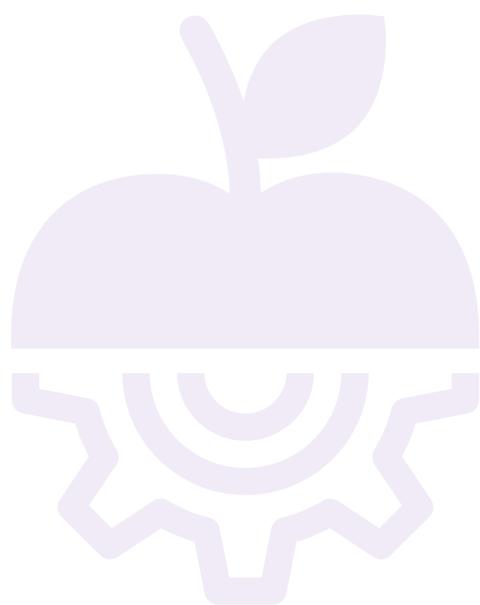


Техника и технология пищевых производств

Food Processing: Techniques and Technology



Национальный, рецензируемый научный журнал, посвященный вопросам пищевой промышленности и включенный в МБД SCOPUS и RSCI на платформе Web of Science.

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

ниями 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, доклады, сообщения, рецензии,

краткие научные сообщения (письма в редакцию), информационные публикации по направлениям: технология пищевых производств; процессы, оборудование и аппараты пищевых производств; гигиена питания; биотехнология; стандартизация, сертификация, качество и безопасность; химия и экология; экономика; автоматизация и информатизация технологических процессов. Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте <http://fptt.ru>.

Главный редактор:

А.Ю. Проせков, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия.

Зам. главного редактора:

А.Н. Петров, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования, Видное, Россия;

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

Редакционная коллегия:

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

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

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

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

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

Г.М. Гриценко, Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Новосибирская обл., Россия;

Н.И. Дунченко, Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

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

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

А.В. Заушищенна, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

В.Г. Лобанов, Кубанский государственный техно-

логический университет, Краснодар, Россия;

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

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

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

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

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

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

А.Г. Храмов, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0.

Выпускающий редактор А.И. Лосева

Ответственный за выпуск А.А. Кирякова

Литературный редактор А.Ю. Курникова

Литературный редактор (англ. язык) Н.В. Рабкина

Дизайн и компьютерная верстка М.В. Горбунова

Адрес редакции и издателя: КемГУ, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, Красная, 6, тел.: +7 (3842) 58-80-24, e-mail: fptt98@gmail.com.

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

Учредитель: КемГУ, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, Красная, 6.

© КемГУ, 2021.

Дата выхода в свет 03.06.21.

Усл. п. л. 26,22, уч.-изд. л. 0,69. Тираж 500 экз.

Цена свободная. Выходит 4 раза в год.

Подписной индекс по объединенному каталогу «Пресса России» – 41672.

Свидетельство о регистрации

средства массовой информации

ПИ № ФС77-72313 выдано Роскомнадзор.

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

The journal is accepted by SCOPUS and Web of Science (RSCI).

The Journal's mission is to present, integrate and disseminate the most important results of fundamental and applied research in the food

industry of Russia and the CIS countries. We aim to create scientific content that would reflect the current state of food science in the post-Soviet space.

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

The Journal publishes the results of original research and review articles on most topics relating to food industry, including: food pro-

duction technology; food production processing and equipment; food hygiene; biotechnology; food standardization, certification, quality and safety; chemistry and ecology; economics; automation and informational support of technological processes. For submission instructions, subscription and all other information visit this journal online at <http://fptt.ru/eng>.

Editor-in-Chief

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

Deputy Editor-in-Chief

Andrey N. Petrov, All-Russia Scientific Research Institute of Canned Food Technology, Vidnoe, Russia;

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

Editorial Board Member

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

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

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

Irina A. Ganieva, Research and Academic Centre

“Kuzbass”, Kemerovo, Russia;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Date of issue June 03, 21.

Printed sheet 26,22, conventional printed

sheet 0,69. Circulation 500 cop. Open price.

Issued 4 times a year.

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

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

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

Executive Editor A.I. Loseva, Publishing Editor A.A. Kiryakova, Script Editor A.Yu. Kurnikova, Script Editor (Eng) N.V. Rabkina, Layout of Journal M.V. Gorbunova.

Founder and publisher: KemSU, 6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russia, phone: +7(3842) 58-80-24, e-mail: fptt98@gmail.com.

Printing Office: KemSU, Sovetskiy Ave. 73, Kemerovo, 650000, Russia.

Founder: KemSU, 6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russia. © 2021, KemSU.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-209-219>
УДК 637.5.035

Оригинальная статья
<http://fppt.ru>

Использование флуоресценции при определении глубины просаливания крупнокускового цельномышечного мяса индейки

 Н. С. Моисеева*,  Г. П. Чекрыга,  О. К. Мотовилов,  О. В. Голуб

Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий Российской академии наук, Краснообск, Россия

Дата поступления в редакцию: 21.12.2020

Дата принятия в печать: 01.03.2021



*e-mail: Natasha555@mail.ru

© Н. С. Моисеева, Г. П. Чекрыга, О. К. Мотовилов, О. В. Голуб, 2021

Аннотация.

Введение. В настоящее время одним из перспективных методов исследований качества пищевых продуктов считается флуоресценция. Динатриевая соль флуоресцеина используется в диагностике различных отраслей (медицинской, пищевой и др.). Актуальными являются исследования, направленные на применение указанного флуорофора при определении глубины просаливания продукции из бескостных частей тушки индейки.

Объекты и методы исследования. Образцы мяса индейки (грудка, бедра), выдержанные в рассолах. Использовали общепринятые и стандартные (макро- и микроскопические, статистические) методы исследования, а также оригинальный способ определения глубины проникновения рассола хлорида натрия в мышцы индейки с использованием флуоресценции.

Результаты и их обсуждение. Для определения глубины посола мяса индейки использовали рассол, состоящий из соли пищевой, сахара белого, воды и динатриевой соли флуоресцеина. В качестве контроля использовали рассол без флуорофора. Независимо от концентрации хлорида натрия в рассоле, видимые и измеренные по свечению динатриевой соли флуоресцеина изменения глубины просаливания мышечной ткани грудки индейки, подвергшейся посолу в течение 5 мин, меньше в 8 раз, 12 ч – в 3 раза, 24 ч – в 4 раза. Полное просаливание мышц грудки индейки наступает через 36 ч. Это подтверждается визуальными и измеренными по свечению флуорофора исследованиями. При посоле мяса бедра индейки наблюдается меньшая площадь проникновения рассола хлорида натрия. Визуально видимая часть меньше измеренной по свечению динатриевой соли флуоресцеина через 5 мин просаливания в 3 раза, 12 ч и 24 ч – 2 раза, 36 ч – полное просаливание.

Выводы. Доказана возможность использования флуоресценции при определении глубины просаливания бескостных частей тушки индейки.

Ключевые слова. Посол, мясо, флуоресценция, флуорофор, анализ

Для цитирования: Использование флуоресценции при определении глубины просаливания крупнокускового цельномышечного мяса индейки / Н. С. Моисеева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 209–219. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-209-219>.

Original article

Available online at <http://fppt.ru/eng>

Fluorescence Method in Measuring the Degree of Brine Penetration into Boneless Whole-Muscle Turkey Meat

 Natalia S. Moiseeva*,  Galina P. Chekryga,
 Oleg K. Motovilov,  Olga V. Golub

Siberian Federal Scientific Center of Agro-Bio Technologies
of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia

Received: December 21, 2020

Accepted: March 01, 2021



*e-mail: Natasha555@mail.ru

© N.S. Moiseeva, G.P. Chekryga, O.K. Motovilov, O.V. Golub, 2021

Abstract.

Introduction. Fluorescence is one of the most promising methods of food quality tests. Fluorescein disodium salt is used as a

means of diagnostics in medicine and food production. In particular, fluorophore can determine the ripening stage of boneless turkey meat during brining by defining the penetration depth of the brine.

Study objects and methods. The present research featured samples of brined turkey breast and thigh meat. The experiment was based on standard research methods, e.g. macro- and microscopy, statistical method, etc. It also included an original fluorescence method for determining the penetration depth of sodium chloride brine into turkey muscles.

Results and discussion. The experimental brine consisted of food salt, white sugar, water, and fluorescein disodium salt, while brine without fluorophore served as control. Regardless of sodium chloride concentration, the changes in the ripening depth of the turkey breast samples were 8 times lower after 5 min, 3 times – after 12 h, and 4 times after 24 h. Complete ripening occurred after 36 h, which was confirmed by visual and fluorophore measurements. The thigh meat samples showed a smaller area of sodium chloride penetration: 8 times lower – after 5 min, 2 times – after 12 and 24 h. Complete salting was also registered after 36 h of brining.

Conclusion. The fluorescence method proved quite effective in determining the ripening of boneless turkey parts meat.

Keywords. Brine, meat, fluorescence, fluorophore, analysis

For citation: Moiseeva NS, Chekryga GP, Motovilov OK, Golub OV. Fluorescence Method in Measuring the Degree of Brine Penetration into Boneless Whole-Muscle Turkey Meat. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):209–219. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-209-219>.

Введение

Традиционным мясом птиц, потребляемым российским населением, является мясо кур [1]. В последние годы, в связи с популяризацией здорового образа жизни, все больший интерес среди потребителей приобретает мясо индейки [2]. Мясо индейки содержит большое количество полноценных белков (от 19,1 до 22,9 г/100 г), ненасыщенных жирных кислот (68,3 % от суммы жирных кислот), разнообразные минеральные вещества (кальций, магний, фосфор, железо и т. д. – 0,7, 0,05, 89,7 и 1,8 % соответственно) и другие необходимые для организма человека нутриенты [3]. Из мяса индейки вырабатывается широкий ассортимент продукции как массового, так и специализированного назначения [2, 4–6].

В технологиях производства продукции из мяса индейки, как и продукции из других видов мяса, довольно часто используют посол [7–9]. В процессе посола происходит созревание сырья с последующим приобретением специфических особенностей соленых изделий, которое сопровождается изменением цвета, консистенции, запаха и вкуса. Поэтому перед началом разработки новой или модернизации существующей продукции из мяса индейки необходимо определить условия (параметры и режимы) технологической операции – посола.

В настоящее время разработан ряд способов контроля глубины проникновения соли в мясо в процессе посола.

Специалистами ГНУ СибФТИ Россельхозакадемии (р.п. Краснообск Новосибирского района Новосибирской области) предложен «Способ оценки уровня инъекции мясного сырья и устройство для его осуществления», основанный на воздействии электрическим током. В нем определяют напряжение приэлектродной поляризации мясного сырья (патент RU 2469318 С1). В качестве недостатка отмечается

отсутствие возможности установления глубины проникновения (распределения) солевого раствора. Можно проконтролировать лишь количество его введения.

Специалистами Московского государственного университета прикладной биотехнологии предложен «Способ контроля качества мяса». Способ заключается в сканировании образца для получения цветовых характеристик (светлость, краснота, желтизна) мышечных тканей, обработанных по специальной программе на компьютере (патент RU 2426115 С2). Однако данным способом можно определить только свежесть мяса.

Специалистами Южно-Уральского государственного университета предложен способ установления проникновения соли в мясо птицы. Он позволяет определить методом химического анализа, основанном на титровании ионов хлора, количественное содержание в мясе ионов серебра, выделенных из него, в нейтральной среде в присутствии хромовокислого калия в качестве индикатора [10]. Недосток этого способа заключается в том, что для определения глубины проникновения необходимо делать множественное количество срезов с образца, что является трудоемким и длительным процессом.

При анализе различных источников научной и нормативной информации выявлено отсутствие регламентирующих параметров посола мяса индейки.

В настоящее время флуоресценция, основанная на поглотительной способности световой энергии определенной длины волны многих органических веществ (хинина, эозина, метилового зеленого и др.) с последующим испусканием света с большей длиной волны, находит широкое применение в различных областях жизнедеятельности человека [11–13]. Специалисты отмечают значительный рост использования флуоресценции в исследованиях

качества пищевых продуктов. R. Liu с соавторами разработали простой флуоресцентный аптасенсор для быстрого и чувствительного обнаружения *Listeria monocytogenes* в пище [14]. О. Monago-Мараña и др. выработан метод (путем комбинирования флуоресценции и хемотрии) количественного определения капсаициноидов в образцах острой пищи, обеспечивающий значения единиц тепла Сковилла, которые хорошо согласуются со значениями, полученными с помощью анализа ВЭЖХ [15]. S. O. Tümay с соавторами предложен метод, основанный на «включающей» флуоресценции модифицированной пиреном нанокристаллической целлюлозы, для быстрого определения Cd^{2+} в пищевых продуктах [16].

Одним из флуорофоров является динатриевая соль флуоресцеина (уранин; химическая формула $C_{20}H_{10}O_5Na_2$). Она обладает хорошей растворимостью в воде с достаточно сильной зеленой флуоресценцией. Динатриевую соль флуоресцеина используют в качестве красителя: в теплосетях и водопроводах для обнаружения утечек; геологоразведочных работах для определения направления течения вод; для моющих средств, шампуней, тканей; при определении антигенов и антител в биологических исследованиях; при создании спасательных комплектов летного состава и др. [17]. В последние годы продолжают исследования в области использования динатриевой соли флуоресцеина. Y. Zhang и др. разработаны люминесцентные композиты для обнаружения антибиотиков в воде на основе металлоорганического каркаса, т. е. цеолитного имидазолатного каркаса-8, наполненного красителями родамина В и динатриевой солью флуоресцеина [18]. R. Romero-Díez с соавторами при определении антиоксидантной активности винного осадка используют метод оценки антиоксидантной способности конкретного вещества, разработанный американскими специалистами [19]. Метод испанских ученых основан на тушении флуоресценции соли динатрия флуоресцеина после воздействия 2,2-азобис (2-амидинопропан) дигидрохлорид, который генерирует кислородные радикалы с постоянной скоростью [20].

Цель работы – исследование возможности использования динатриевой соли флуоресцеина при определении глубины просаливания крупнокускового цельномышечного мяса индейки.

Объекты и методы исследования

Объекты исследований – образцы охлажденного до температуры 4 ± 2 °С мяса грудки и бедра индейки 1 сорта массой 200 ± 5 г, соответствующие по своим качественным характеристикам ГОСТ 31473-2012, выдержанные в рассолах.

На рисунке 1 представлена схема проведения исследований.

Рассолы готовились с использованием:

- каменной соли поваренной пищевой молотой без добавок сорта «Экстра» с гранулометрическим составом частиц до 0,8 мм не менее 75,0 %, свыше 0,8, но до 1,2 мм, не более 25 %, соответствующей по своим качественным характеристикам ГОСТ Р 51574-2018;
- белого свекловичного мелкокристаллического сахара сорта «Экстра» с размерами кристаллов до 0,5 мм, соответствующего по своим качественным характеристикам ГОСТ 33222-2015;
- динатриевой соли флуоресцеина в виде кристаллического порошка краснокирпичного цвета, хорошо растворимого в воде с чрезвычайно сильной желто-зеленой флуоресценцией (ООО «Русский Химик», Россия), соответствующего по своим качественным характеристикам ТУ 2463-289-00204197-2003.

Приготовление раствора с динатриевой солью флуоресцеина. Навеску динатриевой соли флуоресцеина в количестве 0,005 г вносили в небольшое количество воды (250 мл) температурой 22 ± 2 °С, подогревали на водяной бане до 30 °С до полного растворения и доводили объем раствора дистиллированной водой (рН = 6,0).

В охлажденный до температуры 4 ± 2 °С раствор с динатриевой солью флуоресцеина добавляли соль пищевую и сахар белый в количестве, представленном в таблице 1. Ингредиентный состав рассола, представленный в таблице 1, подобран на основе ранее проведенных исследований. После внесения всех ингредиентов проводили интенсивное перемешивание раствора в течение 3–5 мин до полного растворения



Рисунок 1. Схема проведения исследований

Figure 1. Research scheme

Таблица 1. Ингредиентный состав рассола

Table 1. Brine formulation

Ингредиенты	№ образца рассола											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Вода, %	94,5	89,0	83,5	94,5	89,0	83,5	94,5	89,0	83,5	94,5	89,0	83,5
Соль, %	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0	5,0	10,0	15,0
Сахар, %	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5
Длительность посола, ч	0,083	0,083	0,083	12,0	12,0	12,0	24,0	24,0	24,0	36,0	36,0	36,0

всех компонентов. Полученный рассол с динатриевой солью флуоресцеина представлял собой прозрачную жидкость желто-зеленого цвета при дневном свете, без осадка, механических и других примесей. Под воздействием источника ультрафиолетового света такой рассол отличался ярко-выраженным желто-зеленым свечением (флуоресценцией). Явление флуоресценции раствора происходило в результате перехода электронов атомов флуорофоров (элементов динатриевой соли флуоресцеина, способных к флуоресценции) в возбужденное состояние при поглощении энергии ультрафиолетового света, их перемещений между энергетическими уровнями и возвращении в обычное состояние.

Приготовление раствора без динатриевой соли флуоресцеина. В подготовленную питьевую воду температурой 4 ± 2 °C добавляли соль пищевую и сахар белый в количестве «варианта рассола № 2», представленном в таблице 1. После внесения всех ингредиентов проводили интенсивное перемешивание рассола в течение 3–5 мин до полного растворения всех компонентов. Полученный рассол представлял собой прозрачную жидкость без осадка, механических и других примесей.

Посола образцов мяса индейки. Образцы мяса индейки раскладывали в емкости для посола из пищевого нержавеющей материала и заливали рассолом так, чтобы он полностью покрывал сырье. Выдерживали образцы в рассоле в холодильной камере при температуре 4 ± 2 °C. По истечении 5 мин, 12, 24 и 36 ч из каждой емкости разных вариантов рассолов отбирали по одному образцу мяса грудки и бедра индейки для дальнейшего макроскопического анализа срезов мяса. В таблице 2 представлено распределение образцов мяса индейки в емкости рассолов разных рецептур.

Макроскопический анализ. Для макроскопического анализа отбиралось 56 срезов мяса индейки. Из них по 24 продольных и поперечных срезов мяса грудки и бедра индейки, выдержанных в рассолах с динатриевой солью флуоресцеина, и 8 поперечных срезов (по 4 на каждый тип мяса) без нее.

Исследование изменений цвета в образцах срезов мяса индейки, выдержанных в рассолах без динатриевой соли флуоресцеина (8 образцов), проводили в помещении (освещенность 397 лк) невооруженным глазом с помощью штангенциркуля в 3–5 точках для вычисления средней величины изменения цвета от края среза мяса. В результате действия рассола на мясо грудки и бедра индейки произошли изменения цвета: от розового до бледно-желтого и от красного до бледно-красного соответственно.

Измерения глубины свечения в образцах срезов мяса индейки, выдержанных в рассолах с динатриевой солью флуоресцеина (48 образцов), проводили в темном помещении под воздействием источника ультрафиолетового света невооруженным глазом с помощью штангенциркуля в 3–5 точках для вычисления средней величины. Под действием флуоресцирующего вещества происходило желто-зеленое свечение, характеризующее глубину проникновения.

Микроскопический анализ. Гистологические срезы мяса индейки рассматривали при помощи световой микроскопии с оптическим 8-кратным увеличением трансфокатора микроскопа.

Толщина срезов, взятых на макро- и микроскопические исследования, равнялась $5,0 \pm 2,0$ и $0,3 \pm 0,1$ см соответственно. Срезы для макроскопических исследований осуществляли ножом ветеринарным малым по ГО-10-23-01-46-07, для

Таблица 2. Распределение образцов мяса индейки в емкости рассолов разных рецептур

Table 2. Distribution of turkey meat samples in containers with brines of different formulations

Вид мяса	№ варианта рассола с использованием динатриевой соли флуоресцеина			№ варианта рассола без использования динатриевой соли флуоресцеина	
	1	2	3	2	
Мясо грудки индейки	1	2	3	2	
Мясо бедра индейки	1	2	3	2	

гистологических исследований – микротомом замораживающим МЗ-2.

Макро- и микроскопический анализ осуществлялся специалистами отдела научных направлений комплексной переработки сельскохозяйственного сырья Сибирского научно-исследовательского и технологического института Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий Российской академии наук. Они прошли отбор с учетом индивидуальной чувствительности и способности устанавливать специфические различия в цвете, вкусе, запахе (аромате) и консистенции проб мясных продуктов в соответствии с ГОСТ ISO 8586-2015.

Статистический анализ. Для исследования наличия или отсутствия, а также взаимодействия влияния факторов («А» – концентрация хлорида натрия в рассоле, %; «В» – продолжительность посола, ч; «С» – вид среза; «D» – наличие/отсутствие динатриевой соли флуоресцеина; «F» – часть тушки) на изменение исследуемого результативного признака (средняя величина изменения цвета от края среза мяса) проводили дисперсионный анализ экспериментальных данных методами математической статистики (достоверность результатов $P \leq 0,05$)

с использованием персонального компьютера и программы SNEDECOR. При сравнении измерений видимой глубины проникновения 10 %-ного солевого рассола с динатриевой солью флуоресцеина и без нее в мясо грудки и бедра индейки использовали двухфакторный дисперсионный анализ (факторы «В» и «D»). При сравнении измерений видимой глубины проникновения рассола с динатриевой солью флуоресцеина в мышечные ткани индейки на продольных и поперечных срезах использовали многофакторный дисперсионный анализ (факторы «А», «В», «С», «F»).

В процессе работы использовано следующее оборудование: лампа ультрафиолетовая бактерицидная Т8-30W (Китай), цифровой фотоаппарат Canon PowerShot SX430 IS (Япония), компьютер AMD Socet 754 (США), принтер Samsung SCX 4220 (Южная Корея), шкаф холодильный фармацевтический Позис ХФД-280 (Россия), баня водяная Biosan WB-4MS (Латвия), штангенциркуль ШЦ-I-150-0,1 (Россия), микроскоп Carl Zeiss Stereo Discov-ery V8 (Германия) с камерой Axio Cam ICc 5 (Германия) и программным обеспечением ZEN; микротом МЗ-3 (Россия).

Таблица 3. Глубина проникновения рассола без динатриевой соли флуоресцеина в мышечные ткани индейки

Table 3. Penetration depth of brine without fluorescein disodium salt into turkey muscle tissue

Фактор «В»	Фактор «А»	Проникновение в ткани мяса индейки, мм			
		Фактор «С»			
		грудки		бедра	
		продольный срез	поперечный срез	продольный срез	поперечный срез
0,083	5	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03
	10	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03
	15	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03
12	5	2,10 ± 0,06	2,00 ± 0,02	3,00 ± 0,03	3,00 ± 0,05
	10	3,00 ± 0,03	2,70 ± 0,04	4,00 ± 0,06	4,00 ± 0,04
	15	4,10 ± 0,06	3,70 ± 0,06	5,10 ± 0,03	4,90 ± 0,04
24	5	3,20 ± 0,06	3,20 ± 0,05	4,10 ± 0,06	4,00 ± 0,05
	10	4,10 ± 0,06	4,00 ± 0,04	4,10 ± 0,06	4,10 ± 0,05
	15	5,10 ± 0,09	5,00 ± 0,06	5,20 ± 0,03	4,90 ± 0,04
36	5	4,20 ± 0,03	4,10 ± 0,03	5,20 ± 0,06	5,20 ± 0,05
	10	5,10 ± 0,03	5,00 ± 0,02	5,20 ± 0,06	5,30 ± 0,06
	15	6,00 ± 0,07	6,00 ± 0,05	6,00 ± 0,06	5,90 ± 0,06
Влияние фактора, %		A = 10,50 B = 84,56 C = 0,10 AB = 4,64 AC = 0,00 BC = 0,12		A = 4,59 B = 91,56 C = 0,02 AB = 3,70 AC = 0,07 BC = 0,02	
НСР _{0,5} , %		A = 5,95 B = 6,87 C = 4,86		A = 4,72 B = 5,45 C = 3,85	

Фактор «А» – концентрация хлорида натрия в рассоле, %; фактор «В» – продолжительность посола, ч; фактор «С» – вид среза.

Factor “A” – concentration of sodium chloride in brine, %; factor “B” – salting time, h; factor “C” – type of cut.

Результаты и их обсуждение

Проведены исследования возможности использования динатриевой соли флуоресцеина при определении параметров посола крупнокускового цельномышечного мяса индейки. В таблице 3 представлены результаты исследований глубины проникновения рассола без динатриевой соли флуоресцеина в мышечные ткани индейки.

