2022.3.3.010>; <https://elibrary.ru/OKQKY>
46. Poništ J, Dubšíková V, Schwarz M, Samešová D. Methods of processing whey waste from dairies. A review. *Environment Protection Engineering*. 2021;47(4):67–84. <http://doi.org/10.37190/epe210405>

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» предназначен для публикации статей, посвященных проблемам пищевой и смежных отраслей промышленности.

Статья должна отвечать профилю журнала, обладать научной новизной, публиковаться впервые.

Рукопись научной статьи, поступившая в редакцию журнала, рассматривается ответственным за выпуск на предмет соответствия профилю журнала и требованиям к оформлению, проверяется оригинальность представленного текста с помощью интернет-ресурсов – <https://antiplagiat.ru>, регистрируется.

В журнале публикуются только рукописи, текст которых рекомендован рецензентами. Редакция организует «двухстороннее слепое» (анонимное) рецензирование представленных рукописей. Выбор рецензента осуществляется решением главного редактора или его заместителя. Для проведения рецензирования рукописей статей в качестве рецензентов могут привлекаться как члены редколлегии журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)», так и высококвалифицированные ученые и специалисты других организаций и предприятий, обладающие глубокими профессиональными знаниями и опытом работы по конкретному научному направлению, как правило, доктора наук, профессора. Все рецензенты являются признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и имеют в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи.

Рецензенты уведомляются о том, что присланные им рукописи являются частной собственностью авторов и относятся к сведениям, не подлежащим разглашению. Рецензентам не разрешается делать копии статей для своих нужд. Рецензирование проводится конфиденциально. Нарушение конфиденциальности возможно только в случае заявления рецензента о недостоверности или фальсификации материалов, изложенных в статье.

Срок рассмотрения статьи не должен превышать трех месяцев со дня получения статьи на рецензирование.

Оригиналы рецензий хранятся в издательстве и в редакции издания в течение пяти лет со дня публикации статей.

Если в рецензии имеется указание на необходимость ее исправления, то статья направляется автору на доработку.

Если статья по рекомендации рецензента подверглась значительной авторской переработке, то она направляется

на повторное рецензирование тому же рецензенту, который сделал критические замечания.

Редакция оставляет за собой право отклонения статей в случае неспособности или нежелания автора учесть пожелания редакции.

При наличии отрицательных рецензий на рукопись от двух разных рецензентов или одной рецензии на ее доработанный вариант статья отклоняется от публикации без рассмотрения другими членами редколлегии. Автору не принятой к публикации статьи ответственный за выпуск направляет мотивированный отказ. Фамилия рецензента может быть сообщена автору лишь с согласия рецензента.

Решение о возможности публикации после рецензирования принимается главным редактором, а при необходимости – редколлегией в целом.

С 1 августа 2024 г. для публикации статьей необходимо вносить плату (АРС). Плата за публикацию одной статьи составляет 50 000 руб. независимо от объема рукописи, языка, на котором она представлена, и наличия графического материала. Оплата производится только после получения положительной рецензии и утверждения главным редактором статьи в номер. За подачу рукописи статьи в редакцию журнала, её проверку и рецензирование плата не взимается. Более подробно ознакомиться с условиями платы, скидками и привилегиями можно на <https://fppt.ru>

Редакция журнала направляет авторам представленных материалов копии рецензий или мотивированный отказ, а также обязуется направлять копии рецензий в Министерство науки и высшего образования Российской Федерации при поступлении в редакцию издания соответствующего запроса.

Редакция журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» не хранит рукописи, не принятые к печати.

Рукописи печатаются, как правило, в порядке очередности их поступления в редакцию. В исключительных случаях, редакционная коллегия имеет право изменить очередность публикации статей.

Журнал «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» является журналом открытого доступа (open access). Все материалы журнала распространяются на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЬИ

Объем статьи должен быть не менее 35–40 тыс. знаков (не включая списки литературы на русском и английском языках). Объем обзорной рукописи – более 40 тыс. знаков.

Оформление текста (форматирование): поля по 20 мм, одинарный интервал без переносов, лишних пробелов и абзацных интервалов, шрифт Times New Roman, 10 кегль. Следует избегать перегрузки статей большим количеством формул, дублирования одних и тех же результатов в таблицах и графиках.