Рассол с различной концентрацией хлорида натрия имеет разную скорость распространения от поверхности вглубь мышечной ткани: чем выше концентрация, тем быстрее его проникновение. При погружении мяса на 5 мин движущей силой процесса являлась разница концентраций веществ в системе «мясо – рассол»: чем она больше, тем интенсивнее диффузия между тканями и рассолом. Этим объясняется быстрое проникновение соли и окисление миоглобина при 5 мин погружении мяса в рассол.

Установлено, что в продольных и поперечных срезах грудки и бедра индейки при погружении в рассол на 5 мин глубина проникновения была одинаковой – 0,5 мм (табл. 3).

При выдерживании образцов в рассоле в течение 12, 24 и 36 ч изменение глубины проникновения хлорида

натрия составило по всем образцам около 1,0 мм. В продольных срезах грудки индейки наблюдали следующую закономерность: глубина проникновения 10,0 %-ного рассола хлорида натрия при 12 ч выдержке равна глубине проникновения 5,0 %-ного рассола хлорида натрия при 24 ч выдержке – 3,0 мм. Глубина проникновения 15,0 %-ного рассола хлорида натрия при 12 ч выдержке соответствовала глубине проникновения 10,0 %-ного рассола хлорида натрия при 24 ч выдержке – 4,0 мм и т. д. Максимальную глубину проникновения отмечали при 15 % концентрации рассола хлорида натрия и 36 ч длительности посола – 6,0 мм и т. д.

При 12 ч выдержке в рассоле разница в продольных срезах мяса бедра индейки, в зависимости от концентрации хлорида натрия в рассоле, составила 1,0 мм. При 24 ч выдержке образцов в рассоле глубина проникновения последнего составила 4,1 мм как при 5 %, так и при 10 %-ной концентрации хлорида натрия в рассоле. Глубина проникновения увеличилась только при 15 %-ной концентрации хлорида натрия – до 5,2 мм.

Как видно из данных испытаний таблицы 3, на поперечном срезе с увеличением длительности посола и увеличением концентрации хлорида натрия в рассоле

Таблица 4. Глубина проникновения рассола с динатриевой солью флуоресцеина в мышечные ткани индейки

Table 4. Depth of penetration of brine with fluorescein disodium salt into turkey muscle tissue

Фактор «В»	Фактор «А»	Проникновение в ткани мяса индейки, см			
		грудки		бедра	
		Фактор «С»			
		продольный срез	поперечный срез	продольный срез	поперечный срез
0,083	5	0,40 ± 0,03	0,30 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,10 ± 0,03
	10	0,40 ± 0,03	0,30 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,10 ± 0,03
	15	0,40 ± 0,03	0,30 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,10 ± 0,03
12	5	1,00 ± 0,06	1,00 ± 0,02	0,30 ± 0,03	0,20 ± 0,05
	10	2,10 ± 0,03	1,60 ± 0,04	0,40 ± 0,06	0,30 ± 0,04
	15	3,00 ± 0,06	2,20 ± 0,06	0,50 ± 0,03	0,30 ± 0,04
24	5	1,60 ± 0,06	1,20 ± 0,05	0,90 ± 0,06	0,70 ± 0,05
	10	2,30 ± 0,06	2,10 ± 0,04	1,00 ± 0,06	0,80 ± 0,05
	15	3,10 ± 0,09	2,90 ± 0,06	1,20 ± 0,03	0,90 ± 0,04
36	5	Полное свечение	Полное свечение	Полное свечение	Полное свечение
	10	Полное свечение	Полное свечение	Полное свечение	Полное свечение
	15	Полное свечение	Полное свечение	Полное свечение	Полное свечение
Влияние фактора, %		A = 18,68 B = 63,54 C = 2,11 AB = 13,10 AC = 0,00 BC = 0,11		A = 2,37 B = 87,15 C = 6,55 AB = 2,12 AC = 0,30 BC = 1,21	
НСР _{0,5} , %		A = 30,70 B = 30,70 AB = 25,06		A = 3,78 B = 3,78 C = 3,09	

Фактор «А» – концентрация хлорида натрия в рассоле, %; фактор «В» – продолжительность посола, ч; фактор «С» – вид среза.

Factor “A” – concentration of sodium chloride in brine, %; factor “B” – salting time, h; factor “C” – type of cut.

скорость насыщения последним мышечных тканей грудки индейки снижалась. Вследствие этого глубина его проникновения увеличивалась. При 12 ч выдержке мяса в рассоле с увеличением концентрации хлорида натрия глубина его проникновения увеличилась. Аналогичная тенденция наблюдалась и при 24 и 36 ч выдержке мяса в рассоле. Однако при 12 ч выдержке мяса в рассоле с увеличением концентрации хлорида натрия на 5 % увеличивается его глубина проникновения на 0,7 и 1,0 мм, а при 24 ч – 0,8 и 1,0 мм.

Выявлена закономерность глубины проникновения рассола в поперечных срезах бедра мяса индейки. При 24 и 36 ч выдержке в рассоле разница глубины его проникновения при 5 и 10 %-ной концентрации хлорида натрия практически отсутствовала и составляла 0,1 мм. При увеличении концентрации хлорида натрия еще на 5 %, т. е. в образце с 15 %-ной концентрацией соли, произошли изменения в сторону увеличения глубины его проникновения в мышцы при 24 ч выдержке на 0,8 мм и при 36 ч на 0,6 мм.

При анализе значимости факторов, влияющих на глубину проникновения рассола в мышцы грудки индейки при визуальном наблюдении, установлено, что концентрация хлорида натрия рассола (фактор «А») определял 10,5 % вариации изучаемого признака, длительность посола (фактор «В») – 84,54 %, а вид среза (фактор «С») – только 0,10 % (табл. 3). Подобное наблюдали и при анализе значимости факторов, влияющих на глубину проникновения рассола в мышцы бедра индейки при визуальном наблюдении: концентрация хлорида натрия рассола (фактор «А») определял 4,59 % вариации изучаемого признака, длительность посола (фактор «В») – 91,56 %, а вид среза (фактор «С») – 0,02 %.

Видимая часть измененного цвета мышц индейки за счет окисления миоглобина под воздействием хлорида натрия в процессе посола не является фактически видимой глубиной просаливания. В процессе посола из-за диффузионных процессов снижается концентрация хлорида натрия в мышечных тканях. Это приводит к снижению возможности визуализации изменения окраски последних и контролю просаливания.

В таблице 4 представлены результаты исследований глубины проникновения рассола с динатриевой солью флуоресцеина в мышечные ткани индейки, которая определялась по присутствию свечения флуорофора в срезах.

Установлено, что при 5 мин погружении образцов мяса индейки в рассол с динатриевой солью флуоресцеина глубина проникновения не зависела от концентрации хлорида натрия в рассоле, а влияние оказывал только тип мышц.

Как видно из данных рисунков 2 и 3, в грудке индейки проникновение рассола выше, чем в бедре: на продольном срезе в 2 раза, а на поперечном срезе в 3 раза. Связано это с тем, что мышечные ткани грудки более плотные и в них меньше соединительной ткани, препятствующей проникновению рассола. Поэтому наблюдалось равномерное распределение его по всему образцу без видимых изменений (рис. 2). В мышечной ткани бедра много плотной соединительной ткани, в том числе рыхлой жировой. На рисунке 3 четко просматриваются участки набухания мышечной ткани перетянутые соединительной. Это свидетельствует о препятствующей функции последней для прохождения рассола по всему образцу независимо от продолжительности посола бедра индейки. Значимость факторов, влияющих на глубину

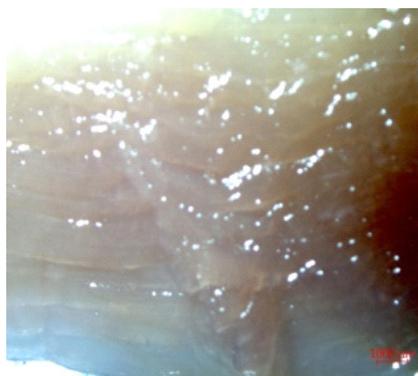


Рисунок 2. Микроструктура мышц продольного среза грудки индейки после посола (концентрация хлорида натрия 10 % в течение 24 ч)

Figure 2. Microstructure of the longitudinal section of turkey breast muscles after brining (sodium chloride concentration = 10%, brining time – 24 h)

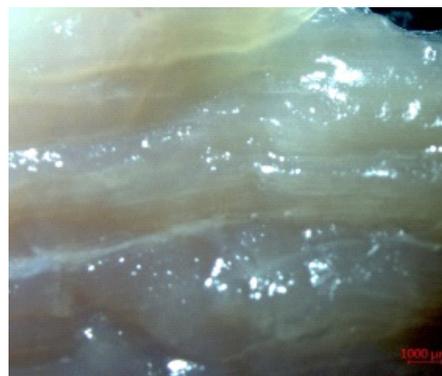


Рисунок 3. Микроструктура мышц продольного среза бедра индейки после посола (концентрация хлорида натрия 10 % в течение 24 ч)

Figure 3. Microstructure of the longitudinal section of turkey thigh muscles after brining (sodium chloride concentration = 10%, brining time – 24 h)



Рисунок 4. Пример глубины проникновения 10 %-ного рассола хлорида натрия с динатриевой солью флуоресцеина в мышцы грудки индейки (поперечный срез) (×2)

Figure 4. Penetration depth of 10% sodium chloride brine with fluorescein disodium salt into turkey breast muscles (cross section) (×2)

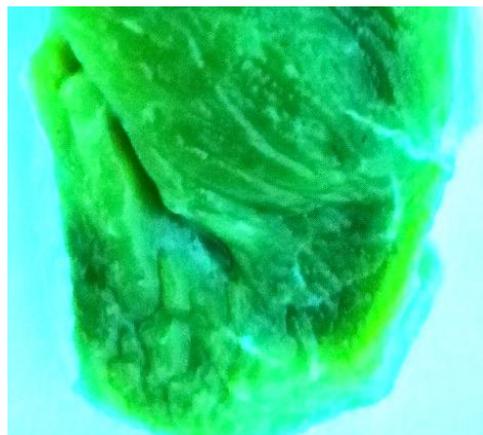


Рисунок 5. Пример глубины проникновения 10 %-ного рассола хлорида натрия с динатриевой солью флуоресцеина в мышцы бедра индейки (поперечный срез) (×2)

Figure 5. Penetration depth of 10% sodium chloride brine with fluorescein disodium salt into turkey thigh muscles (cross section) (×2)

проникновения рассола в мышечные ткани индейки, можно проранжировать следующим образом: грудки – концентрация хлорида натрия в рассоле (фактор «А») > продолжительность посола (фактор «В») > вид среза (фактор «С»); бедра – продолжительность посола (фактор «В») > вид среза (фактор «С») > концентрация хлорида натрия в рассоле (фактор «А»). Необходимо отметить, что значимость концентрации хлорида натрия в рассоле (фактор «А») для мышечных тканей бедра индейки снизился в 8 раз по сравнению с грудными мышцами.

При анализе значимости факторов на глубину проникновения рассола с динатриевой солью флуоресцеина в мышцы грудки индейки по свечению флуорофора под воздействием источников УФ-спектра установлено, что концентрация хлорида натрия в рассоле (фактор «А») определяла 18,68 %

вариации изучаемого признака, длительность посола (фактор «В») – 63,54 %, а тип среза (фактор «С») – только 2,11 %.

Аналогичная тенденция отмечена и при анализе значимости факторов, влияющих на глубину проникновения рассола с динатриевой солью флуорофора под воздействием источников УФ-спектра: концентрация хлорида натрия в рассоле (фактор «А») определяла 2,37 % вариации изучаемого признака, длительность посола (фактор «В») – 87,15 %, а тип среза (фактор «С») – 6,55 %.

Таблица 5. Значимость динатриевой соли флуоресцеина (фактор «D») при определении глубины проникновения рассола в мышечные ткани индейки, %

Table 5. Significance of fluorescein disodium salt (factor “D”) in determining the depth of brine penetration into turkey muscle tissue, %

Фактор «F»	Фактор «C»	Динатриевая соль флуоресцеина в рассоле (фактор «D»)	
		отсутствует	присутствует
Грудка	продольный	23,60	39,48
	НСР _{0,5}	13,12	6,52
	поперечный	33,11	47,39
	НСР _{0,5}	17,81	2,11
Бедро	продольный	15,86	73,85
	НСР _{0,5}	1,01	12,85
	поперечный	24,03	44,93
	НСР _{0,5}	0,74	2,22

Фактор «F» – часть тушки индейки; фактор «D» – наличие/отсутствие динатриевой соли флуоресцеина; фактор «C» – вид среза.

Factor “F” – part of the turkey carcass; factor “D” – presence/absence of fluorescein disodium salt; factor “C” – type of cut.

На рисунках 4 и 5 представлены примеры макроскопических поперечных срезов глубины проникновения 10 %-ного рассола с динатриевой солью флуоресцеина. Интенсивность свечения флуорофора уменьшалась от периферии к центру, поэтому верхняя точка измерения – край образца.

В таблице 5 представлены данные, подтверждающие надежность и объективность использования флуорофора для определения глубины проникновения рассола с хлоридом натрия в крупнокусковое цельномышечное мясо индейки.

Установлено, что, независимо от части тушки (фактор «F») и вида среза (фактор «С»), присутствие динатриевой соли флуоресцеина в рассоле, предназначенном для посола мяса индейки, способствовало точному определению глубины проникновения рассола в мясо индейки.

Выводы

В результате проведенных исследований доказана возможность использования динатриевой соли флуоресцеина при определении одного из основных параметров посола крупнокускового цельномышечного мяса индейки (продолжительности).

Использование указанного флуорофора позволяет легко (не требует дополнительного обучения персонала, дорогостоящего оборудования, реактивов и т. д.), быстро (порядка 30 мин) и достоверно определить просаливание мяса индейки. Это необходимо при разработке и/или модернизации продукции.

На основании проведенных исследований получен патент на изобретение № 2740386 «Способ установления глубины проникновения рассола в цельномышечные куски мяса индейки».

Разработанный способ по установлению глубины проникновения рассола, содержащего разные концентрации хлорида натрия, с использованием флуорофора является перспективным в определении глубины просаливания и для других видов мяса, поскольку апробация проведена на различных типах мышц индейки, имеющих различия в тканевом комплексе.

Критерии авторства

Г. П. Чекрыга руководила работой. Все авторы принимали участие в исследованиях и обработке данных, написании текстов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

G.P. Chekryga supervised the project. All the authors are equally responsible for the research procedure, data processing, and manuscript.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Буяров А. В., Буяров В. С. Роль отрасли птицеводства в обеспечении продовольственной безопасности России // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. № 7. С. 84–95.
2. Мясо индейки в продуктах специализированного питания / И. Л. Стефанова [и др.] // Мясная индустрия. 2019. № 3. С. 37–39.
3. Мясо индейки: производство, состав и свойства / В. В. Насонова [и др.] // Мясная индустрия. 2019. № 11. С. 36–40.
4. Morphological, textural and physico-chemical characterization of processed meat products during their shelf life / E. Melro [et al.] // Food Structure. 2020. Vol. 26. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2020.100164>.
5. Потипаева Н. Н., Мышалова О. М., Лютина А. С. Ветчинные изделия из мяса индейки // Мясная индустрия. 2014. № 10. С. 18–20.
6. Моисеева Н. С., Мотовилов О. К. Разработка и исследование показателей качества копчено-запеченного продукта из мяса индейки // Индустрия питания. 2020. Т. 5. № 1. С. 44–49. <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2020-5-1-5>.
7. Совершенствование технологии посола ферментированных продуктов из мяса маралов / О. М. Мышалова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2018. Т. 48. № 4. С. 66–72. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-66-72>.
8. Прокопенко И. А. Интенсификация процесса посола мяса птицы с помощью высокого гидростатического давления // Птица и птицепродукты. 2019. № 4. С. 23–25. <https://doi.org/10.30975/2073-4999-2019-21-4-23-25>.
9. Yalçın M. Y., Şeker M. Effect of salt and moisture content reduction on physical and microbiological properties of salted, pressed and freeze dried turkey meat // LWT – Food Science and Technology. 2016. Vol. 68. P. 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.032>.
10. Потороко И. Ю., Цирульниченко Л. А. Исследование кинетических закономерностей посола мяса птицы с использованием кавитационно активированных жидких сред // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2014. Т. 2. № 3. С. 21–28.

11. Up-conversion fluorescent labels for plastic recycling: A review / G. Gao [et al.] // *Advanced Sustainable Systems*. 2017. Vol. 1. № 5. <https://doi.org/10.1002/adsu.201600033>.
12. Inorganic fluorescent marker materials for identification of post-consumer plastic packaging / J. Woidasky [et al.] // *Resources, Conservation and Recycling*. 2020. Vol. 161. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.104976>.
13. A simple and highly sensitive masking fluorescence detection system for capillary array electrophoresis and its application to food and medicine analysis / W. Yu [et al.] // *Journal of Chromatography A*. 2020. Vol. 1620. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460968>.
14. Development of a fluorescence aptasensor for rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* in food / R. Liu [et al.] // *Food Control*. 2021. Vol. 122. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107808>.
15. Determination of pungency in spicy food by means of excitation-emission fluorescence coupled with second-order chemometric calibration / O. Monago-Maraña [et al.] // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2018. Vol. 67. P. 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.031>.
16. Fluorescence determination of trace level of cadmium with pyrene modified nanocrystalline cellulose in food and soil samples / S. O. Tümay [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. 2020. Vol. 146. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111847>.
17. Cooksey C. J. Quirks of dye nomenclature. 9. Fluorescein // *Biotechnic and Histochemistry*. 2017. Vol. 92. № 7. P. 506–512. <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1359751>.
18. Highly luminescent sensing for nitrofurans and tetracyclines in water based on zeolitic imidazolate framework-8 incorporated with dyes / Y.-Q. Zhang [et al.] // *Talanta*. 2019. Vol. 204. P. 344–352. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.019>.
19. A novel method for predicting antioxidant activity based on amino acid structure / A. R. Garrett [et al.] // *Food Chemistry*. 2014. Vol. 158. P. 490–496. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.102>.
20. Microwave and ultrasound pre-treatments to enhance anthocyanins extraction from different wine lees / R. Romero-Díez [et al.] // *Food Chemistry*. 2019. Vol. 272. P. 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.016>.

References

1. Buyarov AV, Buyarov VS. The role of the poultry industry in ensuring food security in Russia. *Vestnik of Kursk State Agricultural Academy*. 2020;(7):84–95. (In Russ.).
2. Stefanova IL, Kulishev BV, Shakhnazarova LV, Timoshenko NV. Turkey in the products of specialized nutrition. *Meat Industry*. 2019;(3):37–39. (In Russ.).
3. Nasonova VV, Tunieva EK, Motovilina AA, Mileenkova EV. Turkey meat: production, composition and properties. *Meat Industry*. 2019;(11):36–40. (In Russ.).
4. Melro E, Antunes F, Cruz I, Ramos PE, Carvalho F, Alves L. Morphological, textural and physico-chemical characterization of processed meat products during their shelf life. *Food Structure*. 2020;26. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2020.100164>.
5. Potipaeva NN, Myshalova OM, Lyutina AS. Ham products from turkey meat. *Meat Industry*. 2019;(10):18–20. (In Russ.).
6. Moiseeva NS, Motovilov OK. Quality and safety indicators development of smoked and baked turkey meat product. *Food Industry*. 2020;5(1):44–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2020-5-1-5>.
7. Myshalova OM, Gurinovich GV, Patrakova IS, Seregin SA. Improving the salting technology for fermented maral meat products. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2018;48(4):66–72. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-66-72>.
8. Prokopenko IA. The intensification of the process of salting poultry meat using highhydrostatic pressure. *Poultry and Poultry Processing*. 2019;(4):23–25. (In Russ.). <https://doi.org/10.30975/2073-4999-2019-21-4-23-25>.
9. Yalçın MY, Şeker M. Effect of salt and moisture content reduction on physical and microbiological properties of salted, pressed and freeze dried turkey meat. *LWT – Food Science and Technology*. 2016;68:153–159. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.032>.
10. Potoroko IYu, Tsurulnichenko LA. Analysis of kinetic regularities of poultry curing with the use of cavitating active liquid media. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology*. 2014;2(3):21–28. (In Russ.).
11. Gao G, Turshatov A, Howard IA, Busko D, Joseph R, Hudry D, et al. Up-conversion fluorescent labels for plastic recycling: A review. *Advanced Sustainable Systems*. 2017;1(5). <https://doi.org/10.1002/adsu.201600033>.
12. Woidasky J, Sander I, Schau A, Moesslein J, Wendler P, Wacker D, et al. Inorganic fluorescent marker materials for identification of post-consumer plastic packaging. *Resources, Conservation and Recycling*. 2020;161. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.104976>.
13. Yu W, Yu X, Han X, Wang S, Chen Z, Zhai H. A simple and highly sensitive masking fluorescence detection system for capillary array electrophoresis and its application to food and medicine analysis. *Journal of Chromatography A*. 2020;1620. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.460968>.

14. Liu R, Zhang Y, Ali S, Haruna SA, He P, Li H, et al. Development of a fluorescence aptasensor for rapid and sensitive detection of *Listeria monocytogenes* in food. *Food Control*. 2021;122. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107808>.
15. Monago-Maraña O, Guzmán-Becerra M, Muñoz de la Peña A, Galeano-Díaz T. Determination of pungency in spicy food by means of excitation-emission fluorescence coupled with second-order chemometric calibration. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2018;67:10–18. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.031>.
16. Tümay SO, Şanko V, Demirbas E, Şenocak A. Fluorescence determination of trace level of cadmium with pyrene modified nanocrystalline cellulose in food and soil samples. *Food and Chemical Toxicology*. 2020;146. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111847>.
17. Cooksey CJ. Quirks of dye nomenclature. 9. Fluorescein. *Biotechnic and Histochemistry*. 2017;92(7):506–512. <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1359751>.
18. Zhang Y-Q, Wu X-H, Mao S, Tao W-Q, Li Z. Highly luminescent sensing for nitrofurans and tetracyclines in water based on zeolitic imidazolate framework-8 incorporated with dyes. *Talanta*. 2019;204:344–352. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.019>.
19. Garrett AR, Weagel EG, Martinez AD, Heaton M, Robison RA, O'Neill KL. A novel method for predicting antioxidant activity based on amino acid structure. *Food Chemistry*. 2014;158:490–496. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.102>.
20. Romero-Díez R, Matos M, Rodrigues L, Bronze MR, Rodríguez-Rojo S, Cocero MJ, et al. Microwave and ultrasound pre-treatments to enhance anthocyanins extraction from different wine lees. *Food Chemistry*. 2019;272:258–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.016>.

Определение теплофизических характеристик тропических фруктов для их использования при производстве сухих молочных продуктов

И. А. Короткий^{ORCID}, Е. Н. Неверов*^{ORCID}, А. А. Владимиров^{ORCID},
О. А. Неверова^{ORCID}, Л. А. Проскурякова^{ORCID}



Кемеровский государственный университет^{ORCID}, Кемерово, Россия

Дата поступления в редакцию: 12.10.2020

Дата принятия в печать: 10.12.2020



© И. А. Короткий, Е. Н. Неверов, А. А. Владимиров, О. А. Неверова, Л. А. Проскурякова, 2021

*e-mail: neverov42@mail.ru

Аннотация.

Введение. При разработке технологий консервирования неизбежно используют теплофизические расчеты процессов переработки сырья. Целью настоящей работы являлся анализ теплофизических характеристик тропических фруктов.

Объекты и методы исследования. Тропические фрукты: киви, папайя, авокадо и инжир. Для анализа теплопроводности использовался стационарный метод плоского слоя. Криоскопическая температура определялась по пологой площадке термограммы, полученной в ходе замораживания продукта. Теплоемкость и количество вымороженной влаги определяли расчетным путем на основании известного химического состава продукта. Для определения плотности использовался метод гидростатического взвешивания. Сахаросодержание определялось рефрактометрическим методом. Влагосодержание определялось методом высушивания до постоянной массы.

Результаты и их обсуждение. Определены физико-химические показатели киви, авокадо, папайи и инжира. Наибольшее влагосодержание наблюдается у плодов папайи и составляет $86,32 \pm 0,02$ %, а наибольшая плотность у киви – 1065 ± 1 кг/м³. Большое количество сахаров наблюдается у инжира – $16,0 \pm 0,1$ %. Экспериментальным путем был определен коэффициент теплопроводности тропических фруктов в свежем и в замороженном виде. Установлено, что после замораживания коэффициент теплопроводности продуктов повышается. По сравнению со свежим продуктом у замороженного авокадо незначительно повысился коэффициент теплопроводности, что объясняется его меньшим влагосодержанием. В 3,3 раза повысился коэффициент теплопроводности инжира. Данный продукт обладает самой большой теплопроводностью среди исследуемых плодов как в свежем, так и в замороженном виде – $0,63 \pm 0,02$ и $2,06 \pm 0,02$ Вт/(м·К) соответственно. Коэффициент теплопроводности киви и папайи повысился в 2 и 4,2 раза соответственно. Проанализировано влияние наличия пленки и спелости продукта на коэффициент теплопроводности. Обнаружено, что наличие пленки отрицательно сказывается на достоверности анализа теплофизических свойств. Эмпирическим путем определена криоскопическая температура. Расчетно-экспериментальным путем определены остальные теплофизические свойства тропических фруктов, такие как теплоемкость, температуропроводность, а также количество вымороженной влаги.

Выводы. Определены физико-химические показатели киви, авокадо, папайи и инжира. Экспериментальным путем был исследован коэффициент теплопроводности тропических фруктов в свежем и в замороженном виде. Полученные значения могут быть использованы в теплотехнических расчетах при разработке новых продуктов, для определения режимов холодильной и тепловой обработки, для разработок технологий обогащения экзотическими фруктами продуктов молочной, хлебопекарной и других отраслей промышленности.

Ключевые слова. Папайя, киви, авокадо, инжир, теплопроводность, тепловой поток, замороженная продукция, свежая продукция

Для цитирования: Определение теплофизических характеристик тропических фруктов для использования их при производстве сухих молочных продуктов / И. А. Короткий [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 220–231. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-220-231>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Thermophysical Characteristics of Tropical Fruits in Milk Powder Products

Igor A. Korotkiy^{ORCID}, Evgeny N. Neverov*^{ORCID},
Alexander A. Vladimirov^{ORCID}, Olga A. Neverova^{ORCID}, Larisa A. Proskuryakova^{ORCID}



Abstract.

Introduction. Canning requires thermophysical calculations for thermal or cold processing. These calculations are based on thermophysical characteristics of raw materials. The research objective was to analyze the thermophysical characteristics of tropical fruits.

Study objects and methods. The study featured kiwi, papaya, avocado, and figs. Their thermal conductivity was analyzed with the help of stationary fiber plate method. The cryoscopic temperature was determined from the flat area of the thermogram obtained during freezing. The heat capacity and the amount of frozen moisture were determined by calculation based on the available data on the chemical composition of the fruits. The density was defined by using the hydrostatic weighing method, the sugar content – by the refractometric method, the moisture content – by drying to constant mass.

Results and discussion. The research revealed the physicochemical parameters of kiwi, avocado, papaya, and figs. Papaya demonstrated the highest moisture content – $86.32 \pm 0.02\%$, while kiwi appeared to have the highest density – $1,065 \pm 1 \text{ kg/m}^3$. Figs had the highest sugar content – $16.0 \pm 0.1\%$. The thermal conductivity coefficient of fresh and frozen tropical fruits was determined experimentally and increased after freezing. Frozen avocado showed only a slight increase in thermal conductivity coefficient because of its low moisture content while frozen figs demonstrated a significant increase in the thermal conductivity coefficient – by 3.3 times. This product possessed the highest thermal conductivity: $0.63 \pm 0.02 \text{ W/(m} \cdot \text{K)}$ for the fresh samples and $2.06 \pm 0.02 \text{ W/(m} \cdot \text{K)}$ for the frozen samples. The thermal conductivity coefficient of kiwi and papaya increased by 2 and 4.2 times, respectively. The experiment also examined the effect of protective plastic wrap and ripeness on the thermal conductivity coefficient. The film proved to have a negative effect on the reliability of thermophysical analysis. The cryoscopic temperature was determined empirically. Such thermophysical properties as heat capacity, thermal diffusivity, and frozen moisture were based on the available chemical composition.

Conclusion. The research revealed the physicochemical parameters of kiwi, avocado, papaya, and figs. It included a set of experiments on the thermal conductivity coefficient of fresh and frozen tropical fruits. The obtained values can be used to develop the optimal parameters of thermal processing, refrigeration, and thermal treatment of new products. They can also be useful for fortifying dairy and bakery products with exotic fruits.

Keywords. Papaya, kiwi, avocado, figs, thermal conductivity, heat flux, frozen products, fresh products

For citation: Korotkiy IA, Neverov EN, Vladimirov AA, Neverova OA, Proskuryakova LA. Thermophysical Characteristics of Tropical Fruits in Milk Powder Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):220–231. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-220-231>.

Введение

Тропические фрукты завоевывают все большую популярность на российском потребительском рынке. Растет ассортимент пищевых продуктов, в которые в качестве ингредиентов включены тропические фрукты.

Важным этапом технологического проектирования производства пищевых продуктов являются теплофизические расчеты процессов переработки пищевого сырья и готового продукта [1, 2]. Для проведения соответствующих расчетов необходимо знать теплофизические характеристики сырьевой базы [3–5]. К основным характеристикам относятся коэффициент теплопроводности и температуропроводности, а также удельная теплоемкость [6–8]. В низкотемпературных процессах переработки, связанных с охлаждением, замораживанием, криоконцентрированием и сублимацией, важными характеристиками являются криоскопические и эвтектические температуры [9].

В отечественной справочной литературе недостаточно информации о теплофизических

показателях ряда продуктов, например, тропических фруктов. В иностранной литературе есть научные работы, связанные с исследованием теплофизических свойств фруктов и продуктов их переработки, но они не охватывают весь спектр данного сырья [10–13]. Тропические фрукты являются биологически ценным сырьем. Они способны не только расширить рацион питания людей, но и могут использоваться как витаминосодержащие добавки при производстве функциональных продуктов [14–21]. Тропические фрукты и овощи широко используются. Например, в качестве добавки в кисломолочные продукты – йогурты, сырки, творожки, в кондитерской промышленности, при добавлении в мороженое и т. д. [22, 23]. Во многих случаях используется тепловая или холодильная обработка. Знания о теплофизических характеристиках необходимы для расчета соответствующих технологических процессов. В литературе отсутствуют сведения об анализе теплофизических характеристик тропических фруктов.

Поэтому определение теплофизических характеристик тропических фруктов является актуальной задачей.

Одна из теплофизических характеристик – коэффициент теплопроводности – должна определяться экспериментально, т. к. данный коэффициент не подчиняется закону аддитивности. Поэтому он не может быть точно определен аналитическим методом. Экспериментальный метод позволяет определить коэффициент теплопроводности того или иного продукта непосредственно из привезенной партии. Это особенно ценно в условиях производства.

Разработка и конструирование установки для определения теплопроводности представляет собой определенные трудности. Готовые решения имеют большую стоимость вследствие сложности их изготовления и дороговизны входящих в состав установки элементов, а также в результате автоматизации таких установок.

Способы получения коэффициента теплопроводности делятся на две группы: стационарные и нестационарные. При стационарном способе достигается такое состояние системы, когда поверхности продукта изотермичны, а тепловой поток постоянен; полученные данные вносятся в формулу и производится расчет. Нестационарные методы требуют более сложного оборудования. Они сложнее в изготовлении, т. к. могут включать в себя электродвигатели, сервоприводы, лазеры, инфракрасные датчики тепла и другие элементы. Главным преимуществом этой группы методов является скорость.

Целью настоящей работы стало определение теплофизических свойств тропических фруктов. Выбор объектов исследования обусловлен тем, что в настоящее время наблюдается рост экспорта тропической плодоовощной продукции. На рынке растут поставки как уже известных российскому покупателю фруктов (манго, авокадо, киви, бананы), так и новых видов (папайя, мангустин, маракуйя и др.). Также появляются новые продукты с тропическими фруктами: соки, сывороточно-соковые продукты, пюре, йогурты, фруктовые консервированные коктейли, мороженое.

Однако базы теплофизических данных по этим продуктам пополняются с задержкой, узнать важные теплофизические характеристики зачастую представляется затруднительным. Особенно это касается российских ресурсов научных работ. В скором времени это может измениться: осваивается выращивание тропических фруктов в субтропических районах нашей страны; увеличивается экспорт тропических фруктов и спрос на них. Растет потребность населения в витаминизированных продуктах и продуктах с функциональным назначением. На основании проведенных в 2011 г.

исследований можно сделать вывод, что тропические фрукты достаточно популярны в нашей стране [24]. По данным социальных опросов, в десятку самых популярных вошли: ананас, киви, кокос, авокадо, банан, манго, фейхоа, папайя, мандарины и апельсины. В порядке убывания популярности их можно расположить так: ананас, банан, киви, авокадо, манго, кокос и мандарин.

Из данных фруктов для применения разработанной установки выбраны киви, авокадо и папайя. Данный выбор обусловлен высокой биологической ценностью, а также их малой изученностью с точки зрения теплофизических свойств [15]. Также для исследований выбран наиболее сахаросодержащий тропический фрукт – инжир. Содержание сахара в нем может превышать 30 %. В данном продукте наблюдается высокая концентрация калия и железа. Кожура инжира, плоды и листья, но в меньшей степени, насыщены фенольными соединениями, которые подавляют окислительный процесс.

Киви богат витаминами, макро- и микроэлементами, содержит много пищевых волокон и умеренно сахаров. Порция размером в полтора плода обеспечивает суточную потребность в витамине С. Особенно большое количество витамина К. Порция фрукта обеспечивает треть суточной потребности организма в витамине К и 1/10 нормы в витамине Е. В киви присутствует большое количество калия, меди, достаточно марганца, фосфора и магния.

Авокадо содержит больше жира, чем любой другой фрукт. В авокадо около 15 % жира, 2 % белков и 2 % углеводов. Также содержит большое количество пищевых волокон: один фрукт способен обеспечить от 45 до 60 % суточной потребности взрослого человека в этом элементе.

В папайе присутствует широкий спектр заменимых и незаменимых аминокислот. Уникальность папайи в том, что в ней содержится много фермента, который называется папаин. Это протеаза, смягчающая мясо. В связи с этим папайю рекомендуется употреблять при необходимости улучшения пищеварения и при проблемах с желудочно-кишечным трактом.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись следующие фрукты: киви, папайя, авокадо и инжир.

Существует ряд факторов, искажающих коэффициент теплопроводности, полученный экспериментальным путем. Некоторые из них зависят от свойств исследуемого вещества, некоторые сопряжены с методом проведения измерений.

Одним из таких факторов является утечки тепла. Эта проблема существует в установках, где количество пройденного через продукт тепла измеряется при помощи двух приборов: амперметра и вольтметра. Несмотря на точность определения теплового потока,

выделяемого используемыми нагревательными элементами, этими приборами, нельзя гарантировать, что весь тепловой поток проходит через исследуемый образец. Иными словами, нельзя точно учесть тепловые потери через щели, неплотности установки и прочие места, где могут произойти теплопотери. Практика показывает, что в электросетях происходит колебание напряжения, которое сказывается на потреблении тока нагревательным элементом. Поэтому тепловой поток приходится принимать за синусоиду неправильной формы и принимать некое усредненное его значение. Таким образом, создание истинно стационарного режима представляется сложным. Решить эту проблему позволяют электронные измерители теплового потока

Следующий отрицательный фактор – тепло, передаваемое от нагревателя установки при помощи излучения. На практике при установлении стационарного режима в установке, хоть и удается добиться минимальных колебаний температур на поверхности продукта, периодическое включение нагревателя создает некую «пульсацию» теплового потока, которая негативно сказывается на точности эксперимента. Для решения этой проблемы можно, во-первых, использовать защитный экран из ткани; во-вторых, уменьшить колебания теплового потока благодаря компенсационному нагревателю, который будет работать в промежутках между включениями основного нагревателя.

Температурный скачок на границе твердого тела и газа относится к измерению теплопроводности газов и не относится к плодоовощной продукции. Проблемой в данном случае является то, что реальный

градиент температуры в слое исследуемого вещества меньше, чем на его изотермических поверхностях, в результате небольшой плотности исследуемого вещества. К телам твердой формы это не относится, т. к. их молекулы плотно прилегают друг к другу и теплопередача проходит лучше.

Для определения теплопроводности использовался известный стационарный метод плоского слоя. Схема установки, в которой реализован данный метод, представлена на рисунке 1. Данная установка была собрана на кафедре теплохладотехники КемГУ.

В качестве нагревательного элемента выступает лампа накаливания мощностью 40 Вт. Продукт устанавливается в отверстие 3. Далее к продукту подключаются термопары 5, датчик теплового потока 4 и плотно закрывается крышка. Включается основной нагреватель 8. Он работает пока температура в измерительной ячейке не достигнет заданного значения. После этого нагреватель 8 отключается и подключается компенсационный нагреватель 2. В качестве компенсационного нагревателя используется гибкий ТЭН мощностью 320 Вт. Он обеспечивает стабильный тепловой поток через продукт и стабильную температуру у его поверхности. Плотность теплового потока регистрируется датчиком 4. В качестве датчика 4 выступает измеритель теплового потока ЦИТ-2 ИТП («УралПромТэк», Россия). Термопары 5 фиксируют температурное поле на поверхностях продукта. Термопары 6 и 7 контролируют температуру нагревающей и охлаждающей прослоек газа у поверхностей исследуемого образца. После установления стационарного режима берутся полученные температуры на поверхностях продукта и тепловой поток через продукт.

Измерительная ячейка в данной установке представлена прямоугольным отверстием в верхней стенке камеры нагревания. Образец, установленный в данное отверстие, соприкасается с внутренним и наружным воздухом. При проведении эксперимента учитываются параметры наружного воздуха. Если нужно провести эксперимент с замороженным продуктом, то вся установка помещается в морозильную камеру. Когда продукт полностью замерзает, то включается контроллер и нагревательный элемент. Когда система приходит к тепловому равновесию, снимаются показания термопар и датчика теплового потока и производятся расчеты. Высота слоя продукта в ячейке может быть различной: от 10 до 30 мм. Оптимальна высота слоя около 20 мм. Для точного измерения теплового потока его датчик плотно прилегает к продукту через слой терморасты.

Коэффициент теплопроводности образца продукта измерялся по следующей формуле:

$$\lambda_c = \frac{Q}{t_{c1} - t_{c2}} \Phi \quad (1)$$

где Q – тепловой поток при стационарном

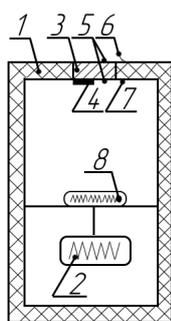


Рисунок 1. Схема установки для измерения теплопроводности: 1 – корпус; 2 – основной нагревательный элемент; 3 – отверстие для установки образца продукта; 4 – датчик теплового потока; 5 – термопары, измеряющие перепад температуры образца; 6, 7 – термопары, измеряющие температуру наружного и внутреннего воздуха; 8 – компенсационный нагреватель

Figure 1. Measuring unit for thermal conductivity: 1 – case; 2 – the main heating set; 3 – hole for product sample; 4 – heat flow sensor; 5 – thermocouples that measure the temperature drop of the sample; 6, 7 – thermocouples that measure outside and inside air temperature; 8 – compensation heater

режиме, Вт; Φ – коэффициент формы исследуемого продукта, м⁻¹; t_{c1} и t_{c2} – температуры на изотермических сторонах образца, °С.

При этом коэффициент формы учитывает геометрическую форму образца и для плоского образца определяется по следующей формуле:

$$\Phi = \frac{\delta_c}{F} \quad (2)$$

где δ_c – толщина плоского слоя, м; F – площадь поверхности, к которой приложен тепловой поток, м².

Толщина слоя продукта составляла 20 мм. Фрукты нарезались на специально сооруженных для этого приспособлениях с параллельно расположенными лезвиями. Благодаря этому удавалось сохранить правильные линейные размеры.

Теплопроводность определялась в свежем и замороженном виде. В первом случае температура внутри установки поддерживалась на уровне $55,0 \pm 0,5$ °С. Во втором случае внутри установки поддерживалась температура в $10,0 \pm 0,5$ °С. Образец брался с температурой $-25,0 \pm 0,5$ °С. При большей температуре нагрева образец приближается по температуре к криоскопической точке и начинает таять. Чтобы на охлаждаемой поверхности продукта достичь отрицательной температуры, установку помещали в морозильную камеру.

Теплоемкость определяли расчетным путем по следующей формуле:

$$C = 1,424m_y + 1,549m_b + 1,675m_{ж} + 0,837m_z + 4,187m_g \quad (3)$$

где m_y , m_b , $m_{ж}$, m_z , m_g – массовые доли углеводов, белков, жиров, золы и влаги соответственно.

В формуле 3 перед массовыми долями стоит коэффициент регрессии.

При расчете теплоемкости замороженных фруктов учитывалась также теплоемкость льда при температуре -5 °С.

Для определения криоскопической температуры продукт очищался от кожицы. Далее в его геометрический центр, на поверхность и в расчетную точку устанавливались термодатчики. В морозильной камере поддерживалась температура от -15 до -20 °С. Данные эксперимента фиксировались каждые 30 сек с последующей компьютерной обработкой и построением графиков.

Коэффициент температуропроводности определяли расчетно-экспериментальным путем по следующей формуле:

$$\alpha = \frac{\lambda}{\rho \cdot C} \quad (4)$$

где α – температуропроводность, м²/с; λ – коэффициент теплопроводности вещества, Вт/(м·К); ρ – плотность исследуемого вещества, кг/м³; C – удельная теплоемкость, кДж/(кг·К).

Для определения плотности использовался метод гидростатического взвешивания. Образец взвешивался при помощи электронных весов с точностью 0,001 г. Плотность материала по результатам гидростатического взвешивания рассчитывали по формуле:

$$\rho = \frac{P_1\rho_{ж} - P_2\rho_{в}}{P_1 - P_2} \quad (5)$$

где P_1 – вес образца в воздухе, Н; P_2 – вес образца в жидкости, Н; $\rho_{ж}$ – плотность жидкости, кг/м³; $\rho_{в}$ – плотность воздуха, кг/м³

Сахаросодержание определялось по ГОСТ 15113.6-77 рефрактометрическим методом.

Влагосодержание устанавливали по ГОСТ 15113.4-77 методом высушивания до постоянной массы.

Количество вымороженной влаги определялось по следующей формуле:

$$\omega = 1 - \frac{t_{кр}}{t} \quad (6)$$

где t , $t_{кр}$ – значения конечной среднеобъемной температуры замороженного продукта и криоскопической температуры, взятые по абсолютной величине, соответственно; ω – процент вымороженной влаги (при криоскопической температуре $\omega = 0$, при эвтектической – $\omega = 1$ или 100 %)

Данная характеристика рассчитывалась для продуктов, теплопроводность которых измерялась в замороженном виде. Данные брались из опытов.

Результаты и их обсуждение

Влагосодержание, плотность и сахаросодержание являются важными характеристиками, влияющими на теплофизические свойства. Влагосодержание – это количество химически не связанной с продуктом воды, т. е. свободной влаги, представленной в виде воды и водных растворов сахаров, солей и других составляющих сока плодовоовощной продукции.

Плотность представляет собой характеристику, отвечающую за расположение молекул продукта и его структуру. Чем больше в продукте воды, тем у него выше плотность. Чем больше газовых включений, тем плотность ниже. Плотность зависит и от органического состава продукта. Чем выше плотность, тем выше теплопроводность и наоборот.

Сахаросодержание – важная характеристика состава продукта, которая влияет на теплопроводность замороженного продукта, потому что сахар образует с водой раствор сахара. Это понижает точку замерзания воды в продукте, содержание вымороженной влаги и теплопроводность.

Данные по исследованию вышеперечисленных характеристик приведены в таблице 1.

Наибольшее влагосодержание ($86,32 \pm 0,02$ %) наблюдается у плодов папайи, а наибольшая плотность (1065 ± 1 кг/м³) у киви. По количеству сахаров среди всех исследуемых продуктов преобладает инжир.

Таблица 1. Физико-химические характеристики тропических фруктов

Table 1. Physical and chemical characteristics of tropical fruits

Наименование	Влага, %	Плотность, кг/м ³	Сахара, %	Сухие вещества, %
Киви	83,87 ± 0,02	1065 ± 1	13,0 ± 0,1	16,13 ± 0,02
Авокадо	77,42 ± 0,02	928 ± 1	–	22,58 ± 0,02
Папайя	86,32 ± 0,02	1049 ± 1	11,5 ± 0,1	13,68 ± 0,02
Инжир	80,65 ± 0,02	754 ± 1	16,0 ± 0,1	19,35 ± 0,02

На рисунке 2 приведена термограмма, полученная при экспериментальном определении коэффициента теплопроводности папайи. На рисунке 3 приведен график изменения плотности теплового потока.

Изменение теплового потока можно разбить на три стадии. На первой стадии в течение первых 15 мин установка выходит на режим. Температура воздуха внутри установки повышается с $22,0 \pm 0,5$ до $56,0 \pm 0,5$ °С. На второй стадии происходит снижение плотности теплового потока. Эта стадия объясняется тем, что воздух больше не подогревается, а поверхность продукта продолжает нагреваться. Поэтому разность температур между ними падает и тепловой поток снижается. В дальнейшем температура в камере держится на уровне $55,0 \pm 0,5$ °С. Стационарный режим (3 стадии) наступил приблизительно через 120 мин. Температура нагреваемой и охлаждаемой поверхности продукта составляла $39,0 \pm 0,1$ и $31,0 \pm 0,1$ °С соответственно.

По результатам исследования коэффициент теплопроводности для папайи составил $0,37 \pm 0,02$ Вт/(м·К), для киви – $0,56 \pm 0,02$ Вт/(м·К), для

авокадо – $0,40 \pm 0,02$ Вт/(м·К), для инжира – $0,63 \pm 0,02$ Вт/(м·К).

Киви представляет особый интерес для исследований теплопроводности. Представленный в данной таблице коэффициент дан для зеленой мякоти киви. Тепловой поток был направлен параллельно волокнам плода. Выявлено, что в плоде температурное поле располагается неравномерно. Коэффициент теплопроводности белой середины плода меньше и составляет $0,42 \pm 0,02$ Вт/м². А коэффициент теплопроводности при тепловом потоке, направленном перпендикулярно волокнам, составляет $0,49 \pm 0,02$ Вт/м². Можно сделать вывод, что в результате своей структуры киви не подчиняется закону аддитивности.

Коэффициент теплопроводности папайи в свежем виде близок к коэффициенту теплопроводности яблока. Это обусловлено ее структурой, которая схожа со структурой яблока. Структура киви может содержать относительно большое количество газовых включений, значительно снижающие теплопроводность.

Относительно низкая теплопроводность авокадо объясняется его структурой, что вызвано относительно низким содержанием влаги и большим содержанием жиров.

У инжира теплопроводность выше, чем у воды. Это обусловлено тем, что в воде, содержащейся в инжире, много растворенных сахаров. Кроме того

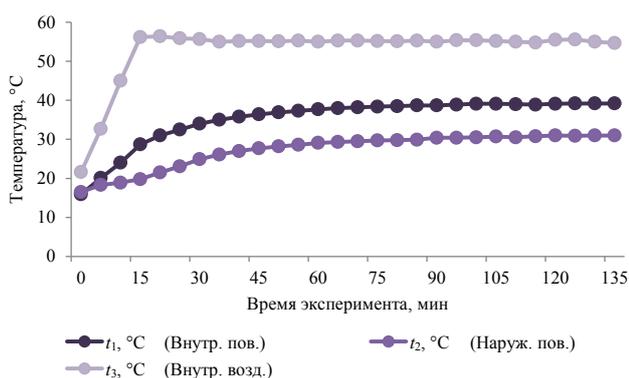


Рисунок 2. Термограмма процесса определения коэффициента теплопроводности папайи:

t_1 – температура нагреваемой поверхности образца;
 t_2 – температура охлаждаемой поверхности образца;
 t_3 – температура воздуха внутри установки

Figure 2. Thermogram of the thermal conductivity coefficient of papaya: t_1 – temperature of heated surface; t_2 – temperature of cooled surface; t_3 – inside air temperature

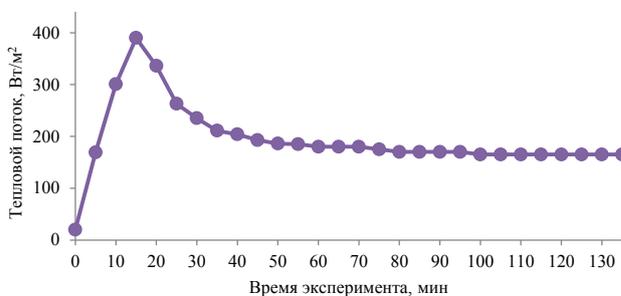


Рисунок 3. График плотности теплового потока при определении коэффициента теплопроводности папайи

Figure 3. Thermal conductivity coefficient of papaya: heat flux density

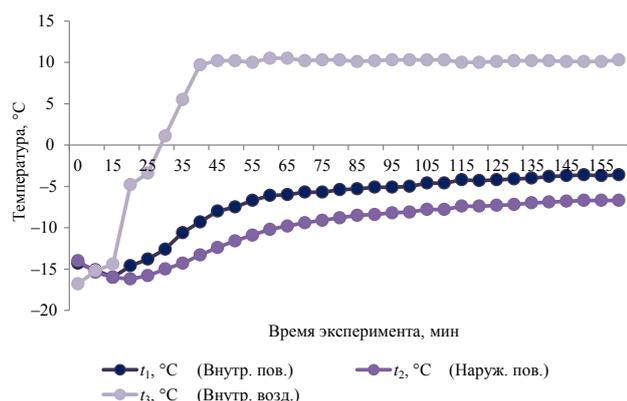


Рисунок 4. Термограмма процесса определения коэффициента теплопроводности замороженного киви: t_1 – температура нагреваемой поверхности образца; t_2 – температура охлаждаемой поверхности образца; t_3 – температура воздуха внутри установки

Figure 4. Thermogram of the thermal conductivity coefficient of frozen kiwi: t_1 – temperature of heated surface; t_2 – temperature of cooled surface; t_3 – inside air temperature

структура инжира содержит относительно мало газовых включений.