Графики, диаграммы и т. п. (желательно цветные), созданные средствами Microsoft Office и Corel Draw, должны допускать возможность редактирования и направляются в редакцию отдельными файлами в форматах tiff, jpeg, cdr, excel.

Каждая таблица, график, диаграмма и т. п. должны иметь заголовки и порядковые номера, в тексте статьи должны присутствовать ссылки на каждую из них.

Структура статьи:

1. Тип статьи;
2. Название статьи;
3. Инициалы и фамилии всех авторов;
4. Официальное полное название учреждения;
5. E-mail автора, с которым следует вести переписку;
6. Аннотация (разбивается на разделы: «Введение», «Объекты и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);
7. Ключевые слова;
8. Финансирование;

9. Текст статьи (обязательные разделы: «Введение», «Объекты и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);

10. Критерий авторства;

11. Конфликт интересов;

12. Благодарности;

13. Список литературы;

14. References;

15. Сведения об авторах (на русском и английском языках).

Подать рукопись можно на сайте журнала <https://fppt.ru> или отправив на e-mail fppt98@gmail.com

В редакцию предоставляются:

1. Электронная версия статьи в программе MSWord. Файл статьи следует назвать по фамилии первого автора – ПетровГП.doc. Не допускается в одном файле помещать несколько документов;
2. Сканированная электронная версия статьи, подписанная всеми авторами, в программе PDF. Файл статьи следует назвать по фамилии первого автора – ПетровГП.pdf. Не допускается в одном файле помещать несколько документов;
3. Гарантийное письмо (скан-копия) на имя главного редактора журнала на бланке направляющей организации с указанием даты регистрации и исходящего номера, с заключением об актуальности работы и рекомендациями к опубликованию, с подписью руководителя учреждения;
4. Издательский лицензионный договор.

Более подробная информация на <https://fppt.ru>

✧ СОДЕРЖАНИЕ ✧

<i>Арапов В. М., Плотникова И. В., Казарцев Д. А., Полянский К. К., Магомедов Г. О., Копылов М. В., Плотников В. Е.</i> Применение методики среднеинтегральной оценки водоудерживающей способности сахаросодержащих продуктов в кондитерском производстве	436	<i>Ирмаянти, Анвар Ч.</i> Синтез биоразлагаемого пластика из банановой кожуры с глицерином в качестве пластификатора ...	547
<i>Бредихин С. А., Андреев В. Н., Назарова А. П., Короткий И. А.</i> Анализ компонентного состава масла какао методом дифференциальной сканирующей калориметрии	452	<i>Бородина А. В., Пименов К. А., Веляев Ю. О., Осокин А. Р.</i> Сезонная динамика липидов тканей двустворчатого моллюска <i>Cerastoderma glaucum</i> псевдолииторальной зоны	558
<i>Головач Т. Н., Ловкис З. В., Курченко В. П., Янцевиц А. В., Тарун Е. И., Дудчик Н. В., Ржепаковский И. В., Лодыгин А. Д.</i> Биологически активные гидролизаты белков молока и их комплексы включения с циклодекстринами	461	<i>Фролова А. С., Милентьева И. С., Федорова А. М., Миллер Е. С., Лузянин С. Л.</i> Влияние биологически активных веществ на тепловой и окислительный стресс модельных объектов <i>Caenorhabditis elegans</i>	571
<i>Бахчевников О. Н., Брагинцев А. В.</i> Применение озона в хранении и переработке зерна (обзор)	483	<i>Табакаев А. В., Табакаева О. В.</i> Характеристика антиоксидантной активности CO ₂ -экстрактов бурых водорослей и стабилизации липидов	585
<i>Румянцева О. Н.</i> Изменение состава пектиновых веществ при замораживании и хранении растительной продукции	495	<i>Кандроков Р. Х., Юрченко Т. И., Румянцева В. В.</i> Разработка технологии хлебобулочных изделий с использованием цельно-смолотой полбяной муки	598
<i>Аверьянова Е. В., Школьникова М. Н., Павлова Н. В., Рожнов Е. Д.</i> Микронизация в технологии минорного компонента консервирующего действия	508	<i>Гриценко Г. М.</i> Комплексный подход к развитию инфраструктуры сбыта продукции аграрного малого и микро-бизнеса	610
<i>Оганесянц Л. А., Панасюк А. Л., Свиридов Д. А., Ганин М. Ю., Шилкин А. А., Серебрякова О. В.</i> Анализ отношений стабильных изотопов легких элементов в отдельных компонентах мёда	522	<i>Коденцова В. М., Рисник Д. В., Серба Е. М., Абрамова И. М., Соколова Е. Н., Крючкова Е. Р., Римарева Л. В.</i> Перспективы комплексной переработки ягод черной смородины	621
<i>Лобанов В. Г., Росляков Ю. Ф., Маслинская М. Е., Почуцкая И. М., Комарова Н. В.</i> Биохимический, минеральный и витаминный состав семян льна масличного белорусской селекции	532	<i>Величкович Н. С., Степанова А. А., Козлова О. В., Люц В. А., Ларичев Т. А.</i> Подбор параметров экстракции биоактивных веществ из лекарственных растений с применением молочной сыворотки	633