Далее проводили аналогичные исследования для замороженных продуктов.

Термограмма процесса при исследовании замороженных плодов отличается от термограммы обработки свежих. На рисунке 4 приведена термограмма измерения коэффициента теплопроводности замороженного киви.

Вначале наблюдается снижение температур на внутренней и наружной поверхности продукта. Объясняется это тем, что тепловой поток через продукт вначале отсутствует или он незначителен. При этом съем энергии с охлаждаемой поверхности образца происходит интенсивно. Особенно это заметно на кривой наружной поверхности образца.

Далее наблюдается рост разницы температур между поверхностями, т. е. увеличивается градиент внутри образца. Это можно объяснить эффектом «скачка» температур на разделении сред продукт – воздух. После стадии скачка температуры на поверхности можно наблюдать стадию регулярного режима. При этом градиент температуры в продукте неизменен, а повышение температур происходит с одинаковой скоростью.

Стационарный режим наступает приблизительно со 150-й минуты. Температуры в образце образуют неизменный во времени градиент и две изотермические поверхности. Перепад температур в замороженном продукте меньше, чем при эксперименте со свежим продуктом. Это объясняется большей теплопроводностью замороженного продукта из-за перехода воды в лед.

Таблица 2. Результаты исследования коэффициента теплопроводности замороженных тропических фруктов при температуре $-5,0 \pm 0,5$ °C

Table 2. Thermal conductivity coefficient of frozen tropical fruits at $t = -5.0 \pm 0.5$ °C

Наименование	Коэффициент теплопроводности Вт/(м·К)
Киви	$1,13 \pm 0,02$
Папайя	$1,65 \pm 0,02$
Авокадо	$0,97 \pm 0,02$
Инжир	$2,06 \pm 0,02$

Коэффициенты теплопроводности остальных исследованных замороженных тропических фруктов приведены в таблице 2.

По сравнению со свежим продуктом у замороженного авокадо незначительно повысился коэффициент теплопроводности, что, согласно литературным данным, объясняется его меньшим влагосодержанием. В 3,3 раза повысился коэффициент теплопроводности инжира. Инжир обладает самой большой теплопроводностью среди исследуемых плодов как в свежем, так и в замороженном виде – $0,63 \pm 0,02$ и $2,06 \pm 0,02$ Вт/(м·К) соответственно. Коэффициент теплопроводности киви повысился лишь в 2 раза. Это обусловлено низкой температурой заморозки и меньшим количеством вымороженной влаги. Коэффициент теплопроводности папайи повысился значительно – в 4,2 раза.

С потерей влаги (усушкой) продукты изменяют свои теплофизические характеристики. Вероятность усушки в течение двух или трех часового эксперимента достаточно высока. Возможным способом предотвращения усушки является использование пищевой пленки. Для проверки данного факта были проведены соответствующие эксперименты. Для проведения использовалась тонкая пищевая пленка толщиной 8 микрон. Материал – полиэтилен. Было проведено два эксперимента с киви: один – контрольный, а второй – с использованием пленки. Результаты сведены в таблицу 3.

Длительность экспериментов была одинаковой, толщина образцов тоже. Если бы предположение о положительном влиянии пленки на эксперимент было верно, то наблюдался бы меньший градиент температуры в продукте и больший тепловой поток. Однако по результатам эксперимента тепловой поток уменьшился почти в 2 раза.

Коэффициент теплопроводности у образца с пленкой существенно отличается от такового у образца без пленки. Полученный коэффициент теплопроводности близок к груше, яблоку и айве в результате пористости и газовой составляющей в их структуре, а также их меньшей плотности и

Таблица 3. Результаты исследования влияния пленки на определение теплопроводности

Table 3. Effect of plastic wrap on thermal conductivity measurements

Параметры проведения эксперимента	Эксперимент	
	Контрольный	С пленкой
Длительность, мин	160	160
Высота слоя, м	$0,0194 \pm 0,0001$	$0,0194 \pm 0,0001$
Температура нагрева, °С	$55,3 \pm 0,1$	$50,2 \pm 0,1$
Температура охлаждения, °С	$27,3 \pm 0,1$	$25,0 \pm 0,1$
ΔT нагрева и охлаждения, °С	$28,0 \pm 0,2$	$25,2 \pm 0,2$
Конечная температура нагретой поверхности, °С	$39,8 \pm 0,1$	$41,6 \pm 0,1$
Конечная температура охлажденной поверхности, °С	$33,9 \pm 0,1$	$36,3 \pm 0,1$
ΔT изотермических поверхностей, °С	$5,8 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,2$
Установившийся тепловой поток, Вт/м ²	175 ± 10	100 ± 7
Полученный коэффициент теплопроводности, Вт/(м·К)	$0,56 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,02$

водянистости. Киви достаточно плотный фрукт, который содержит много влаги и не содержит газовых включений.

Таким образом, предположение не оправдалось: пленка хоть и уменьшает усушку, но из-за дополнительного термического сопротивления создает эффект «термоса» и не дает теплу свободно проходить через продукт, задерживая тепловой поток. Это негативно влияет на экспериментальное определение коэффициента теплопроводности.

В рамках исследования были также проведены эксперименты по анализу влияния степени зрелости плодов на теплофизические свойства. Для этого использовались два плода папайи разной степени спелости. Один закупался осенью (в октябре), а второй – летом (в июне). Первый плод был с зеленой шкуркой, безвкусный, со светлой мякотью. Второй – с желтой шкуркой, выраженным ароматом и вкусом, более мягкий и водянистый. Результаты эксперимента приведены в таблице 4. Результаты свидетельствуют о том, что спелость плодов оказывает влияние на коэффициент теплопроводности: в спелом плоде он оказался на $0,02$ Вт/(м·К) выше, чем в неспелом.

Были также исследованы такие характеристики, как теплоемкость, криоскопическая температура, температуропроводность и количество вымороженной влаги.

Теплоемкость рассчитывалась по данным химического состава из справочной литературы. Полученные значения теплопроводности по формуле (3) занесены в таблицу 5. Расчет теплоемкости происходил для плодов в свежем виде. Результаты определения остальных теплофизических характеристик также сведены в таблицу 5.

Наибольшая теплоемкость наблюдается у папайи, что объясняется наибольшим влагосодержанием. Наибольшая температура замерзания – у инжира,

что объясняется большим содержанием сахаров в его составе. По количеству вымороженной влаги на первом месте – авокадо, что объясняется сниженным общим содержанием влаги и повышенным содержанием жиров.

Выводы

В результате проведенной работы определены физико-химические показатели киви, авокадо, папайи и инжира. Экспериментальным путем был исследован коэффициент теплопроводности тропических фруктов в свежем и в замороженном виде. По результатам исследования коэффициент теплопроводности свежих фруктов составил: для папайи – $0,37 \pm 0,02$ Вт/(м·К), для киви – $0,56 \pm 0,02$ Вт/(м·К), для авокадо – $0,4 \pm 0,02$ Вт/(м·К), для инжира – $0,63 \pm 0,02$ Вт/(м·К). По сравнению со свежим продуктом у замороженного авокадо незначительно повысился коэффициент теплопроводности, что объясняется его меньшим влагосодержанием. В 3,3 раза повысился коэффициент теплопроводности инжира. Данный продукт обладает самой большой теплопроводностью среди исследуемых плодов как в свежем, так и в замороженном виде ($0,63 \pm 0,02$ и $2,06 \pm 0,02$ Вт/(м·К) соответственно). Коэффициент теплопроводности киви и папайи повысился в 2 и 4,2 раза соответственно.

Полученные значения могут быть использованы в теплотехнических расчетах при разработке новых продуктов, для определения режимов холодильной и тепловой их обработки, для разработок технологий обогащения экзотическими фруктами продуктов молочной, хлебопекарной и других отраслей промышленности, т. к. при разработке данных технологий понадобятся как теплофизические, так и физические характеристики, полученные в ходе работы.

Таблица 4. Результаты повторного эксперимента с более спелой папайей в свежем виде

Table 4. Repeated experiment on a riper fresh papaya sample

Параметры проведения эксперимента	Эксперимент	
	Спелая	Не спелая
Длительность, мин	150	135
Высота слоя, м	0,0202 ± 0,0001	0,0193 ± 0,0001
Температура нагрева, °С	55,2 ± 0,1	55,2 ± 0,1
Температура охлаждения, °С	32,5 ± 0,1	24,5 ± 0,1
ΔТ нагрева и охлаждения, °С	22,7 ± 0,2	30,7 ± 0,2
Конечная температура нагретой поверхности, °С	44,0 ± 0,1	39,2 ± 0,1
Конечная температура охлажденной поверхности, °С	36,3 ± 0,1	31,0 ± 0,1
ΔТ изотермических поверхностей, °С	7,7 ± 0,2	8,2 ± 0,2
Установившийся тепловой поток, Вт/м ²	141 ± 10	165 ± 11
Полученный коэффициент теплопроводности, Вт/(м·К)	0,37 ± 0,02	0,39 ± 0,02

Таблица 5. Значения некоторых теплофизических характеристик для тропических фруктов

Table 5. Thermophysical parameters of tropical fruits

Наименование	Теплоемкость С, кДж/(кг·К)		$t_{кр}$, °С	Температуропроводность, м ² /с		Кол-во вымороженной влаги, %
	Свежий	Замороженный		Свежий	Замороженный	
Киви	3,64 ± 0,02	2,46 ± 0,02	-1,8 ± 0,1	14,6×10 ⁻⁵	(41,2 ± 0,3)×10 ⁻⁵	65,05 ± 0,02
Авокадо	3,34 ± 0,02	2,13 ± 0,02	-1,1 ± 0,1	12,9×10 ⁻⁵	(48,9 ± 0,3)×10 ⁻⁵	78,43 ± 0,02
Папайя	3,83 ± 0,02	2,67 ± 0,02	-2,7 ± 0,1	9,2×10 ⁻⁵	(58,7 ± 0,3)×10 ⁻⁵	60,29 ± 0,02
Инжир	3,56 ± 0,02	2,57 ± 0,02	-2,9 ± 0,1	23,3×10 ⁻⁵	(100,6 ± 0,3)×10 ⁻⁵	57,66 ± 0,02

Проведенные испытания лабораторной установки позволили выявить возможные пути ее модернизации:

- установка выравнителя напряжения сети, что позволит компенсационному нагревателю работать без колебаний мощности и будет способствовать установлению еще более стабильного стационарного потока, а также потребуются меньше ручных манипуляций по управлению мощностью нагревателя;
- добавление еще одного отверстия для закладки продукта, что позволит выполнять два эксперимента сразу. Теоретически можно довести количество отверстий до трех. Главное – организовать подключение термопар и нормальное снятие данных с приборов во время эксперимента;
- организация автоматической фиксации показаний термопар на компьютере, что уменьшит объем ручной работы во время протоколирования данных эксперимента;
- добавление отверстия для измельченного продукта. Дно такого отверстия должно быть из ровной металлической пластины. Необходимо также организовать герметичность и возможность очистки отверстия;
- добавление в систему элементов Пельтье, подключенных через трансформатор и регулятор напряжения, снабженных вентиляторами. Это позволит обходиться без морозильного ларя, но усложнит эксплуатацию и саму конструкцию установки;

– разработать методику исследования теплоемкости благодаря данной установке, что позволит за один эксперимент опытным путем получать не только значение коэффициента теплопроводности, но и теплоемкость продукта;

К недостаткам метода и установки, описанных в работе, относятся:

- большая длительность эксперимента (от 2-х до 4-х часов вместе с подготовкой установки и выходом на режим), т. к. стационарный режим не относится к скоростным методам определения теплопроводности;
- сложность проведения экспериментов с продуктами мягкой консистенции, таких как инжир.

Разработанная установка может быть успешно использована для:

- исследования теплопроводности теплоизоляционных материалов, древесины, резины и материалов из каучука и пластмасс;
- исследования теплопроводности кашеобразных продуктов (при условии небольшой модернизации): измельченных ягод, таких как облепиха, клюква, смородина и др.;
- исследования теплопроводности продуктов животноводства, а также грибов.

Критерии авторства

И. А. Короткий руководил научной работой.

Е. Н. Неверов и А. А. Владимиров сконструировала экспериментальную установку и проводил эксперименты. О. А. Неверова описывала результаты исследований. Л. А. Проскурякова участвовал в обработке опытных данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

I.A. Korotkiy supervised the research work. E.N. Neverov and A.A. Vladimirov designed an experimental setup and performed the experiment. O.A. Neverova described the research results. L.A. Proskuryakova processed the obtained data.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Zabalaga R. F., La Fuente C. I. A., Tadini C. C. Experimental determination of thermophysical properties of unripe banana slices (*Musa cavendishii*) during convective drying // Journal of Food Engineering. 2016. Vol. 187. P. 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.04.020>.
2. Inverse method for the simultaneous estimation of the thermophysical properties of foods at freezing temperatures / I. Cornejo [et al.] // Journal of Food Engineering. 2016. Vol. 191. P. 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.07.003>.
3. Попов А. М., Plotnikov K. B., Donya D. V. Determination of dependence between thermophysical properties and structural-and-phase characteristics of moist materials // Foods and Raw Materials. 2017. Vol. 5. № 1. P. 137–143. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-137-143>.
4. Study of influence of freezing-defrosting on thermophysical properties of meat systems / M. Yancheva [et al.] // Eureka: Life Sciences. 2018. № 1. P. 32–38. <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2018.00537>.
5. Composition and thermophysical properties of Malay Rose apple pulp / R. C. I. Fontan [et al.] // International Food Research Journal. 2018. Vol. 25. № 3. P. 1067–1073.
6. Paluri S., Phinney D. M., Heldman D. R. Recent advances in thermophysical properties – measurements, prediction, and importance // Current Opinion in Food Science. 2018. Vol. 23. P. 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.10.005>.
7. Zielinska M., Ropelewska E., Markowski M. Thermophysical properties of raw, hot-air and microwave-vacuum dried cranberry fruits (*Vaccinium macrocarpon*) // LWT – Food Science and Technology. 2017. Vol. 85. P. 204–211. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.016>.
8. On the relevance of thermophysical characterization in the microwave treatment of legumes / A. Dalmoro [et al.] // Food and Function. 2018. Vol. 9. № 3. P. 1816–1828. <https://doi.org/10.1039/c7fo01488k>.
9. Филиппов В. И., Степанов А. В. Рациональная точность определения теплофизических характеристик пищевых продуктов в расчетах технологических параметров холодильной обработки // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2015. № 2. С. 125–132.
10. Thermophysical properties of papaya puree / A. Tansakul [et al.] // International Journal of Food Properties. 2012. Vol. 15. № 5. P. 1086–1100. <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.513467>.
11. Manjunatha S. S., Raju P. S., Bawa A. S. Thermophysical properties of enzyme clarified Lime (*Citrus aurantifolia* L) juice at different moisture contents // Journal of Food Science and Technology. 2014. Vol. 51. № 11. P. 3038–3049. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0866-x>.
12. Mukama M., Ambaw A., Opara U. L. Thermophysical properties of fruit – a review with reference to postharvest handling // Journal of Food Measurement and Characterization. 2020. Vol. 14. № 5. P. 2917–2937. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00536-8>.
13. Zabalaga R. F., La Fuente C. I. A., Tadini C. C. Experimental determination of thermophysical properties of unripe banana slices (*Musa cavendishii*) during convective drying // Journal of Food Engineering. 2016. Vol. 187. P. 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.04.020>.
14. The antioxidant properties of exotic fruit juices from acai, maqui berry and noni berries / D. Nowak [et al.] // European Food Research and Technology. 2018. Vol. 244. № 11. P. 1897–1905. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3102-8>.
15. Exploring the chemical composition, emerging applications, potential uses, and health benefits of durian: A review / M. Mohd Ali [et al.] // Food Control. 2020. Vol. 113. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107189>.
16. De Mendonça V. Z., Vieites R. L. Physical-chemical properties of exotic and native Brazilian fruits // Acta Agronomica. 2019. Vol. 68. № 3. <https://doi.org/10.15446/acag.v68n3.55934>.
17. Avocado: characteristics, health benefits and uses / P. F. Duarte [et al.] // Ciencia Rural. 2016. Vol. 46. № 4. P. 747–754. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141516>.
18. Ragone D. Breadfruit for food and nutrition security in the 21st century // Tropical Agriculture. 2016. Vol. 93. № 1. P. 18–29.

19. Ganeshan G., Shadangi K. P., Mohanty K. Thermo-chemical conversion of mango seed kernel and shell to value added products // Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. 2016. Vol. 121. P. 403–408. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2016.09.004>.
20. Amini Khoozani A., Birch J., Bekhit A. E.-D. A. Production, application and health effects of banana pulp and peel flour in the food industry // Journal of Food Science and Technology. 2019. Vol. 56. № 2. P. 548–559. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03562-z>.
21. Development of a mixed jussara and mango juice with added *Lactobacillus rhamnosus* GG submitted to sub-lethal acid and baric stresses / F. C. Prates [et al.] // Journal of Food Science and Technology. 2020. Vol. 57. № 12. P. 4524–4532. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04491-6>.
22. Development of functional ice cream added exotic fruit / M. E. A. Lima [et al.] // Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. 2017. Vol. 35. № 1. <https://doi.org/10.5380/cep.v35i1.55940>.
23. Effect of nanoencapsulation using PLGA on antioxidant and antimicrobial activities of guabiroba fruit phenolic extract / M. C. Pereira [et al.] // Food Chemistry. 2018. Vol. 240. P. 396–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.144>.
24. Дубцов Г. Г., Лазар Я. Б. Тропические плоды на российском рынке // Пищевая промышленность. 2011. № 3. С. 54–57.

References

1. Zabalaga RF, La Fuente CIA, Tadini CC. Experimental determination of thermophysical properties of unripe banana slices (*Musa cavendishii*) during convective drying. Journal of Food Engineering. 2016;187:62–69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.04.020>.
2. Cornejo I, Cornejo G, Ramírez C, Almonacid S, Simpson R. Inverse method for the simultaneous estimation of the thermophysical properties of foods at freezing temperatures. Journal of Food Engineering. 2016;191:37–47. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.07.003>.
3. Popov AM, Plotnikov KB, Donya DV. Determination of dependence between thermophysical properties and structural-and-phase characteristics of moist materials. Foods and Raw Materials. 2017;5(1):137–143. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-137-143>.
4. Yancheva M, Dromenko O, Potapov V, Grinchenko O, Zhelieva T. Study of influence of freezing-defrosting on thermophysical properties of meat systems. Eureka: Life Sciences. 2018;(1):32–38. <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2018.00537>.
5. Fontan RCI, Sampaio VS, Souza EC Jr, Pereira RG, Rodrigues LB, Gonçalves GRF, et al. Composition and thermophysical properties of Malay Rose apple pulp. International Food Research Journal. 2018;25(3):1067–1073.
6. Paluri S, Phinney DM, Heldman DR. Recent advances in thermophysical properties – measurements, prediction, and importance. Current Opinion in Food Science. 2018;23:142–148. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.10.005>.
7. Zielinska M, Ropelewska E, Markowski M. Thermophysical properties of raw, hot-air and microwave-vacuum dried cranberry fruits (*Vaccinium macrocarpon*). LWT – Food Science and Technology. 2017;85:204–211. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.016>.
8. Dalmoro A, Naddeo C, Caputo S, Lamberti G, Guadagno L, D’Amore M, et al. On the relevance of thermophysical characterization in the microwave treatment of legumes. Food and Function. 2018;9(3):1816–1828. <https://doi.org/10.1039/c7fo01488k>.
9. Filippov VI, Stepanov AV. Rational determination accuracy of the foodstuffs thermal and physical characteristics in the calculation of cold treatment. Scientific Journal NRU ITMO. Processes and Food Production Equipment. 2015;(2):125–132. (In Russ.).
10. Tansakul A, Kantrong H, Saengrayup R, Sura P. Thermophysical properties of papaya puree. International Journal of Food Properties. 2012;15(5):1086–1100. <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.513467>.
11. Manjunatha SS, Raju PS, Bawa AS. Thermophysical properties of enzyme clarified Lime (*Citrus aurantifolia* L) juice at different moisture contents. Journal of Food Science and Technology. 2014;51(11):3038–3049. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0866-x>.
12. Mukama M, Ambaw A, Opara UL. Thermophysical properties of fruit – a review with reference to postharvest handling. Journal of Food Measurement and Characterization. 2020;14(5):2917–2937. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00536-8>.
13. Zabalaga RF, La Fuente CIA, Tadini CC. Experimental determination of thermophysical properties of unripe banana slices (*Musa cavendishii*) during convective drying. Journal of Food Engineering. 2016;187:62–69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.04.020>.
14. Nowak D, Gośliński M, Przygoński K, Wojtowicz E. The antioxidant properties of exotic fruit juices from acai, maqui berry and noni berries. European Food Research and Technology. 2018;244(11):1897–1905. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3102-8>.
15. Mohd Ali M, Hashim N, Aziz SA, Lasekan O. Exploring the chemical composition, emerging applications, potential uses, and health benefits of durian: A review. Food Control. 2020;113. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107189>.

16. De Mendonça VZ, Vieites RL. Physical-chemical properties of exotic and native Brazilian fruits. *Acta Agronomica*. 2019;68(3). <https://doi.org/10.15446/acag.v68n3.55934>.
17. Duarte PF, Chaves MA, Borges CD, Mendonça CRB. Avocado: characteristics, health benefits and uses. *Ciencia Rural*. 2016;46(4):747–754. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141516>.
18. Ragone D. Breadfruit for food and nutrition security in the 21st century. *Tropical Agriculture*. 2016;93(1):18–29.
19. Ganeshan G, Shadangi KP, Mohanty K. Thermo-chemical conversion of mango seed kernel and shell to value added products. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016;121:403–408. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2016.09.004>.
20. Amini Khoozani A, Birch J, Bekhit AE-DA. Production, application and health effects of banana pulp and peel flour in the food industry. *Journal of Food Science and Technology*. 2019;56(2):548–559. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03562-z>.
21. Prates FC, de Castro Leite Júnior BR, Martins EMF, Cristianini M, da Silva RR, da Rocha Campos AN, et al. Development of a mixed jussara and mango juice with added *Lactobacillus rhamnosus* GG submitted to sub-lethal acid and baric stresses. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;57(12):4524–4532. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04491-6>.
22. Lima MEA, Thiers TR, Quintão AO, Ferreira FS, Da Cunha LR, Da Cunha SFV, et al. Development of functional ice cream added exotic fruit. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*. 2017;35(1). <https://doi.org/10.5380/cep.v35i1.55940>.
23. Pereira MC, Oliveira DA, Hill LE, Zambiasi RC, Borges CD, Vizzotto M, et al. Effect of nanoencapsulation using PLGA on antioxidant and antimicrobial activities of guabiroba fruit phenolic extract. *Food Chemistry*. 2018;240:396–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.144>.
24. Dubtsov GG, Lazar YB. Tropical fruits on the Russian market. *Food Industry*. 2011;(3):54–57. (In Russ.).

Пищевые аллергены и способы получения гипоаллергенных пищевых продуктов

Д. А. Громов*^{ORCID}, А. В. Борисова^{ORCID}, В. В. Бахарев^{ORCID}

Самарский государственный технический университет^{ORCID}, Самара, Россия

Дата поступления в редакцию: 15.12.2020

Дата принятия в печать: 17.03.2021



*e-mail: aneztio@yandex.ru

© Д. А. Громов, А. В. Борисова, В. В. Бахарев, 2021

Аннотация.

Введение. Пищевая аллергия – широко распространенная проблема, оказывающая значительное влияние на человека. Среди огромного разнообразия веществ, входящих в состав пищевого сырья и образующихся при его переработке, присутствуют соединения, обладающие аллергенными свойствами. Целью данной работы являлось обобщение данных по источникам пищевых аллергенов, опыта по способам снижения аллергенности компонентов пищевого сырья и производства гипоаллергенных пищевых продуктов.

Объекты и методы исследования. Отечественная и зарубежная научная литература по теме исследования за последние двадцать лет. В качестве методов исследования использовали анализ, систематизацию и обобщение полученных данных. **Результаты и их обсуждение.** В работе представлены основные источники пищевых аллергенов, дана краткая характеристика основных аллергенных белков растительного и животного происхождения, описаны классы пищевых аллергенов по их стабильности и способности сохранять антигенные свойства при различной обработке, приведены способы снижения аллергенности компонентов пищевого сырья и производства гипоаллергенных пищевых продуктов.

Выводы. В данный момент разработано большое количество методов снижения аллергенности пищевого сырья (например, использование ферментативной активности микроорганизмов, химическая модификация аллергенных белков и т. д.), но по-прежнему широко применяют термическую и ферментативную обработку. В перспективе возможно использование комбинированных методов, совмещающих, например, ферментативную обработку с различными видами физического воздействия (высоким давлением, ультразвуком), комплексообразование с полифенолами и антоцианами и др. Перспективны генетические манипуляции с сырьем (модификация, селекция генотипов и генетических маркеров низкой аллергенности, селективный отбор низкоаллергенных видов). Однако подобные методики все еще сложны, трудоемки, недостаточно изучены и нуждаются в клинических испытаниях.

Ключевые слова. Пищевая аллергия, аллергены растительного происхождения, аллергены животного происхождения, маркировка, гипоаллергенные продукты, ферментативная обработка, термическая обработка

Для цитирования: Громов Д. А., Борисова А. В., Бахарев В. В. Пищевые аллергены и способы получения гипоаллергенных пищевых продуктов // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 232–247. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Food Allergens and Methods for Producing Hypoallergenic Foods

Danil A. Gromov*^{ORCID}, Anna V. Borisova^{ORCID}, Vladimir V. Bakharev^{ORCID}

Samara State Technical University^{ORCID}, Samara, Russia

Received: December 15, 2020

Accepted: March 17, 2021



*e-mail: aneztio@yandex.ru

© D.A. Gromov, A.V. Borisova, V.V. Bakharev, 2021

Abstract.

Introduction. Healthy nutrition is one of the global problems that humanity is facing today, of which food safety and food allergies are the most relevant issues. A lot of chemicals used as food raw materials possess allergenic properties. Food producers are only beginning to realize the scale of this problem. As a result, hypoallergenic products and methods of food allergy prevention are at an early stage of development.

Study objects and methods. The paper is a review of twenty years of research on food allergy.

Results and discussion. The article describes the main sources of food allergens and allergenic proteins of plant and animal origin. It also gives various classifications of food allergens in terms of their stability and ability to maintain antigenic properties after processing, as well as provides methods for allergenicity reduction and hypoallergenic food production.

Conclusion. Thermal and enzymatic processing are currently the most popular methods of reducing allergenicity of food raw materials. New approaches are based on enzymatic activity of microorganisms, the chemical modification of allergenic proteins, and the removal of allergenic proteins by binding them into complexes. The combination of enzymatic processing with high hydrostatic pressure or high-intensity ultrasound is the most promising direction in the production of hypoallergenic raw materials. Other promising methods are based on the enzymatic activity of microorganisms, chemical modification of allergenic proteins, and complexation with polyphenols, anthocyanins, etc. The future lies with genetic modification, which, however, still remains too complex, time-consuming, and understudied. Most novel methods need clinical trials to confirm the possibility of their use for commercial hypoallergenic food production.

Keywords. Food allergy, plant food allergens, animal food allergens, labeling, hypoallergenic products, enzymatic treatment, heat treatment

For citation: 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>.

Введение

Одной из глобальных проблем, с которой столкнулось человечество, является проблема питания. На фоне нарастающих экологических проблем все острее проявляется проблема безопасности пищевых продуктов и проблема пищевой аллергии. По данным статистики, в крупных городах с каждым годом увеличивается количество людей с аллергией на различные пищевые продукты [1]. Производители продуктов питания постепенно осознают всю масштабность этой проблемы. Поэтому разработка новых видов гипоаллергенных продуктов и методов снижения аллергенности пищевого сырья только начинает осуществляться или находится на стадии планирования разработок. Производство гипоаллергенных продуктов технически осуществимо. Однако в настоящее время имеется ряд проблем и ограничений, которые не дают абсолютной уверенности в том, что аллергенность у продукта отсутствует, а не замаскирована или, наоборот, усилена.

Среди огромного разнообразия химических веществ, входящих в состав пищевого сырья и образующихся в процессе его переработки при получении продуктов питания, присутствуют соединения с высокими аллергенными свойствами. При употреблении таких продуктов возникает патология, называемая пищевой аллергией. Пищевая аллергия – это реакция гиперчувствительности, характеризующаяся неблагоприятными и воспроизводимыми реакциями на аллергены, источниками которых служит пища. Наиболее распространенный тип пищевой аллергии связан с иммуноглобулином E (IgE), который выявляется после приема пищи у чувствительных к специфическим аллергенам людей. Кроме того, выделяют не-IgE-зависимые аллергические реакции на пищу, к которым относятся иммуноглобулин G/иммуноглобулин M(IgG/IgM)-зависимые и T-зависимые реакции [2, 3].

Проявления IgE-зависимых аллергических реакций могут варьироваться от кожных реакций, отеков и желудочных расстройств до легкой и тяжелой анафилаксии, которая может быть опасна для жизни. Подобным образом проявляются и не-IgE-зависимые аллергические реакции, но они протекают несколько мягче. В виде приступов удушья пищевая аллергия проявляется примерно в 3 случаях из 100 [2, 4].

За последние десятилетия распространенность пищевой аллергии возросла в развитых странах и начинает повышаться в развивающихся. Это связано со снижением качества еды и заменой многих натуральных пищевых продуктов их дешевыми аналогами [5]. В зону риска пищевой аллергии входят дети. Самым распространенным типом пищевой аллергии, возникающей у детей, является аллергия на молоко, которая проявляется примерно у 1 % новорожденных, питающихся лишь материнским молоком. В дальнейшем около 70 % пациентов приобретают толерантность к молоку в возрасте 1 года, 90 % – к третьему году жизни [6]. С учетом других пищевых аллергенов (яиц, занимающих второе место по аллергенности среди детей, глютена, сои и др.) пищевая аллергия затрагивает 5–10 % новорожденных, около 5 % детей младшего возраста и 4,5 % детей школьного возраста [6–8]. Таким образом, сильнее всего пищевой аллергии подвержены новорожденные. Затем, по мере укрепления и развития иммунитета, количество аллергиков снижается вдвое. Некоторые исследователи считают, что причиной возникновения аллергии у новорожденных детей является медленный синтез иммуноглобулинов A, M, G и повышенный синтез иммуноглобулина E [9]. Пищевая аллергия на многие продукты сохраняется и у взрослых людей [10].

Помимо врожденной пищевой аллергии существует и приобретенная аллергия, вызванная попаданием в организм человека экзогенных веществ, вызывающих иммунный ответ. Появляются

психосоматические аллергии, вызванные сильными стрессами и депрессиями. Подобный тип аллергий является наиболее распространенным и чаще всего проявляющимся у взрослого населения [11]. Возможны аллергии, вызываемые продуктами питания, широко распространенными в том или ином регионе. Например, у людей, живущих в приморских районах, аллергия на морепродукты проявляется гораздо чаще, чем у жителей других регионов. Подобные аллергии можно объяснить психосоматическими расстройствами [8]. С другой стороны, пищевая аллергия может являться перекрестной реакцией на ингаляционные аллергены, т. е. сопутствовать сезонной аллергии на пыльцу растений (поллинозу). Распространенность подобного типа аллергии сильно зависит от климато-географических регионов и от источников пыльцы. В России к наиболее распространенным аллергенным растениям относятся цветущие деревья (прежде всего береза, тополь, липа и др.), злаковые и сорные растения [2, 12]. Еще одним типом перекрестной аллергии является аллергия, вызванная сочетанием аллергенов сходных и несходных пищевых источников. Термостабильные аллергены лимона имеют перекрестные реакции как с аллергенами других цитрусовых (апельсинов, мандаринов, грейпфрутов), так и с аллергенами орехов (арахиса, кешью и грецкого ореха), что связано с аллергенами косточек [13].

Единственным полноценным методом предотвращения и лечения пищевой аллергии является полный отказ от продуктов, содержащих аллергены, что практически недостижимо. Однако возможно проведение профилактики и назначение специализированных диет, снижающих аллергические симптомы и нормализующих общий аллергический фон. Аллергология постепенно движется в направлении разработки персонализированных гипоаллергенных диет, назначаемых после полного изучения клинической картины пациента [14, 15]. В связи с этим особую актуальность приобретают научные исследования и разработки по созданию гипоаллергенных продуктов для массового питания.

В работе приведены обобщенные данные по источникам пищевых аллергенов, классификация пищевых аллергенов по их стабильности и способности сохранять антигенные свойства при ферментативном и термическом воздействии, а также обобщен отечественный и международный опыт по способам снижения аллергенности компонентов пищевого сырья и производства гипоаллергенных пищевых продуктов.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований послужили научные публикации за последние двадцать лет, посвященные вопросам пищевых аллергенов различного происхождения, способам снижения аллергенности пищевого сырья и получения гипоаллергенных

продуктов питания. В работе применяли методы анализа, систематизации и обобщения накопленных данных отечественных и зарубежных исследователей в области пищевой аллергии и методов борьбы с ней.

Результаты и их обсуждение

Источники аллергенов и их классификация.

Человек постоянно подвергается воздействию большого количества пищевых белков. Однако только их малая часть действует как активирующие факторы, вызывающие сенсибилизацию, приводящую к выработке IgE и возникновению аллергических реакций у чувствительных людей. В настоящее время считается, что за значительные аллергические реакции ответственны семь продуктов питания: орехи, молоко, яйца, рыба, моллюски, соя и пшеница [16]. В связи с этим пищевые аллергены, по своему типу являющиеся экзоаллергенами, можно разделить по типу пищевого сырья на аллергены растительного и животного происхождения [17]. Достаточно полная на настоящее время классификация пищевых аллергенов дана в работе В. А. Ревякиной [18]. В данной работе предпринята попытка классифицировать пищевые аллергены по источнику их происхождения, по типам белков растительного и животного происхождения и по стабильности этих белков.

Аллергены растительного происхождения.

Большинство растительных пищевых аллергенов могут быть объединены в несколько семейств и суперсемейств. Наиболее распространенными являются аллергены суперсемейства проламина (2S-альбумины, неспецифические белки-переносчики липидов, ингибиторы α -амилазы, протеазы, трипсина, α -глобулины и др.) и суперсемейства купина (гермины, вицилины, легумины). Часть растительных пищевых аллергенов гомологична белкам, участвующим в защите растений от факторов окружающей среды, и белкам устойчивости растений. Существуют несвязанные семейства белков (профилины, олеозины), которые содержат несколько растительных пищевых аллергенов [19–21].

Аллергены суперсемейства проламина получили свое название благодаря запасному белку злаков – проламину. Такие аллергены обнаруживаются в злаковых, в орехах (арахисе, лесном и грецком орехе, фундуке, фисташках и др.), бобовых (сое, чечевице, горохе, фасоли и др.), в некоторых фруктах (персиках, абрикосах, яблоках) и во многих других семенах и плодах. Наиболее распространенными представителем проламинового суперсемейства являются 2S-альбумины, обеспечивающие сенсибилизацию при употреблении арахиса, лесных орехов, бобовых и семян, и неспецифические белки-переносчики липидов, отвечающие за аллергенность фруктов [3, 16]. Большинство аллергенов, принадлежащих к суперсемейству проламинов, обладают высокой

устойчивостью к температурному воздействию, рН и желудочно-кишечным ферментам благодаря своей небольшой и компактной структуре. Это затрудняет создание гипоаллергенной продукции на основе подобных сырьевых источников [4, 20].

Аллергены суперсемейства купина представлены герминами (глобулинами с константой седиментации меньше 7S), вицилинами (7S-глобулинами), легуминами (11S-глобулинами) и другими белками, классифицированными на 57 семейств. Шире всего купины представлены в качестве запасных белков семян. Представители этого суперсемейства обнаруживаются в орехах (арахисе, грецком и бразильском орехе, кешью, фундуке), бобовых (сое, чечевице), косточковых плодах (яблоках, винограде, физалисе, томатах) и др. [3, 22].

Белки, связанные с патогенезом растений, представлены 14 группами, восемь из которых являются аллергенами (белки групп PR-1, PR-2, PR-3, PR-4, PR-5, PR-8, PR-10 и PR-14) [23]. Данные белки выполняют функцию защиты растений и вырабатываются в ответ на различные стрессовые ситуации, такие как патогенные инфекции, повреждения, химические воздействия, воздействия фитогормонов, металлов, ультрафиолетового излучения или неблагоприятных условий роста. Они ответственны за аллергенность некоторых розоцветных (яблок, персиков, абрикосов), зонтичных (моркови, сельдерея) и плодов (дыни, вишни, каштанов и др.). Некоторые из групп подобных белков участвуют в перекрестной реактивности иммуноглобулина Е между растительной пищей и пылью березы, трав и др. [16, 24]. Например, в России яблоки часто считают гипоаллергенным продуктом и нередко включают в рацион аллергиков. Однако они являются одними из самых частых аллергенных продуктов среди фруктов за счет содержания защитных белков, купинов и перекрестной реактивности [25].

Профилины, олеозины и дефинзины не относятся ни к каким суперсемействам, но являются аллергенами орехов, бобовых, зерновых, плодовых и др. Белки семейства профилинов связаны с перекрестной сенсibilизацией и встречаются в сельдерее, дыне, персиках, орехах и др. Олеозины встречаются в арахисе, а дефинзины, отвечающие за защиту растений от бактерий, – в сое, картофеле и др. [3, 20, 26].

Аллергены животного происхождения. Наиболее сильные пищевые аллергены животного происхождения присутствуют в молоке, яйцах, ракообразных, моллюсках и рыбе. Ученые выделяют для пищевых аллергенов животного происхождения 11 белковых семейств, среди которых семейства тропомиозина, казеина и парвальбумина [27].

Тропомиозин – это основной аллергенный белок, встречающийся у беспозвоночных. Он отвечает за регуляцию сокращения мышц, устойчив к тепловым воздействиям и ферментам желудочно-кишечного тракта. Он встречается в крабах, омарях, раках и

креветках [28]. Аллергенами некоторых видов рыб являются парвальбумины, связывающие кальций и отвечающие за работу мышц [29].

Аллергенные белки молока млекопитающих принадлежат к трем семействам и представлены α -лактальбумином, β -лактоглобулином и казеином. α -лактальбумин является кальций-связывающим белком, участвующим в синтезе лактозы. β -лактоглобулин действует в качестве переносчика липидов, гормонов, стероидов и т. д. Казеин, присутствующий в коровьем, козьем и овечьем молоке, является кальций-связывающим белком, который реагирует с иммуноглобулином Е. Белки молока наиболее сильно воздействуют на организм новорожденных, вызывая аллергические реакции. Аллергены молока легко подвержены ферментативному и термическому разрушению. При этом возможно их частичное удаление посредством сепарирования [30].

Аллергенами в яйцах являются овомукоид, овальбумин, овотрансферрин и лизоцим, которые находятся в яичном белке, и α -ливетин, содержащийся в желтках. Овомукоид устойчив к термической и ферментативной обработке. Другие белки менее стабильны и легче разрушаются, теряя аллергенность. Пищевая аллергия на яйца занимает второе по распространенности место после аллергии на молочные продукты и сильно затрагивает детей младшего возраста [31].

Другим классификационным признаком пищевых аллергенов является их стабильность и способность сохранять антигенные свойства при ферментативном и термическом воздействии:

– класс I – пищевые белки, устойчивые к перевариванию (ферментативной обработке) и термической обработке. Их аллергенность проявляется в желудочно-кишечном тракте, затрагивает его нормальное функционирование и приводит к желудочным расстройствам. К ним относятся белки молока, яиц, рыбы, арахиса и других пищевых источников, содержащих липид-переносящие белки [26].

– класс II – пищевые белки, легко подверженные температурному и ферментативному воздействию, аллергенность которых не прямая, а опосредованная и сопряженная с перекрестной реакцией на ингаляционные аллергены растительного происхождения. К подобным пищевым аллергенам относятся белки овощей, фруктов и в малой степени белки животного происхождения. Аллергенность подобных продуктов питания увеличивается до максимума при их употреблении в сыром виде, а действие таких аллергенов и симптомов аллергии ограничивается полостью рта и горла [16, 27].

Маркировка пищевых аллергенов. Аллергические реакции на пищу, в отличие от других побочных реакций, могут быть вызваны минимальным количеством аллергена. Для правового регулиро-

вания маркировки пищевых аллергенов в 1963 г. Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (ФАО) и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) совместными усилиями разработали «Кодекс Алиментариус» (англ. Codex Alimentarius) или «Продовольственный кодекс». Он регламентирует, какие аллергены должны быть указаны на этикетках пищевых продуктов. Соответствующая комиссия обеспечивает контроль за странами, находящимися в ведении ФАО и ВОЗ. Комиссия отвечает за создание правительствами стран необходимых правил для маркировки продуктов питания, которые различаются в разных странах [32].

В России принята обязательная маркировка пищевых продуктов, регламентируемая Техническим регламентом таможенного союза ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки» и «Указаниями по маркировке пищевых аллергенов, пищевых добавок и формату даты» (2004 г.), установленными Россельхознадзором. Согласно этим законодательным актам компоненты пищевой продукции, способные вызывать аллергию, указываются в составе независимо от их количества. Помимо непосредственно пищевых источников аллергенов, маркировке подлежат добавленные к пищевым продуктам химические вещества (антиокислители, красители, ароматические и др. вещества), которые могут выступать как в виде аллергенов, так и в виде дополнительных факторов аллергенности. В соответствии с техническим регламентом не производится деление по источникам аллергенности, а выделяются отдельные сырьевые и связанные с ними источники (например, арахис, злаки, содержащие глютен, молоко и продукты их переработки и др.).

В целях повышения безопасности потребителей при маркировке продуктов питания необходимо указывать возможные аллергенные компоненты, не предусмотренные рецептурой продукта. Такая маркировка, согласно ТР ТС 022/2011, включает в себя дополнительные строки: «Данный продукт может содержать следы...» и т. д.

Производство гипоаллергенных продуктов. Одним из основных способов профилактики и борьбы с пищевой аллергией является производство гипоаллергенных продуктов, обладающих вкусовыми качествами, сопоставимыми со вкусовыми качествами натуральных аллергенных продуктов. Юридически для термина «гипоаллергенные продукты» не существует определения или стандартов. Но его применяют для продуктов, которые почти не вызывают аллергических реакций у человека. Также гипоаллергенные продукты определяются как продукты, у которых *in vivo* значительно снижена способность вызывать аллергическую реакцию по сравнению с природными продуктами [33].

В настоящее время выгодным с экономической точки зрения является производство гипоаллергенных продуктов, в которых аллергенное сырье замещено на гипоаллергенное или ферментативно измененное аллергенное сырье. Так, помимо ферментированной лактозы и гидролизатов молочных белков, применяют ферментированный яичный белок, содержащий в себе значительное количество свободных аминокислот и сою [34, 35]. Замена соей многих видов аллергенного сырья – одна из самых распространенных производственных стратегий. Например, разработаны технологии создания безглютеновых хлебобулочных изделий, в которых зерновые культуры заменены на сою [36]. Часто соя является заменителем в мясных изделиях. Хотя это лишает их аллергенов животного происхождения, у потребителей может проявляться аллергия на белки сои [37]. Поэтому применение сои как замещающего сырья должно строго регламентироваться, а товары должны быть соответствующе маркированы.

Перспективной является идея создания комплексных гипоаллергенных продуктов питания, все компоненты которых являются сами по себе гипоаллергенными. Например, создание мясных паштетов, в которых аллергенные свинина и говядина заменены на гипоаллергенные баранину, конину, мясо перепелов, куриную печень и другие компоненты [38, 39]. Но данная идея ограничена спектром существующего гипоаллергенного сырья и требует разработки новых подходов к созданию гипоаллергенных источников продуктов питания. Однако в настоящее время большинство производителей находится на стадии разработки алгоритмов создания гипоаллергенных продуктов для их применения в будущем [40]. В связи с этим представляет практический интерес обзор существующих технологий и новых тенденций, исследований и разработок получения гипоаллергенного пищевого сырья.

Принцип гипоаллергенизации заключается в блокировании, уменьшении или устранении способности аллергенов вызывать новую сенсибилизацию или аллергические реакции у сенсибилизированных людей. Для устранения или уменьшения содержания аллергенных белков используется широкий спектр технологий обработки пищевых продуктов. Например, влажное и сухое термическое воздействие, ферментативный гидролиз, модификации белков, сбраживание, воздействие облучения, ультразвука, обработка высоким гидростатическим давлением, а также методы генной инженерии [41–43].

Обработка пищевых продуктов вызывает разнообразные физические и биохимические изменения белков, такие как денатурация, разрушение до низкомолекулярных структур, агрегация и деградация. Это приводит к различным обратимым и необратимым изменениям на уровнях четвертичных, третичных

и вторичных структур, а также расщеплению или образованию внутри- и/или межмолекулярных ковалентных и нековалентных взаимодействий. Взаимодействие белков во время обработки с другими компонентами пищевого сырья, такими как углеводы и полисахариды, липиды, полифенолы и антоцианы, может привести к дополнительным модификациям [44]. Таким образом, через оказание на белки различного воздействия, IgE-эпитопы на аллергене могут быть либо разрушены, либо модифицированы или замаскированы, тем самым нарушая его способность распознаваться иммуноглобулином E [45].

Термическое воздействие является наиболее широко используемым видом технологической обработки. Оно подразумевает бланширование, пастеризацию, стерилизацию, варку, выпечку, жарку, паровую обработку и т. д. В настоящее время доказано, что термическая обработка может привести к значительным изменениям в структуре аллергена посредством денатурации, агрегации, фрагментации и реакции Майяра. Характер и степень таких изменений зависят от вида тепловой обработки, температуры и продолжительности, а также от внутренних характеристик белка и физико-химических условий его среды, приводя к повышенной, пониженной или неизменной IgE-связывающей активности пищевых аллергенов [45, 46]. Однако на многие аллергены тепловая обработка не оказывает существенного влияния из-за устойчивости их структуры. Это отчетливо видно на примере различных орехов (арахиса, фундука, миндаля, кешью): тепловая обработка не дает положительных результатов. При варке происходит вымывание аллергенов в воду без потери ими сенсибилизирующей активности. Умеренные формы термообработки (температура менее 80 °C) сохраняют аллергенные свойства яичных и молочных белков [4, 47]. Частичное снижение аллергенности путем термообработки достигается путем разрушения конформационных эпитопов, в то время как сенсибилизация к линейным эпитопам сохраняется [45].

Эффективным и специфическим воздействием на аллергенные белки является ферментативная обработка. Чаще всего применяется ферментативный гидролиз, в основе которого лежит разрушение пептидных связей и образование низкомолекулярных пептидов и аминокислот. Это ведет к нарушению структуры эпитопов, присутствующих в пищевых аллергенах. Степень гидролиза сильно зависит от аминокислотной последовательности, вторичной структуры, модификаций белка и специфичности фермента. Для этих целей используются различные ферменты микробного и растительного происхождения: трипсин, пепсин, химотрипсин, папаин, алкалаза, проназа и др. [46, 48]. Недостатком ферментативной обработки является возможность образования новых

аллергенных эпитопов вместо существующих. Кроме того, ферментативная обработка может не затронуть целевые участки аллергена, оставить фрагменты белка с сохраненным IgE-связыванием.

В настоящее время, благодаря ферментативной обработке, получают гипоаллергенные молочные продукты. Например, используя прямую ферментативную активность бактерий совместно с применением протеолитической активности ферментов (например, β -галактозидазы), получают низколактозное мороженое, насыщенное аминокислотами и другими метаболитами [49, 50]. Хотя непереносимость лактозы (гиполактазия) по факту не является аллергией, для снижения аллергенности молока применяются методы разрушения молочных аллергенов (α -лактальбумина, β -лактоглобулина и казеина) при помощи ферментов. Например, при помощи пептидазы, выделенной из желудка бабочек вида *Danaus plexippus*, проводился гидролиз казеина и сывороточных белков молока, после которого не происходила выработка антител. При этом аллергенность сывороточных белков проявлялась очень слабо [51]. В других исследованиях осуществлялось окисление ароматических соединений и цистеина при помощи лакказ, выделенных из *Trametes hirsute*, окисление тирозина при помощи тирозиназ, выделенных из *Trichoderma reesei*, и окисление ароматических соединений при помощи бактериальных пероксидаз. Это снижало аллергенность молочных продуктов. Также проводилось сшивание аминокислотных остатков глутамина и лизина, содержащихся в казеине, при помощи трансглутаминазы, сопровождаемое снижением аллергической реакции на эти аминокислоты и казеин в целом [52]. Обработка трансглутаминазой гидролизатов арахисового белка, полученных действием папаина, фицина или бромелаина, позволяет снизить на 85–95 % аллергенность при полном сохранении функциональных свойств этого вида пищевого сырья [53].