✧ CONTENTS ✧

<i>Arapov Vladimir M., Plotnikova Inessa V., Kazartsev Dmitry A., Polansky Konstantin K., Magomedov Gazibeg O., Kopylov Maxim V., Plotnikov Viktor E.</i> Average Integral Assessment of Water Binding Capacity in Sugar-Containing Confectionery Products	437	<i>Irmayanti, Anwar Chairil</i> Synthesis of Biodegradable Plastic from Wak Banana Peel Starch with Glycerol as Plasticizer	546
<i>Bredikhin Sergey A., Andreev Vladimir N., Nazarova Anastasia P., Korotkiy Igor A.</i> Composition Analysis of Cocoa Butter by Differential Scanning Calorimetry	453	<i>Borodina Alexandra V., Pimenov Konstantin A., Velyaev Yuri O., Osokin Alexander R.</i> Seasonal Dynamics of Tissue Lipids in Bivalve Mollusk <i>Cerastoderma glaucum</i> of Supralittoral Zone	559
<i>Halavach Tatsiana M., Lovkis Zenon V., Kurchenko Vladimir P., Yantsevich Aleksei V., Tarun Ekaterina I., Dudchik Natalia V., Rzhepakovsky Igor V., Lodygin Aleksei D.</i> Biologically Active Dairy Protein Hydrolysates and Their Cyclodextrin Inclusion Complexes: Biotechnological Aspects of Production	462	<i>Frolova Anna S., Milentyeva Irina S., Fedorova Anastasiya M., Miller Ekaterina S., Luzyanin Sergey L.</i> Effect of Biologically Active Substances on Thermal and Oxidative Stress in <i>Caenorhabditis elegans</i> Models	572
<i>Bakhchevnikov Oleg N., Braginetz Andrey V.</i> Ozone in Grain Storage and Processing: Review	484	<i>Tabakaev Anton V., Tabakaeva Oksana V.</i> Antioxidant Activity of Brown Algae CO ₂ Extracts and Lipid Stability	586
<i>Rumiantseva Olga N.</i> Pectin Changes during Freezing and Storage of Plant Products	496	<i>Kandrokov Roman Kh., Yurchenko Tatyana I., Rumyantseva Valentina V.</i> New Technology of Bakery Products of Whole-Ground Spelt Flour	599
<i>Averyanova Elena V., Shkolnikova Marina N., Pavlova Natalia V., Rozhnov Evgeny D.</i> Micronization of Small-Amount Preservatives	509	<i>Gritsenko Galina M.</i> Agricultural Marketing in Small and Micro Businesses: An Integrated Approach to Infrastructural Development	611
<i>Oganesyants Lev A., Panasyuk Alexander L., Sviridov Dmitry A., Ganin Mikhail Yu., Shilkin Alexey A., Serebryakova Oksana V.</i> Light Stable Isotopes and Their Ratios in Honey Components	523	<i>Kodentsova Vera M., Risnik Dmitry V., Serba Elena M., Abramova Irina M., Sokolova Elena N., Kryuchkova Elizaveta R., Rimareva Liubov V.</i> Prospects for Integrated Processing of Black Currant	622
<i>Lobanov Vladimir G., Roslyakov Yuri F., Maslinskaya Margarita E., Pochitskaya Irina M., Komarova Natalia V.</i> Biochemical, Mineral, and Vitamin Composition of Belarusian Linseed Cultivars	533	<i>Velichkovich Natalia S., Ann A. Stepanova, Kozlova Oksana V., Lutz Veronika A., Larichev Timothy A.</i> Extraction of Bioactive Substances from Medicinal Plants with Whey: Selecting Optimal Parameters	634