Путем ферментной обработки продуктов, содержащих аллергены, получают белковые гидролизаты из зернового сырья, молока и его компонентов. В дальнейшем они используются при создании функциональных продуктов питания (например, йогурт со сниженной аллергенностью сывороточных белков) или терапевтических средств (например, гипоаллергенный казеиновый гидролизат, применяемый для пероральной иммунотерапии на основе пептидов при аллергии на коровье молоко) [54–56].

Наряду с обработкой непосредственно ферментами появилось новое перспективное направление – использование ферментативной активности микроорганизмов для получения гипоаллергенного пищевого сырья и пищевых компонентов. Использование молочнокислых

бактерий *Lactococcus lactis* и *Lactobacillus delbrueckii* позволяет существенно снизить аллергенность β -лактоглобулинов молока и сыворотки [57–59]. Применение *Kluyveromyces marxianus* в сочетании с предварительной ультразвуковой обработкой снижает аллергенность α - и β -лактоглобулинов сыворотки [60]. Гречиха, ферментированная грибами *Rhizopus oligosporus*, может стать основой для создания новых гипоаллергенных продуктов [61].

Новым подходом к гипоаллергенизации пищевого сырья и продуктов является частичное или полное удаление аллергенных белков путем их селективного связывания каким-либо активным компонентом. Например, осаждение β -лактоглобулина из молочной сыворотки хитозаном. Преимуществом метода является возможность регенерации хитозана с его последующим повторным применением. Обработанная молочная сыворотка является продуктом с пониженной аллергенностью. Это позволяет использовать ее в продуктах функционального назначения, как и в случае с белковыми гидролизатами [62]. Исследования показывают, что перспективными комплексообразователями для аллергенных белков могут выступать эпигаллокатехин-3-галлат и хлорогеновая кислота для тропомиозина креветок и α - и β -лактоглобулинов сыворотки, кофейная, хлорогеновая и феруловая кислоты, экстракты черники и клюквы, содержащие полифенолы, для аллергенных белков арахиса [63–68].

Химическая модификация аллергенных белков представляет собой перспективный подход в получении гипоаллергенных пищевых компонентов. Модификация β -лактоглобулина молока путем гликозилирования галактозой в сочетании с ультразвуковой обработкой сопровождается изменением вторичной и третичной структур белка, что снижает способность связывания с иммуноглобулином E и G [69]. Модификация α -лактальбумина путем гликозилирования, фосфорилирования и ацетилирования приводит к изменению конформационной структуры белка и снижению аллергенности молочной сыворотки [70]. Модификация аллергенных белков гречихи обыкновенной (*Fagopyrum esculentum*) полисахаридами арабиногалактаном и ксиланом по реакции Майяра привела к снижению аллергенности этих белков [71]. Несмотря на то, что эти результаты являются многообещающими, они нуждаются в обосновании и клинических испытаниях, чтобы окончательно подтвердить возможность их использования для производства гипоаллергенных продуктов питания.

Перспективными направлениями получения гипоаллергенных компонентов могут быть такие способы обработки пищевого сырья, как прямое воздействие высокого гидростатического давления, микроволнового, ультрафиолетового и гамма-излучения, фокусированного ультразвука высокой

интенсивности [43, 45]. Показано, что обработка креветок ультразвуком высокой интенсивности приводит к значительному снижению уровня тропомиозина [72]. Описано несколько примеров влияния высокого гидростатического давления на аллергенность таких продуктов, как молочный β -лактоглобулин, проростки сои и продукты тофу, белки колбасного фарша [73–75]. Экструзионная обработка соевого белка и кукурузной муки с влажностью 20 % приводит к получению низкоаллергенного сырья [76].

Разработка комбинированных методик получения гипоаллергенного сырья ведется уже длительное время. Предпринимаются попытки применять комбинации из уже известных классических методик (термической и ферментативной обработки) с различными физическими и химическими способами обработки. Комбинации разных типов процессов и видов обработки, которые могут действовать синергетически, оказываются эффективными в достижении снижения аллергенности белка. Применение этих технологий приводит к более глубокому разрушению аллергенов или модификации структуры белка и к частичному или полному снижению аллергенности пищевого продукта [77]. В исследовании, объединяющем влияние высокого давления и ферментативного гидролиза, было показано, что гидролизаты β -лактоглобулина молока, полученные посредством воздействия высокого давления (400 МПа) и ферментов (пепсина и хемотрипсина), не вызывали аллергии у мышей с аллергией на молоко. В данном случае высокое давление изменяло конформацию белка и облегчало его ферментацию [78]. Гидролиз сывороточных белков при помощи пепсина под давлением 400 МПа позволяет получать гипоаллергенный гидролизат, который может использоваться для лечения аллергии на молоко у диагностированных пациентов [79]. Использование комбинации высокого давления и ферментативного гидролиза препаратом Flavourzyme приводит к значительному снижению аллергенности соевых белков и может применяться для получения низкоаллергенных соевых ингредиентов [80]. Имеются исследования, в которых было изучено совместное влияние высокого давления и температуры. Обработка экстрактов креветочного тропомиозина при помощи давления в 500 МПа при 55 °С в течение 10 мин снижала аллергическую реакцию на белок у лабораторных мышей, а обработка при 650 МПа и 100 °С в течение 15 мин снижала аллергенность грецкого ореха [77, 81].

Современным подходом к созданию гипоаллергенного сырья является генетическая модификация сырья с целью подавления нативных генов, кодирующих аллергенные белки, селекция с использованием генотипов и генетических маркеров низкой аллергенности и селективный отбор низкоаллергенных сортов. Важной составляющей этого подхода является выделение и анализ

структуры эпитопов, ответственных за связывание с иммуноглобулином Е и установление структуры комплементарной ДНК, кодирующей эти белки [82, 83].

С использованием генетической модификации были получены сорта сои, лишённые части аллергенных белков, и сорт пшеницы, лишённый гена, кодирующего образование глиадина [45, 84–86].

Для создания гипоаллергенного сырья растительного происхождения может применяться сайт-направленный мутагенез. Этот метод молекулярной биологии используется для внесения специфических и преднамеренных изменений в последовательность ДНК гена для получения гипоаллергенных мутантов специфического пищевого аллергена. Они могут применяться в иммунотерапии с небольшим количеством побочных реакций. Подход заключается в мутантном изменении последовательности IgE-связывающих эпитопов или изменении вторичной структуры белка посредством перекрытия (смещения одного или двух положений аминокислот), замены или разрушения дисульфидных мостиков в домене белка. Полученный гипоаллергенный вариант белка экспрессируется в *Escherichia coli* и тестируется на пониженную иммунореактивность IgE. Успешные результаты наблюдались в отношении яичных аллергенов: разрушение двух из девяти цистеин-цистеиновых мостиков посредством сайт-направленного мутагенеза позволило получить гипоаллергенный вариант белка Gal d 1 (овомукоида) [87]. Подобные эксперименты проводились с аллергенами креветок (белка Pen a 1) и арахиса (белков Ara h 1, Ara h 2 и Ara h 3). Однако их результаты не были апробированы клинически [88, 89]. Использование технологии *CRISPR/Cas9* для получения куриных яиц с мутантным геном основного аллергенного белка – овомукоида – открывает перспективы создания гипоаллергенного варианта этого пищевого сырья [90]. Выделена комплементарная ДНК Ara h 3-im, родственная Ara h 3, кодирующей основной аллергенный белок арахиса. Белок арахин, кодируемый этой ДНК, обладает низкими аллергенными свойствами и потенциально может позволить выращивать менее аллергенный арахис [91]. Однако подобные генетические манипуляции затруднены многими законодательными актами и в России пока не нашли широкого распространения.

Выводы

В статье приведена классификация пищевых аллергенов по источникам их происхождения. Приведены основные аллергенные белки растительного и животного происхождения. Приведены два класса пищевых аллергенов по их стабильности и способности сохранять антигенные свойства при термической и ферментативной обработке.

Поскольку в настоящее время не определены пороговые значения основных аллергенов в продуктах

питания, производитель обязан указывать на этикетке компоненты пищевой продукции, способные вызывать аллергию независимо от их количества.

В настоящее время наиболее широко применяемыми методами получения гипоаллергенных компонентов пищевого сырья и продуктов питания являются ферментативная и термическая обработка. В последние годы появился ряд новых подходов снижения аллергенности компонентов пищевого сырья и получения гипоаллергенных продуктов. Ферментативную обработку комбинируют с такими видами физического воздействия на пищевое сырьё, как высокое гидростатическое давление и ультразвук высокой интенсивности. Использование ферментативной активности микроорганизмов вместо обработки ферментами – новое перспективное направление в получении гипоаллергенного сырья.

Достижения протеомики открывают новые подходы к снижению аллергенности пищевого сырья, такие как химическая модификация аллергенных белков (гликозилирование, фосфорилирование, ацилирование) и комплексообразование с полифенолами, антоцианами и другими соединениями.

Наиболее перспективным подходом получения гипоаллергенного сырья считается его генетическая модификация с целью подавления нативных генов, кодирующих аллергенные белки, селекция с использованием генотипов и генетических маркеров низкой аллергенности и селективный отбор низкоаллергенных сортов. Однако современные методики гипоаллергенизации посредством генетических изменений все еще сложны, трудоемки и недостаточно изучены.

Несмотря на то, что по всем описанным подходам результаты являются многообещающими, они нуждаются в обосновании и клинических испытаниях, чтобы окончательно подтвердить возможность их использования для производства гипоаллергенных продуктов питания.

Критерии авторства

В. В. Бахарев руководил проектом. Д. А. Громов и А. В. Борисова выполнили основной литературный обзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.V. Bakharev supervised the project. D.A. Gromov and A.V. Borisova reviewed the available scientific articles.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Food allergy in adults: Substantial variation in prevalence and causative foods across Europe / S. A. Lyons [et al.] // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2019. Vol. 7. № 6. P. 1920–1928. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.02.044>.
2. Сидорович О. И., Лусс Л. В., Цывкина Е. А. Пищевая аллергия как проявление перекрестной реакции на ингаляционные аллергены // *Астма и аллергия*. 2017. № 1. С. 26–32.
3. Грищенко Е. А. Базовые понятия аллергологии (часть 1) // *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2016. Т. 47. № 4. С. 37–44. <https://doi.org/10.24411/2500-1175-2016-00023>.
4. Sicherer S. H., Sampson H. A. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018. Vol. 141. № 1. P. 41–58. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.11.003>.
5. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis / B. I. Nwaru [et al.] // *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014. Vol. 69. № 8. P. 992–1007. <https://doi.org/10.1111/all.12423>.
6. Japanese guidelines for food allergy 2020 / M. Ebisawa [et al.] // *Allergology International*. 2020. Vol. 69. № 3. P. 370–386. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2020.03.004>.
7. Prevalence and correlates of food allergy among medicaid-enrolled United States children / L. A. Bilaver [et al.] // *Academic Pediatrics*. 2021. Vol. 21. № 1. P. 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.acap.2020.03.005>.
8. Prevalence of food sensitization and food allergy in children across Europe / S. A. Lyons [et al.] // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2020. Vol. 8. № 8. P. 2736–2746. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.04.020>.
9. Кцюн Л. А., Бабакехвян Т. М. Современные взгляды на патогенез аллергических заболеваний // *Трудный пациент*. 2016. Т. 14. № 8–9. С. 34–39.
10. Частота встречаемости и особенности течения аллергических реакций у взрослых / Г. С. Жумабекова [и др.] // *Медицина и экология*. 2017. Т. 84. № 3. С. 74–77.
11. Food allergy is associated with depression and psychological distress: A web-based study in 11,876 Japanese / S. Hidese [et al.] // *Journal of Affective Disorders*. 2019. Vol. 245. P. 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.10.119>.
12. Лабораторные предикторы эффективности аллергенспецифической иммунотерапии пыльцевыми аллергенами у детей с поллинозом и перекрестной пищевой аллергией / О. А. Ерешко [и др.] // *Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского*. 2017. Т. 96. № 2. С. 41–46.
13. Прилуцкий А. С., Лыгина Ю. А. Аллергия к лимону: обзор литературы // *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2019. Т. 59. № 4. С. 4–14. <https://doi.org/10.24411/2500-1175-2019-00017>.
14. Использование индивидуально подобранной гипоаллергенной диеты в лечении больных с воспалительными заболеваниями кишечника / О. А. Крюкова [и др.] // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019. Т. 162. № 2. С. 28–35. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-162-2-28-35>.
15. Крюкова О. А., Матышева Н. Н., Дрыгин А. Н. Применение гипоаллергенных диет в лечении больных с воспалительными заболеваниями кишечника // *Медицина: теория и практика*. 2019. Т. 4. № 1. С. 205–213.
16. Food allergens: Classification, molecular properties, characterization, and detection in food sources / L. Monaci [et al.] // *Advances in food and nutrition research*. Vol. 93 / F. Toldra editor. Elsevier, 2020. P. 113–146. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.03.001>.
17. Беркетова Л. В., Христинина Е. В. Аллергены в продуктах питания // *Бюллетень науки и практики*. 2018. Т. 4. № 12. С. 197–207. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2256763>.
18. Ревякина В. А. Проблема пищевой аллергии на современном этапе // *Вопросы питания*. 2020. Т. 89. № 4. С. 186–192. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10052>.
19. Агафонова Е. В., Решетникова И. Д., Фассахов Р. С. Компонентная аллергодиагностика: возможности прогнозирования эффективности аллерген-специфической иммунотерапии // *Практическая медицина*. 2016. Т. 95. № 3. С. 7–12.
20. Фенотипы пищевой аллергии у детей / В. А. Ревякина [и др.] // *Вопросы питания*. 2016. Т. 85. № 1. С. 75–80. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2016-00009>.
21. Гамбаров С. С., Кцюн Л. А. Реалии современной аллергологии, аллергодиагностики // *Трудный пациент*. 2019. Т. 17. № 3. С. 47–50. <https://doi.org/10.24411/2074-1995-2019-10020>.
22. Fruit allergies: Beware of the seed allergens! / A. Barre [et al.] // *Revue Française d'Allergologie*. 2018. Vol. 58. № 4. P. 308–317. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2018.01.009>.
23. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families / M. Sinha [et al.] // *The Scientific World Journal*. 2014. Vol. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/543195>.
24. Pathogenesis related proteins: A defensin for plants but an allergen for humans / R. Arora [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 157. P. 659–672. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.223>.

25. Ткаченко К. Е., Прилуцкий А. С. Сенсibilизация к антигенам различных сортов яблока у лиц взрослого возраста // *Медицинская иммунология*. 2017. Т. 19. № 5.
26. Грищенко Е. А. Базовые понятия аллергологии (часть 2) // *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2017. Т. 48. № 1. С. 36–48. <https://doi.org/10.24411/2500-1175-2017-00006>.
27. Особенности клинических фенотипов пищевой аллергии при синдроме перекрестной реактивности / Т. А. Евдокимова [и др.] // *Вопросы современной педиатрии*. 2013. Т. 12. № 2. С. 6–11.
28. Cow's milk allergens: Screening gene markers for the detection of milk ingredients in complex meat products / C. Villa [et al.] // *Food Control*. 2020. Vol. 108. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106823>.
29. Mikita C. P., Padlan E. A. Why is there a greater incidence of allergy to the tropomyosin of certain animals than to that of others? // *Medical Hypotheses*. 2007. Vol. 69. № 5. P. 1070–1073. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.12.060>.
30. Molecular characterization of B-cell epitopes for the major fish allergen, parvalbumin, by shotgun proteomics, protein-based bioinformatics and IgE-reactive approaches / M. Carrera [et al.] // *Journal of Proteomics*. 2019. Vol. 200. P. 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.04.005>.
31. Пищевая аллергия к куриному яйцу: обзор современных исследований / М. М. Федотова [и др.] // *Бюллетень сибирской медицины*. 2018. Т. 17. № 2. С. 156–166. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-2-156-166>.
32. Cheng C. Codex Alimentarius Commission // *Encyclopedia of food security and sustainability* / P. Ferranti, E. M. Berry, J. R. Anderson editors. Elsevier, 2019. P. 50–55. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22376-7>.
33. Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children: Amendment to previous published articles in *Pediatric Allergy and Immunology* 2004, by an expert group set up by the Section on Pediatrics, European Academy of Allergology and Clinical Immunology / A. Høst [et al.] // *Pediatric Allergy and Immunology*. 2008. Vol. 19. № 1. P. 1–4. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2007.00680.x>.
34. Зорин С. Н., Сидорова Ю. С., Мазо В. К. Ферментативные гидролизаты белков молочной сыворотки и куриного яйца: получение, физико-химическая и иммунохимическая характеристики // *Вопросы питания*. 2020. Т. 89. № 1. С. 64–68. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10007>.
35. Зорин С. Н. Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания // *Вопросы питания*. 2019. Т. 88. № 3. С. 23–31. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026>.
36. Разработка биотехнологии гипоаллергенных безглютеновых хлебобулочных изделий / Л. И. Кузнецова [и др.] // *Вопросы питания*. 2018. Т. 87. № 5. С. 221–222. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10331>.
37. Пчелкина В. А. Гистологические методы выявления растительных белков-аллергенов в мясных продуктах // *Все о мясе*. 2016. № 1. С. 50–53.
38. Лях В. А., Федянина Л. Н., Смертина Е. С. Формирование и оценка потребительских свойств паштетов из гипоаллергенного сырья // *Техника и технология пищевых производств*. 2016. Т. 40. № 1. С. 32–38.
39. Способ получения функционального мясного крема: пат. 2716049С1 Российская Федерация. № 2019129548 / Патиева А. М. [и др.]; заявл. 18.09.2019; опубл. 05.03.2020, Бюл. № 7. 8 с.
40. Калтович И. А. Алгоритм создания инновационных мясных продуктов гипоаллергенной направленности // *Все о мясе*. 2016. № 4. С. 46–50.
41. Impact of food processing on the structural and allergenic properties of food allergens / E. N. Clare Mills [et al.] // *Molecular Nutrition and Food Research*. 2009. Vol. 53. № 8. P. 963–969. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800236>.
42. Mahler V., Goodman R. E. Definition and design of hypoallergenic foods // *Molecular allergy diagnostics: Innovation for a better patient management* / J. Kleine-Tebbe, T. Jakob editors. Cham: Springer, 2017. P. 487–511. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42499-6_27.
43. Food processing and allergenicity / K. C. M. Verhoeckx [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. 2015. Vol. 80. P. 223–240. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.03.005>.
44. Vanga S. K., Singh A., Raghavan V. Review of conventional and novel food processing methods on food allergens // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017. Vol. 57. № 10. P. 2077–2094. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1045965>.
45. L'Hocine L., Achouri A., Pitre M. Hypoallergenic foods: Development and relevance in the management of food allergy // *Encyclopedia of food chemistry* / L. Melton, F. Shahidi, P. Varelis editors. Elsevier, 2019. P. 419–427. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21762-9>.
46. Rahaman T., Vasiljevic T., Ramchandran L. Effect of processing on conformational changes of food proteins related to allergenicity // *Trends in Food Science and Technology*. 2016. Vol. 49. P. 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.001>.
47. Extended boiling of peanut progressively reduces IgE allergenicity while retaining T cell reactivity / B. Tao [et al.] // *Clinical and Experimental Allergy*. 2016. Vol. 46. № 7 P. 1004–1014. <https://doi.org/10.1111/cea.12740>.
48. Andjelkovic U. Food allergy and food allergens // *Comprehensive Foodomics* / A. Cifuentes editor. Elsevier, 2020. P. 157–174. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22844-8>.

49. Добрян Е. И., Ильина А. М., Горлова А. И. Получение функциональных продуктов на основе ферментативного гидролиза лактозы // Пищевая промышленность. 2019. № 4. С. 36–37. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10017>.
50. Низколактозное сливочное мороженое для диабетиков / Т. П. Арсеньева [и др.] // Процессы и аппараты пищевых производств. 2012. № 1. С. 1–7.
51. Gut peptidases from a specialist herbivore of latex plants are capable of milk protein hydrolysis: Inputs for hypoallergenic milk formulas / J. P. B. Oliveira [et al.] // Food Chemistry. 2018. Vol. 255. P. 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.032>.
52. Способ получения подкисленного белкового продукта из казеина и полученный таким образом продукт: пат. 2741528С2 Российская Федерация. № 2018120329 / Нурми Н., Мюллеринен П.; заявл. 02.11.2016; опубл. 26.01.2021, Бюл. № 3. 23 с.
53. Peanut allergen reduction and functional property improvement by means of enzymatic hydrolysis and transglutaminase crosslinking / S. Meng [et al.] // Food Chemistry. 2020. Vol. 302. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125186>.
54. Способ получения белкового гидролизата из зернового сырья: пат. 2604197С1 Российская Федерация. № 2015155684/10 / Мелешкина Е. П., Витол И. С., Карпиленко Г. П.; заявл. 25.12.2015; опубл. 10.12.2016, Бюл. № 34. 6 с.
55. Способ получения йогурта со сниженной аллергенностью сывороточных белков: пат. 2595393С1 Российская Федерация. № 2015136603/10 / Мельникова Е. И. [и др.]; заявл. 28.08.2015; опубл. 27.08.2016, Бюл. № 24. 7 с.
56. Способ обработки молочной сыворотки: пат. 2510849С1 Российская Федерация. № 2012145998/10 / Бакулин А. В. [и др.]; заявл. 30.10.2012; опубл. 10.04.2014, Бюл. № 10. 6 с.
57. Allergenicity reduction of bovine milk β -lactoglobulin by proteolytic activity of *Lactococcus lactis* BMC12C and BMC19H isolated from Iranian dairy products / R. Kazemi [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. Vol. 112. P. 876–881. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.044>.
58. Proteolytic action of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 656 reduces antigenic response to bovine β -lactoglobulin / M. Pescuma [et al.] // Food Chemistry. 2011. Vol. 127. № 2. P. 487–492. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.029>.
59. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 454 cleaves allergenic peptides of β -lactoglobulin / M. Pescuma [et al.] // Food Chemistry. 2015. Vol. 170. P. 407–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.086>.
60. Reducing antigenicity of bovine whey proteins by *Kluyveromyces marxianus* fermentation combined with ultrasound treatment / W. Zhao [et al.] // Food Chemistry. 2020. Vol. 311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125893>.
61. Hypoallergenic buckwheat flour preparation by *Rhizopus oligosporus* and its application to soba noodle / T. Handoyo [et al.] // Food Research International. 2006. Vol. 39. № 5. P. 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.12.003>.
62. Hypoallergenic casein hydrolysate for peptide-based oral immunotherapy in cow's milk allergy / H. M. Ueno [et al.] // Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2018. Vol. 142. № 1. P. 330–333. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.04.005>.
63. Changes in structure and allergenicity of shrimp tropomyosin by dietary polyphenols treatment / L. Lv [et al.] // Food Research International. 2021. Vol. 140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109997>.
64. Reducing the allergenic capacity of β -lactoglobulin by covalent conjugation with dietary polyphenols / X. Wu [et al.] // Food Chemistry. 2018. Vol. 256. P. 427–434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.158>.
65. Effect of chlorogenic acid covalent conjugation on the allergenicity, digestibility and functional properties of whey protein / H. Xu [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125024>.
66. Protein structure modification and allergenic properties of whey proteins upon interaction with tea and coffee phenolic compounds / T. B. Pessato [et al.] // Journal of Functional Foods. 2018. Vol. 51. P. 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.019>.
67. Chung S.-Y., Champagne E. T. Reducing the allergenic capacity of peanut extracts and liquid peanut butter by phenolic compounds // Food Chemistry. 2009. Vol. 115. № 4. P. 1345–1349. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.052>.
68. Peanut protein-polyphenol aggregate complexation suppresses allergic sensitization to peanut by reducing peanut-specific IgE in C3H/HeJ mice / R. R. Bansode [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125025>.
69. Glycation of β -lactoglobulin combined by sonication pretreatment reduce its allergenic potential / Y.-H. Shao [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. Vol. 164. P. 1527–1535. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.223>.
70. The mechanism of the reduction in allergenic reactivity of bovine α -lactalbumin induced by glycation, phosphorylation and acetylation / J. Liu [et al.] // Food Chemistry. 2020. Vol. 310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125853>.
71. Reduction of *in vitro* allergenicity of buckwheat Fag e 1 through the Maillard-type glycosylation with polysaccharides / S. Nakamura [et al.] // Food Chemistry. 2008. Vol. 109. № 3. P. 538–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.075>.
72. Dong X., Wang J., Raghavan V. Effects of high-intensity ultrasound processing on the physiochemical and allergenic properties of shrimp // Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020. Vol. 65. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102441>.
73. Towards understanding the effect of high pressure on food protein allergenicity: β -lactoglobulin structural studies / K. Kurpiewska [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 270. P. 315–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.104>.
74. High hydrostatic pressure effects on immunoreactivity and nutritional quality of soybean products / E. Peñas [et al.] // Food Chemistry. 2011. Vol. 125. № 2. P. 423–429. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.023>.

75. Hajós G., Polgár M., Farkas J. High-pressure effects on IgE immunoreactivity of proteins in a sausage batter // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2004. Vol. 5. № 4. P. 443–449. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.07.005>.
76. Effect of the extrusion process on allergen reduction and the texture change of soybean protein isolate-corn and soybean flour-corn mixtures / H. Zheng [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2020. Vol. 64. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102421>.
77. Effects of combined high pressure and thermal treatments on the allergenic potential of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) tropomyosin in a mouse model of allergy / F. Long [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2015. Vol. 29. P. 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.03.002>.
78. In vivo methods for testing allergenicity show that high hydrostatic pressure hydrolysates of β -lactoglobulin are immunologically inert / I. López-Expósito [et al.] // *Journal of Dairy Science*. 2012. Vol. 95. № 2. P. 541–548. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4646>.
79. Pepsin treatment of whey proteins under high pressure produces hypoallergenic hydrolysates / D. Lozano-Ojalvo [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017. Vol. 43. P. 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.032>.
80. High pressure processing assisted enzymatic hydrolysis – An innovative approach for the reduction of soy immunoreactivity / P. Meinschmidt [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017. Vol. 40. P. 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.022>.
81. The allergenic potential of walnuts treated with high pressure and heat in a mouse model of allergy / X. Yang [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017. Vol. 39. P. 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.001>.
82. Expression and epitope analysis of the major allergenic protein Fag e 1 from buckwheat / H. Yoshioka [et al.] // *Journal of Plant Physiology*. 2004. Vol. 161. № 7. P. 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.010>.
83. Yoshida S., Ichimura A., Shiomi K. Elucidation of a major IgE epitope of Pacific mackerel parvalbumin // *Food Chemistry*. 2008. Vol. 111. № 4. P. 857–861. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.062>.
84. Ogawa T., Samoto M., Takahashi K. Soybean allergens and hypoallergenic soybean products // *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2000. Vol. 46. № 6. P. 271–279. <https://doi.org/10.3177/jnsv.46.271>.
85. Low allergen wheat: patent JP2020110094A.
86. Characterization of a hypoallergenic wheat line lacking ω -5 gliadin / K. Kohno [et al.] // *Allergology International*. 2016. Vol. 65. № 4. P. 400–405. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2016.03.002>.
87. Hypoallergenic variant of the major egg white allergen gal d 1 produced by disruption of cysteine bridges / P. R. Dhanapala [et al.] // *Nutrients*. 2017. Vol. 9. № 2. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.12.1893>.
88. Production and characterization of eggs from hens with ovomucoid gene mutation / T. Mukae [et al.] // *Poultry Science*. 2021. Vol. 100. № 2. P. 452–460. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.10.026>.
89. Reduced allergenic potency of VR9-1, a mutant of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) / G. Reese [et al.] // *Journal of Immunology*. 2005. Vol. 175. № 12. P. 8354–8364. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.12.8354>.
90. A phase 1 study of heat/phenol-killed, *E. coli*-encapsulated, recombinant modified peanut proteins Ara h 1, Ara h 2, and Ara h 3 (EMP-123) for the treatment of peanut allergy / R. A. Wood [et al.] // *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013. Vol. 68. № 6. P. 803–808. <https://doi.org/10.1111/all.12158>.
91. Kang I.-H., Gallo M. Cloning and characterization of a novel peanut allergen Ara h 3 isoform displaying potentially decreased allergenicity // *Plant Science*. 2007. Vol. 172. № 2. P. 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.09.014>.

References

1. Lyons SA, Burney PGJ, Ballmer-Weber BK, Fernandez-Rivas M, Barreales L, Clausen M, et al. Food allergy in adults: Substantial variation in prevalence and causative foods across Europe. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2019;7(6):1920–1928. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.02.044>.
2. Sidorovich OI, Luss LV, Tsyvkina EA. Pishchevaya allergiya kak proyavlenie perekrestnoy reaktsii na ingyalyatsionnye allergeny [Food allergy as a manifestation of a cross-reaction to inhalation allergens]. *Astma i allergiya [Asthma and Allergy]*. 2017;(1):26–32. (In Russ.).
3. Grishchenko EA. Basic concepts of allergology. *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2016;47(4):37–44. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2500-1175-2016-00023>.
4. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018;141(1):41–58. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.11.003>.
5. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014;69(8):992–1007. <https://doi.org/10.1111/all.12423>.

6. Ebisawa M, Ito K, Fujisawa T, Aihara Y, Ito S, Imai T, et al. Japanese guidelines for food allergy 2020. *Allergology International*. 2020;69(3):370–386. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2020.03.004>.
7. Bilaver LA, Kanaley MK, Fierstein JL, Gupta RS. Prevalence and correlates of food allergy among medicaid-enrolled United States children. *Academic Pediatrics*. 2021;21(1):84–92. <https://doi.org/10.1016/j.acap.2020.03.005>.
8. Lyons SA, Clausen M, Knulst AC, Ballmer-Weber BK, Fernandez-Rivas M, Barreales L, et al. Prevalence of food sensitization and food allergy in children across Europe. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. 2020;8(8):2736–2746. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.04.020>.
9. Ktsoyan LA, Babakyokhvyan TM. Modern view upon the pathogenesis of allergic diseases. *Difficult Patient*. 2016;14(8–9):34–39. (In Russ.).
10. Zhumabekova GS, Ibrayev SA, Azhimetova GN, Ustemirova MM. Frequency and characteristics of allergic reactions state in adults at prehospital stage. *Medicine and Ecology*. 2017;84(3):74–77. (In Russ.).
11. Hidese S, Nogawa S, Saito K, Kunugi H. Food allergy is associated with depression and psychological distress: A web-based study in 11,876 Japanese. *Journal of Affective Disorders*. 2019;245:213–218. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.10.119>.
12. Ereshko OA, Makarova SG, Namazova-Baranova LS, Vishnyova EA, Snovskaya MA, Petrovskaya MI, et al. Laboratory efficiency predictors of allergen-specific immunotherapy of pollen allergens in children with pollinosis and cross food allergy. *Pediatrics*. *Journal named after G.N. Speransky*. 2017;96(2):41–46. (In Russ.).
13. Prilutskiy OS, Lyhina YuA. Allergy to lemon: review of literature. *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2019;59(4):4–14. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2500-1175-2019-00017>.
14. Kryukova OA, Matysheva NN, Drygin AN, Khavkin AI. Use of a customized hypoallergenic diet in treatment of patients with the inflammatory bowel diseases. *Experimental and Clinical Gastroenterology Journal*. 2019;162(2):28–35. (In Russ.). <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-162-2-28-35>.
15. Kryukova OA, Matysheva NN, Drygin AN. Use of a customized hypoallergenic diet in treatment of patients with the inflammatory bowel diseases. *Medicine: Theory and Practice*. 2019;4(1):205–213. (In Russ.).
16. Monaci L, Pilolli R, De Angelis E, Crespo JF, Novak N, Cabanillas B. Food allergens: Classification, molecular properties, characterization, and detection in food sources. In: Toldra F, editor. *Advances in food and nutrition research*. Vol. 93. Elsevier; 2020. pp. 113–146. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.03.001>.
17. Berketova LV, Khristinina EV. Allergens in food products. *Bulletin of Science and Practice*. 2018;4(12):197–207. (In Russ.). <https://doi.org/10.5281/zenodo.2256763>.
18. Revyakina VA. The problem of food allergies at the present stage. *Problems of Nutrition*. 2020;89(4):186–192. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10052>.
19. Agafonova EV, Reshetnikova ID, Fassakhov RS. Component allergy diagnostics: opportunities for predicting the effectiveness of allergen-specific immunotherapy. *Practical medicine*. 2016;95(3):7–12. (In Russ.).
20. Revyakina VA, Larkova IA, Kuvshinova ED, Shavkina MI, Mukhortykh VA. Phenotypes of food allergy in children. *Problems of Nutrition*. 2016;85(1):75–80. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2016-00009>.
21. Gambarov SS, Ktsoyan LA. Reality of modern allergology, allergy diagnostics. *Difficult Patient*. 2019;17(3):47–50. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2074-1995-2019-10020>.
22. Barre A, Simplicien M, Benoist H, Rougé P. Fruit allergies: Beware of the seed allergens! *Revue Française d'Allergologie*. 2018;58(4):308–317. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2018.01.009>.
23. Sinha M, Singh RP, Kushwaha GS, Iqbal N, Singh A, Kaushik S, et al. Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families. *The Scientific World Journal*. 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/543195>.
24. Arora R, Kumar A, Singh IK, Singh A. Pathogenesis related proteins: A defensin for plants but an allergen for humans. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;157:659–672. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.223>.
25. Tkachenko KE, Prilutskiy AS. Sensibilizatsiya k antigenam razlichnykh sortov yabloka u lits vzroslogo vozrasta [Sensitization to antigens of various apple varieties in adults]. *Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(S). (In Russ.).
26. Grishchenko EA. Basic concepts of allergology (Part 2). *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2017;48(1):36–48. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2500-1175-2017-00006>.
27. Evdokimova TA, Petrovskii FI, Ogorodova LM, Fedotova MM, Fedorova OS. Features of clinical phenotypes of food allergy syndrome of cross-reactivity. *Current Pediatrics*. 2013;12(2):6–11. (In Russ.).
28. Villa C, Costa J, Oliveira MBPP, Mafra I. Cow's milk allergens: Screening gene markers for the detection of milk ingredients in complex meat products. *Food Control*. 2020;108. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106823>.
29. Mikita CP, Padlan EA. Why is there a greater incidence of allergy to the tropomyosin of certain animals than to that of others? *Medical Hypotheses*. 2007;69(5):1070–1073. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.12.060>.
30. Carrera M, González-Fernández Á, Magadán S, Mateos J, Pedrós L, Medina I, et al. Molecular characterization of B-cell epitopes for the major fish allergen, parvalbumin, by shotgun proteomics, protein-based bioinformatics and IgE-reactive approaches. *Journal of Proteomics*. 2019;200:123–133. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.04.005>.

31. Fedotova MM, Fedorova OS, Konovalova YuV, Kamaltynova EM, Nagaeva TA, Ogorodova LM. Hen's egg allergy: an update. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018;17(2):156–166. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-2-156-166>.
32. Cheng C. Codex Alimentarius Commission. In: Ferranti P, Berry EM, Anderson JR, editors. *Encyclopedia of food security and sustainability*. Elsevier; 2019. pp. 50–55. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22376-7>.
33. Høst A, Halken S, Muraro A, Dreborg S, Niggemann B, Aalberse R, et al. Dietary prevention of allergic diseases in infants and small children: Amendment to previous published articles in *Pediatric Allergy and Immunology* 2004, by an expert group set up by the Section on Pediatrics, European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2008;19(1):1–4. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2007.00680.x>.
34. Zorin SN, Sidorova YuS, Mazo VK. Enzymatic hydrolysates of whey protein and chicken egg protein: Production, physical-chemical and immunochemical characteristics. *Problems of Nutrition*. 2020;89(1):64–68. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10007>.
35. Zorin SN. Enzymatic hydrolysates of food proteins for specialized foods for therapeutic and prophylactic nutrition. *Problems of Nutrition*. 2019;88(3):23–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10026>.
36. Kuznetsova LI, Savkina OA, Parakhina OI, Lokachuk MN. Razrabotka biotekhnologii gipoallergennykh bezglyutenovykh khlebobulochnykh izdeliy [New biotechnology for hypoallergenic gluten-free bakery products]. *Problems of Nutrition*. 2018;87(S5):221–222. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10331>.
37. Pchelkina VA. Histological methods for detection of plant protein allergens in meat products. *Vsyo o Myase*. 2016;(1):50–53. (In Russ.).
38. Lyakh VA, Fedyanina LN, Smertina ES. Development and evaluation of consumer properties of hypoallergenic meat pastes. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;40(1):32–38. (In Russ.).
39. Patieva AM, Zykova AV, Patieva SV, Verigina YuV, Lodyagina AP. Method for production of functional meat cream. Russia patent RU 2716049C1. 2020.
40. Kaltovich IV. Hypoallergenic meat products creation method. *Vsyo o Myase*. 2016;(5):46–50. (In Russ.).
41. Clare Mills EN, Sancho AI, Rigby NM, Jenkins JA, Mackie AR. Impact of food processing on the structural and allergenic properties of food allergens. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2009;53(8):963–969. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800236>.
42. Mahler V, Goodman RE. Definition and design of hypoallergenic foods. In: Kleine-Tebbe J, Jakob T, editors. *Molecular allergy diagnostics: Innovation for a better patient management*. Cham: Springer; 2017. pp. 487–511. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42499-6_27.
43. Verhoeckx KCM, Vissers YM, Baumert JL, Faludi R, Feys M, Flanagan S, et al. Food processing and allergenicity. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;80:223–240. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.03.005>.
44. Vanga SK, Singh A, Raghavan V. Review of conventional and novel food processing methods on food allergens. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(10):2077–2094. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1045965>.
45. L'Hocine L, Achouri A, Pitre M. Hypoallergenic foods: Development and relevance in the management of food allergy. In: Melton L, Shahidi F, Varelis P, editors. *Encyclopedia of food chemistry*. Elsevier; 2019. pp. 419–427. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21762-9>.
46. Rahaman T, Vasiljevic T, Ramchandran L. Effect of processing on conformational changes of food proteins related to allergenicity. *Trends in Food Science and Technology*. 2016;49:24–34. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.001>.
47. Tao B, Bernardo K, Eldi P, Chegeni N, Wiese M, Colella A, et al. Extended boiling of peanut progressively reduces IgE allergenicity while retaining T cell reactivity. *Clinical and Experimental Allergy*. 2016;46(7):1004–1014. <https://doi.org/10.1111/cea.12740>.
48. Andjelkovic U. Food allergy and food allergens. In: Cifuentes A, editor. *Comprehensive Foodomics*. Elsevier; 2020. pp. 157–174. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22844-8>.
49. Dobriyan EI, Ilyina AM, Gorlova AI. The manufacture of functional products based on lactose fermentative hydrolysis. *Food Industry*. 2019;(4):36–37. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10017>.
50. Arsenjeva TP, Yakovleva YuA, Maksotova RM, Orazbek AO. Low lactose level creamy ice-cream for diabetics. *Protsessy i apparaty pishchevykh proizvodstv [Food Production Processes and Facilities]*. 2012;(1):1–7. (In Russ.).
51. Oliveira JPB, Ramos MV, Lopes FES, Studart IC, Oliveira JS, Lobo MDP, et al. Gut peptidases from a specialist herbivore of latex plants are capable of milk protein hydrolysis: Inputs for hypoallergenic milk formulas. *Food Chemistry*. 2018;255:260–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.032>.
52. Nurmi N, Myllarinen P. Method for producing acidified protein product from casein and product thus obtained. Russia patent RU 2741528C2. 2021.
53. Meng S, Tan Y, Chang S, Li J, Maleki S, Puppala N, et al. Peanut allergen reduction and functional property improvement by means of enzymatic hydrolysis and transglutaminase crosslinking. *Food Chemistry*. 2020;302. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125186>.

54. Meleshkina EP, Vitol IS, Karpilenko GP. Method of producing protein hydrolysate from grain raw material. Russia patent RU 2604197C1. 2016.
55. Melnikova EI, Bogdanova EV, Ponomareva NV, Korzhov RP. Method for production of yoghurt with reduced allergenicity of whey proteins. Russia patent RU 2595393C1. 2016.
56. Bakulin AV, Lopatin SA, Shcherbinina TS, Varlamov VP, Kurchenko VP, Agarkova EYu, et al. Method of whey processing. Russia patent RU 2510849C1. 2014.
57. Kazemi R, Taheri-Kafrani A, Motahari A, Kordesedehi R. Allergenicity reduction of bovine milk β -lactoglobulin by proteolytic activity of *Lactococcus lactis* BMC12C and BMC19H isolated from Iranian dairy products. International Journal of Biological Macromolecules. 2018;112:876–881. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.044>.
58. Pescuma M, Hébert EM, Rabesona H, Drouet M, Choiset Y, Haertlé T, et al. Proteolytic action of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 656 reduces antigenic response to bovine β -lactoglobulin. Food Chemistry. 2011;127(2):487–492. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.029>.
59. Pescuma M, Hébert EM, Haertlé T, Chobert J-M, Mozzi F, Font De Valdez G. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 454 cleaves allergenic peptides of β -lactoglobulin. Food Chemistry. 2015;170:407–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.086>.
60. Zhao W, Shu Q, He G, Qihe C. Reducing antigenicity of bovine whey proteins by *Kluyveromyces marxianus* fermentation combined with ultrasound treatment. Food Chemistry. 2020;311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125893>.
61. Handoyo T, Maeda T, Urisu A, Adachi T, Morita N. Hypoallergenic buckwheat flour preparation by *Rhizopus oligosporus* and its application to soba noodle. Food Research International. 2006;39(5):598–605. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.12.003>.
62. Ueno HM, Kato T, Ohnishi H, Kawamoto N, Kato Z, Kaneko H, et al. Hypoallergenic casein hydrolysate for peptide-based oral immunotherapy in cow's milk allergy. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2018;142(1):330–333. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.04.005>.
63. Lv L, Qu X, Yang N, Liu Z, Wu X. Changes in structure and allergenicity of shrimp tropomyosin by dietary polyphenols treatment. Food Research International. 2021;140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109997>.
64. Wu X, Lu Y, Xu H, Lin D, He Z, Wu H, et al. Reducing the allergenic capacity of β -lactoglobulin by covalent conjugation with dietary polyphenols. Food Chemistry. 2018;256:427–434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.158>.
65. Xu H, Zhang T, Lu Y, Lin X, Hu X, Liu L, et al. Effect of chlorogenic acid covalent conjugation on the allergenicity, digestibility and functional properties of whey protein. Food Chemistry. 2019;298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125024>.
66. Pessato TB, de Moraes FPR, de Carvalho NC, Figueira ACM, Fernandes LGR, Zollner RDL, et al. Protein structure modification and allergenic properties of whey proteins upon interaction with tea and coffee phenolic compounds. Journal of Functional Foods. 2018;51:121–129. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.019>.
67. Chung S-Y, Champagne ET. Reducing the allergenic capacity of peanut extracts and liquid peanut butter by phenolic compounds. Food Chemistry. 2009;115(4):1345–1349. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.052>.
68. Bansode RR, Randolph PD, Plundrich NJ, Lila MA, Williams LL. Peanut protein-polyphenol aggregate complexation suppresses allergic sensitization to peanut by reducing peanut-specific IgE in C3H/HeJ mice. Food Chemistry. 2019;299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125025>.
69. Shao Y-H, Zhang Y, Zhu M-F, Liu J, Tu Z-C. Glycation of β -lactoglobulin combined by sonication pretreatment reduce its allergenic potential. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;164:1527–1535. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.223>.
70. Liu J, Chen W-M, Shao Y-H, Zhang J-L, Tu Z-C. The mechanism of the reduction in allergenic reactivity of bovine α -lactalbumin induced by glycation, phosphorylation and acetylation. Food Chemistry. 2020;310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125853>.
71. Nakamura S, Suzuki Y, Ishikawa E, Yakushi T, Jing H, Miyamoto T, et al. Reduction of *in vitro* allergenicity of buckwheat Fag e 1 through the Maillard-type glycosylation with polysaccharides. Food Chemistry. 2008;109(3):538–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.075>.
72. Dong X, Wang J, Raghavan V. Effects of high-intensity ultrasound processing on the physiochemical and allergenic properties of shrimp. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020;65. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102441>.
73. Kurpiewska K, Biela A, Loch JI, Lipowska J, Siuda M, Lewiński K. Towards understanding the effect of high pressure on food protein allergenicity: β -lactoglobulin structural studies. Food Chemistry. 2019;270:315–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.104>.
74. Peñas E, Gomez R, Frias J, Baeza ML, Vidal-Valverde C. High hydrostatic pressure effects on immunoreactivity and nutritional quality of soybean products. Food Chemistry. 2011;125(2):423–429. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.023>.
75. Hajós G, Polgár M, Farkas J. High-pressure effects on IgE immunoreactivity of proteins in a sausage batter. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2004;5(4):443–449. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.07.005>.

76. Zheng H, Yan G, Lee Y, Alcaraz C, Marquez S, de Mejia EG. Effect of the extrusion process on allergen reduction and the texture change of soybean protein isolate-corn and soybean flour-corn mixtures. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2020;64. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102421>.
77. Long F, Yang X, Wang R, Hu X, Chen F. Effects of combined high pressure and thermal treatments on the allergenic potential of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) tropomyosin in a mouse model of allergy. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2015;29:119–124. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.03.002>.
78. López-Expósito I, Chicón R, Belloque J, López-Fandiño R, Berin MC. In vivo methods for testing allergenicity show that high hydrostatic pressure hydrolysates of β -lactoglobulin are immunologically inert. *Journal of Dairy Science*. 2012;95(2):541–548. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4646>.
79. Lozano-Ojalvo D, Pérez-Rodríguez L, Pablos-Tanarro A, López-Fandiño R, Molina E. Pepsin treatment of whey proteins under high pressure produces hypoallergenic hydrolysates. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017;43:154–162. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.07.032>.
80. Meinschmidt P, Brode V, Sevenich R, Ueberham E, Schweiggert-Weisz U, Lehmann J, et al. High pressure processing assisted enzymatic hydrolysis – An innovative approach for the reduction of soy immunoreactivity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017;40:58–67. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.022>.
81. Yang X, Sun J, Tao J, Ma Y, Wei J, Long F. The allergenic potential of walnuts treated with high pressure and heat in a mouse model of allergy. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017;39:165–170. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.001>.
82. Yoshioka H, Ohmoto T, Urisu A, Mine Y, Adachi T. Expression and epitope analysis of the major allergenic protein Fag e 1 from buckwheat. *Journal of Plant Physiology*. 2004;161(7):761–767. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.010>.
83. Yoshida S, Ichimura A, Shiomi K. Elucidation of a major IgE epitope of Pacific mackerel parvalbumin. *Food Chemistry*. 2008;111(4):857–861. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.062>.
84. Ogawa T, Samoto M, Takahashi K. Soybean allergens and hypoallergenic soybean products. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2000;46(6):271–279. <https://doi.org/10.3177/jnsv.46.271>.
85. Low allergen wheat. Patent JP2020110094A.
86. Kohno K, Takahashi H, Endo TR, Matsuo H, Shiwaku K, Morita E. Characterization of a hypoallergenic wheat line lacking ω -5 gliadin. *Allergology International*. 2016;65(4):400–405. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2016.03.002>.
87. Dhanapala PR, Withanage-Dona D, Tang MLK, Doran T, Suphioglu C. Hypoallergenic variant of the major egg white allergen gal d 1 produced by disruption of cysteine bridges. *Nutrients*. 2017;9(2). <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.12.1893>.
88. Mukae T, Yoshii K, Watanobe T, Tagami T, Oishi I. Production and characterization of eggs from hens with ovomucoid gene mutation. *Poultry Science*. 2021;100(2):452–460. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.10.026>.
89. Reese G, Viebranz J, Leong-Kee SM, Plante M, Lauer I, Randow S, et al. Reduced allergenic potency of VR9-1, a mutant of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin). *Journal of Immunology*. 2005;175(12):8354–8364. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.12.8354>.
90. Wood RA, Sicherer SH, Burks AW, Grishin A, Henning AK, Lindblad R, et al. A phase I study of heat/phenol-killed, *E. coli*-encapsulated, recombinant modified peanut proteins Ara h 1, Ara h 2, and Ara h 3 (EMP-123) for the treatment of peanut allergy. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013;68(6):803–808. <https://doi.org/10.1111/all.12158>.
91. Kang I-H, Gallo M. Cloning and characterization of a novel peanut allergen Ara h 3 isoform displaying potentially decreased allergenicity. *Plant Science*. 2007;172(2):345–353. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.09.014>.

Формирование качественных характеристик соевого солода посредством использования активатора роста органической природы



Ю. Ю. Миллер^{1,*}, Т. Ф. Киселева², Ю. В. Арышева²

¹ Сибирский университет потребительской кооперации^{ROR}, Новосибирск, Россия

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

Дата поступления в редакцию: 21.01.2021

Дата принятия в печать: 22.02.2021



*e-mail: miller.yuliya@mail.ru

© Ю. Ю. Миллер, Т. Ф. Киселева, Ю. В. Арышева, 2021

Аннотация.

Введение. Перспективным сырьем в пищевых технологиях можно считать сою, отличающуюся высоким содержанием белка и аминокислот. Однако использовать данное сырье в производстве продуктов питания, в частности в напитках, возможно, предварительно снизив в ней уровень антипитательных соединений. Цель исследования – получение солода на основе сои, обладающего высокой ферментативной активностью, низким содержанием антипитательных веществ и повышенной пищевой ценностью.

Объекты и методы исследования. Сорты сои Дальневосточной селекции и солода на их основе. В работе применялись стандартные методы контроля качества сырья, полупродуктов и готовой продукции пивобезалкогольной отрасли, метод капиллярного электрофореза, спектрофотометрический и потенциометрический методы.

Результаты и их обсуждение. Проведение проращивания сои всех сортов способствует накоплению гидролитических ферментов и аминокислот в зерне. Использование на стадии замачивания комплекса органических кислот из цикла Кребса в концентрации 10^{-9} моль/дм³ стимулирует гидролитические процессы в сое и приводит к увеличению амилолитической, протеолитической и липоксигеназной активностей на 11, 22 и 12 % соответственно. Уровень уреазы, коррелирующий с содержанием антипитательных веществ, снижается в 2 раза от уровня исходной сои и составляет 0,4–0,5 ед. рН. Сокращается продолжительность стадии проращивания до 2,5–3 суток, повышается содержание аминокислот на 33–35 % в сравнении с необрабатываемым при замачивании солодом.

Выводы. Проведение солодоращения сои с применением комплекса органических кислот позволяет получить соевый солод с высокими качественными и технологическими показателями, повышенным уровнем аминокислот, допустимым уровнем антипитательных веществ, пригодным в производстве пищевых продуктов, в частности напитков.

Ключевые слова. Соя, солод, солодоращение, антипитательные вещества, ферментативная активность, аминокислоты, правильное питание

Для цитирования: Миллер Ю. Ю., Киселева Т. Ф., Арышева Ю. В. Формирование качественных характеристик соевого солода посредством использования активатора роста органической природы // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 248–259. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-248-259>.

Original article

Available online at <http://fppt.ru/eng>

Forming Soy Malt Quality with Organic Growth Promoters

Yuliya Yu. Miller^{1,*}, Tatyana F. Kiseleva², Iulia V. Arysheva²

¹ Siberian University of Consumer Cooperatives^{ROR}, Novosibirsk, Russia

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

Received: January 21, 2021

Accepted: February 22, 2021



*e-mail: miller.yuliya@mail.ru

© Yu.Yu. Miller, T.F. Kiseleva, Iu.V. Arysheva, 2021

Abstract.

Introduction. Soy is one of the most promising plant raw materials as it is rich in proteins and amino acids. However, its content of anti-nutritive compounds is too high to be used in food and beverage industry without precure. The research objective was to obtain soy-based malt with a high enzymatic activity, low content of anti-nutritional substances, and increased nutritional value.

Study objects and methods. The study featured Far-Eastern soybean varieties and malt. It involved standard methods of quality control of raw materials, semi-finished products, and finished products of beer and alcohol industry, as well as the capillary electrophoresis, spectrophotometry, and potentiometry.

Results and discussion. Germination of soybeans of all varieties contributed to the accumulation of hydrolytic enzymes and amino acids in the grain. The use of a complex of organic acids from the Krebs cycle at a concentration of 10^{-9} mol/dm³ at the soaking stage increased amylolytic, proteolytic, and lipoxygenase hydrolytic processes by 11, 22, and 12%, respectively. The level of urease, which correlates with the content of anti-nutritional substances, decreased by two times from the original level and was 0.4–0.5 units of pH. Germination stage fell down to 2.5–3 days, while the content of amino acids increased by 33–35% in comparison with unprocessed malt during soaking.

Conclusion. The use of organic acids in soy malting improved the quality and technological indicators, increased the level of amino acids, and decreased the level of anti-nutritional substances, making soy malt suitable for beverage industry.

Keywords. Soy, malt, malting, anti-nutritional substances, enzymatic activity, amino acids, proper nutrition

For citation: Miller YuYu, Kiseleva TF, Arysheva IuV. Forming Soy Malt Quality with Organic Growth Promoters. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):248–259. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-248-259>.

Введение

Огромную роль в полноценной жизни человека играет питание, являющиеся фундаментальной базой здоровья. Правильное питание, основанное на определенных принципах, способствует не только укреплению здоровья, в том числе повышению иммунитета, улучшению функционирования отдельных органов и снижению веса, но и получению положительных эмоций. Многочисленные оздоровительные программы и проекты, проходящие во многих странах мира, демонстрируют роль и значимость улучшения структуры питания в снижении заболеваемости и смертности населения. Поэтому правильное питание считается приоритетным фактором, обеспечивающим высокую продолжительность жизни и ее качество.

Организация правильного питания должна основываться на современных научных подходах, основной целью которых является сохранение здоровья человека и обеспечение его трудоспособности. При правильном питании нужно соблюдать следующие принципы: режим питания, калорийность и разнообразие рациона, а также его рациональное распределение в течение всего дня. Повышенное внимание уделяется гармоничности и сбалансированности употребляемой пищи, которая должна интегрировать в себе все необходимые макро- и микронутриенты. Белки всегда позиционируются как основной «строительный материал», с которым тесно связаны все жизненные процессы, такие как обмен веществ, рост и развитие молодого организма, регенерация клеток в зрелом возрасте. Углеводы и жиры выполняют энергетическую функцию. Витамины и минеральные вещества участвуют в регулировании процессов, происходящих в организме человека, а вода выступает в качестве универсального растворителя.

Присутствующие в рационе питания человека белки выполняют не только строительную функцию, но и выступают в качестве органических катализаторов, ускоряющих биохимические процессы в организме человека. Кроме этого, белки входят в состав гормонов, являются факторами роста, выполняют транспортную функцию, насыщая ткани кислородом и питательными веществами, а также являются источниками аминокислот. Белки являются незаменимыми компонентами питания человека, поскольку не имеют возможности накапливаться в организме. Особое внимание при питании человека уделяется употреблению белков животного происхождения. Это обусловлено их высокой биологической ценностью, критерием которой служит аминокислотный скор белка, имеющий явное преимущество относительно аминокислотного сора белков из растительного сырья. Однако при составлении суточного рациона на долю белков животного происхождения отводится около 55–60 %, что говорит о необходимости введения в рацион также продуктов растительного происхождения с повышенным содержанием белка.

Приоритетным источником растительного белка принято считать бобовые. Соя является одной из самых высокобелковых сельскохозяйственных культур, возделываемых в мире. Это свойство позволяет использовать ее в приготовлении различных готовых блюд и основ для их получения в качестве заменителя животного белка. Уникальность соевого зерна с точки зрения использования его в пищевой промышленности заключается в одновременном получении из него масла и высокобелковых жмыха и шрота, являющихся сырьем для производства широкого ассортимента пищевых продуктов с высоким содержанием белка. Из соевого зерна производят соевое молоко, мисо, тофу, солод, муку, соевые ростки, соевые соусы, изоляты и другие продукты [1–6]. При этом традиционным можно

считать использование соевой культуры в производстве ферментированных и неферментированных продуктов [7, 8].

Соя является уникальным зерновым сырьем, сочетающим в себе масличность и белковость с присутствием ценных витаминов и зольных элементов. Химический состав семян сои по содержанию белка и свободных аминокислот выделяется в сравнении с другими широко распространенными высокобелковыми пищевыми продуктами, такими как фасоль, творог, яйцо куриное и др. В зерне сои содержится 38–43 % белка, в оболочках – 4,9–6,7 %. Белок сои генеративный. В зависимости от сортовых особенностей он на 88–95 % представлен водорастворимой фракцией, включающей альбумины (8–25 %), легкорастворимые (60–81 %) и труднорастворимые глобулины (3–7 %). На долю экстрактивных азотных веществ приходится 15–20 % общего азота, а нерастворимый остаток составляет не более 5 % [9–11]. Глобулиновая фракция состоит из двух компонентов, различающихся константами седиментации (11S и 7S). Аминокислотный состав глобулина следующий: незаменимые аминокислоты – валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан и фенилаланин; заменимые – аланин, аргинин, аспаргиновая кислота, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, пролин, серин, тирозин и цистеин.

Кроме азотистых соединений большое внимание по химическому составу соевой культуры уделяется содержанию в ней ферментов, поскольку ферментативные процессы оказывают существенное влияние на химический состав данной бобовой культуры и возможности ее использования в производстве пищевых продуктов. Ферментный потенциал сои достаточно разнообразен и представлен следующими соединениями: уреазы, липаза, липоксигеназа, протеаза, протеиназа, каталаза, пероксидаза, фитаза, редуктаза и др., активность которых изменяется в ту или иную сторону в процессе проращивания зерна.

Жирорасщепляющие ферменты присутствуют в зерне в виде двух соединений в активном состоянии (даже в нативном непророщенном зерне) в сравнении с другими злаковыми. При этом липоксигеназа, присутствующая в сое, способна сохранять свою активность даже при повышении pH до 12 ед. Присутствие данных ферментов в зерне играет отрицательную роль, поскольку они провоцируют при расщеплении липидов и жирных кислот образование соединений с неприятным запахом прогорклости.

Протеолитические ферменты сои представлены в виде двух белокгидролизующих систем. Их принципиальное отличие заключается в оптимальном их действии относительно уровня pH – 5,5 и 7,0. Доказано, что действие этих ферментов влияет только на белок пророщенного зерна, что объясняется модификацией белка сои в процессе проращивания за счет разрушения четвертичной структуры.

Это подготавливает белок к воздействию на него протеаз. Приоритетную роль в проведении подобной модификации играют синтезированные протеазы, образование которых происходит в первые часы замачивания зерна. Совместное действие пептидаз и протеиназ в зерне обеспечивают полный распад его протеиновых соединений.

Зерно сои содержит незначительное количество ферментов амилотического действия, которые представлены β -амилазой. Ее содержание в зерне зависит от сортовых особенностей и климатических условий выращивания сои. При этом β -амилаза может содержаться как в пророщенном, так и непророщенном зерне данной бобовой культуры.

Особое внимание ферментной системы сои уделяется содержанию в ней уреазы, поскольку данный фермент является косвенным ориентиром пищевой ценности сои. Уреазы – однокомпонентный фермент из группы амидаз, катализирующий реакцию расщепления мочевины с образованием аммиака и углекислого газа, поэтому присутствие уреазы в активной форме в пищевых продуктах нежелательно. Кроме этого, по наличию активной уреазы в сое следует ожидать присутствия в высоких концентрациях антипитательных веществ, таких как ингибиторы протеаз, сапонины, танины и др. Наибольшее значение при использовании сои в пищевых продуктах уделяется ингибиторам протеолитических ферментов (трипсина и химотрипсина), которые разделяют на три уровня активности ферментов – низкий, средний и высокий. Соевая культура относится к зерну с высоким уровнем трипсинингибиторной активности. Вследствие этого ее использование без специальной обработки, снижающей концентрацию антипитательных веществ, в качестве сырья для производства пищевых продуктов невозможно.

На сегодняшний день существует большое количество методов и технологических приемов, изменяющих химический состав сои и позволяющих минимизировать концентрацию антипитательных веществ в сое, тем самым повышая ее пищевую ценность [12–19]. Эффективным действием инактивации трипсина считается термическая обработка зерна, при которой активность антипитательных соединений падает. При этом снижение происходит в той же степени, что и снижение активности уреазы. В связи с этим оценку содержания в сое антипитательных веществ проводят по определению активности фермента уреазы, поскольку активность данного фермента напрямую коррелирует с концентрацией трипсина в соевой культуре.

Повышение температуры при обработке сои до 115 °C посредством автоклавирования и выдержка при этой температуре в течение 20 мин позволяет полностью разрушить ингибиторы трипсина и частично расщепить антивитамины, фитаты и другие нежелательные соединения, снижающие пищевую ценность сои.

В ряде стран при использовании белковых продуктов из семян бобовых культур в хлебопечении, кондитерской и других отраслях пищевой промышленности особое внимание уделяется подтверждению отсутствия высокой активности как ингибиторов ферментов, так и лектинов. По сравнению с ингибиторами ферментов снижение активности лектинов может быть достигнуто при применении мягких режимов обработки (нагревание при 80 °С).

Применение термоденатурации в качестве приема снижения антипитательных веществ зерна в определенных пределах позволяет увеличить перевариваемость соевых белков за счет повышения активности протеолитических ферментов, гидролизующих белки. Сама соя после проведения инактивации антипитательных веществ становится более полноценной с точки зрения пищевой ценности, поскольку содержит большое количество незаменимых аминокислот.

Интересным способом снижения активности уреазы в сое и в ее оболочке является использование хитозана, действие которого направлено на связывание фермента уреазы через сульфгидрильные группы. Данная иммобилизация уреазы приводит к снижению ее активности на 50 % [16].

Хорошие результаты дает обработка сои инфракрасными лучами различной мощности (814, 1003, 1208 и 1342 Вт). Данный способ позволяет проводить обработку сухого и замоченного зерна. В последнем случае рекомендуется увеличить продолжительность до 30–45 мин, в то время как сухое зерно можно выдерживать под инфракрасными лучами около 10–15 мин в зависимости от их мощности. Такое воздействие позволяет снизить не только активность уреазы, но и ингибитора трипсина и липоксигеназ [17].

Известен способ твердофазного брожения (SSF) с применением микроорганизмов *Lactobacillus casei*,

позволяющий изменить химический состав соевой муки в лучшую сторону, в том числе по содержанию в ней изофлавонов, фенольных кислот, антиоксидантных соединений, витаминов В₁ и В₂. В то же время данный способ брожения приводит к снижению нежелательных соединений, таких как липоксигеназа, ингибитора трипсина и уреазы. Кроме этого, происходит увеличение содержания незаменимых аминокислот [18].

Еще одной группой способов снижения антипитательных веществ в сое, кроме термической обработки, можно считать проращивание бобовой культуры. Солодоращение позволяет получить зерновое сырье с требуемым химическим составом, а использование на отдельных этапах солодоращения различных стимуляторов позволяет добиться желаемого результата с большим эффектом и с сокращением расходных ресурсов.

В настоящее время ведется поиск новых путей совершенствования солодоращения сои. Известны способы получения соевого солода с применением ферментных препаратов, способствующие снижению антипитательных веществ сои: использование ферментных препаратов различной направленности «Brewers» и «Коллупулин» на стадиях получения солода, позволяющие снизить общее количество антипитательных веществ на 77 % [19].

Целью исследования являлось целенаправленное изменение химического состава сои посредством проведения проращивания зерна с применением органического активатора, способствующего снижению в ней антипитательных веществ и повышению пищевой ценности зерна, позволяющего в перспективе использовать сою в качестве альтернативного зернового ресурса в производстве напитков.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования стали соя сортов

Таблица 1. Физико-химические показатели сои

Table 1. Physicochemical profile of soybean

Наименование показателя	Содержание в сое		
	«Гармония»	«Ария»	«Приморская 69 (Фортуна)»
Цвет, запах, вкус	свойственный нормальной сое, без посторонних оттенков		
Массовая доля влаги, %	10,8 ± 0,1	10,4 ± 0,1	10,5 ± 0,1
Натура, г/дм ³	705,0 ± 1,0	710,0 ± 1,0	712,0 ± 1,0
Абсолютная масса, г	48,9 ± 1,0	48,7 ± 1,0	49,1 ± 0,1
Способность прорастания, %	96,6 ± 0,5	95,9 ± 0,5	96,3 ± 0,1
Массовая доля белка, %	38,9 ± 0,1	39,8 ± 0,1	41,6 ± 0,1
Массовая доля крахмала, %	28,4 ± 0,5	27,6 ± 0,5	26,4 ± 0,5
Массовая доля жира, %	11,7 ± 0,1	14,3 ± 0,1	13,6 ± 0,1
Массовая доля экстрактивных веществ, %	42,7 ± 0,1	43,1 ± 0,1	43,0 ± 0,1
Активность уреазы, ед. рН	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Амилитическая способность, ед/г	85,4 ± 0,1	80,1 ± 0,1	74,2 ± 0,1
Протеолитическая активность, ед/г	29,1 ± 0,1	24,5 ± 0,1	28,7 ± 0,1
Активность липоксигеназы, ед/г	2370,0 ± 1,0	2420,0 ± 1,0	2170,0 ± 1,0
Содержание аминокислот	34300	33150	35100

«Гармония», «Ария», «Приморская 69 (Фортуна)» Дальневосточной селекции и солод на их основе. Предметом – качественные показатели соевого зерна на стадиях получения из него солода. Методами исследования являлись методы контроля качества сырья, полупродуктов и готовой продукции, традиционно принятые в пивобезалкогольной отрасли, а также специальные методы (определение аминокислот методом капиллярного электрофореза, липоксигеназной активности – спектрофотометрическим методом, активность уреазы – потенциометрическим методом). Качественные показатели исследуемых образцов сои приведены в таблице 1.

Анализируя представленные в таблице 1 результаты, было отмечено высокое содержание белка во всех образцах сои. Это и послужило основанием выбора данных сортов соевой культуры. Массовая доля экстрактивных веществ находится на невысоком уровне, который недостаточен для полноценного извлечения всех экстрактивных веществ зерна. Однако данная проблема решается посредством солодоращения, позволяющего накопить ферментный потенциал зерна и обеспечить максимально возможный гидролиз высокомолекулярных соединений. Особое значение при оценке исходных качественных и технологических показателей исследуемых образцов сои уделялось ферментативной активности зерна. При этом, как показывают результаты таблицы 1, все образцы имеют недостаточный (одинаковый для всех образцов) уровень гидролитических ферментов. В то же время уровень уреазы составляет 0,8–0,9 ед. рН, что является «тревожным» значением, характеризующим повышенное содержание антипитательных веществ. Еще одним важным показателем с точки зрения солодоращения является высокая «способность

прорастания» зерна, которая позволяет говорить о возможных перспективах получения соевого солода из отобранных для исследования образцов сои.

Результаты и их обсуждение

Солодоращение – прогрессивный способ снижения антипитательных веществ соевой культуры. В процессе солодоращения при определенном сочетании факторов технологических процессов возможно получение соевого продукта с требуемым химическим составом. В современной научной литературе недостаточно информации, критериально характеризующей зависимость процесса солодоращения и изменения антипитательных веществ сои, на основании которой можно было бы усовершенствовать классические режимы технологии солода. В связи с этим исследование в направлении технологии соевого солода – перспективного в использовании продуктов здорового питания солодовенного продукта с повышенным содержанием белка – являются актуальными и своевременными.

Для достижения цели исследования на каждом этапе солодоращения проводили мониторинг физико-химических показателей зерна. Контрольными индикаторами эксперимента являлась ферментативная активность сои.

Технологическая схема производства соевого солода представляла собой последовательное проведение классических этапов: очистку и мойку зерна, замачивание и проращивание зерна, сушку солода и удаление ростков. Очистку и мойку исходной соевой культуры проводили с целью удаления посторонней микрофлоры, препятствующей дальнейшему проращиванию зерна, а именно замедлению процессов замачивания, проращивания,

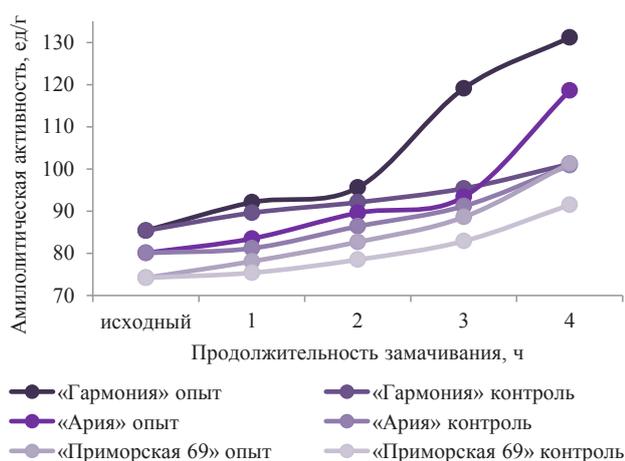


Рисунок 1. Динамика накопления активности амилолитических ферментов в сое при обработке ее комплексом органических кислот

Figure 1. Accumulation of amylolytic enzyme in soybean when treated with a complex of organic acids

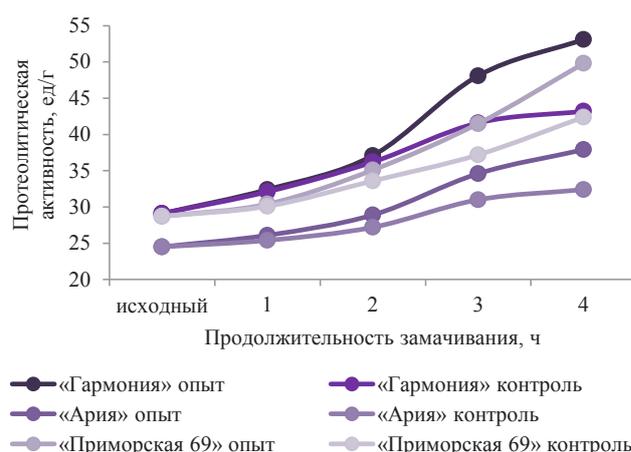


Рисунок 2. Динамика накопления активности протеолитических ферментов в сое при обработке ее комплексом органических кислот

Figure 2. Accumulation of proteolytic enzyme activity in soybean when treated with a complex of organic acids

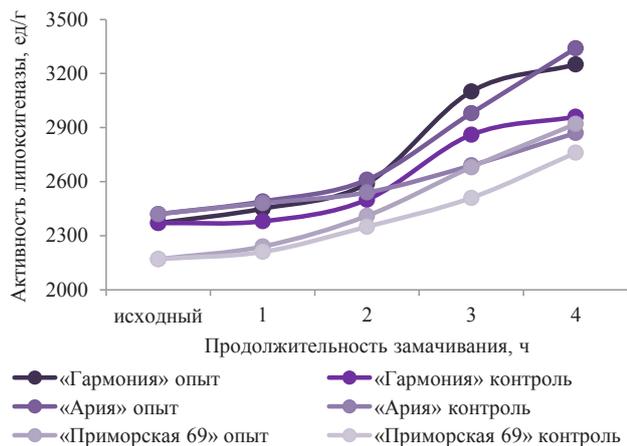


Рисунок 3. Динамика накопления активности липоксигеназы в сое при обработке ее комплексом органических кислот

Figure 3. Accumulation of lipoxigenase activity in soybean when treated with a complex of organic acids

или приводящей (в некоторых случаях) к отклонениям при этих же процессах. Далее следовало замачивание зерна по воздушно-водяному способу. При этом зерно попеременно выдерживали под слоем воды в течение 2 ч, затем в воздушном пространстве в течение 4 ч. Таким образом набирая заданную влажность зерна без его переувлажнения, приводящего к угнетению физиологических и биохимических процессов, происходящих в зерне на последующей стадии. Продолжительность процесса замачивания составила 34 ч, влажность замоченных образцов сои к концу процесс достигла 43 %. Максимальная температура воды и воздуха составляла 16 °С.

Отличительной особенностью предложенной технологии являлось использование на стадии замачивания органического стимулятора роста в виде комплекса органических кислот, входящих в цикл Кребса. Проведенные ранее исследования отечественными учеными в данной области подтвердили эффективность применения данного органического препарата, состоящего из α-кетоглутаровой, янтарной, яблочной, лимонной и фумаровой кислот, на развитие и рост растений и микроорганизмов [20–22]. Использование данного органического комплекса в определенной концентрации улучшает проницаемость клеточных мембран за счет специфической транс-конформации органических кислот. Оптимальной концентрацией комплекса органических кислот, позволяющей стимулировать рост и развитие растений и микроорганизмов, считается 10^{-8} моль/дм³. Однако в некоторых случаях наблюдались положительные изменения и в диапазоне концентраций 10^{-9} и 10^{-10} моль/дм³. Нами предполагалось, что использование при замачивании сои комплекса органических кислот позволит активизировать ферментативную систему зерна и ускорит физиологические и биохимические процессы, происходящие с ним на всех этапах солодоращения, а подбор оптимальных критериев технологических этапов сформирует требуемый химический состав соевого солода. На основании позитивных результатов ранее проведенных исследований в области применения комплекса органических кислот в качестве стимулятора роста в производстве солода на примере ячменя и пшеницы принято решение не менять концентрацию органического препарата и проводить эксперимент с использованием при замачивании сои комплекса органических кислот в концентрации 10^{-9} моль/дм³ [21, 22].

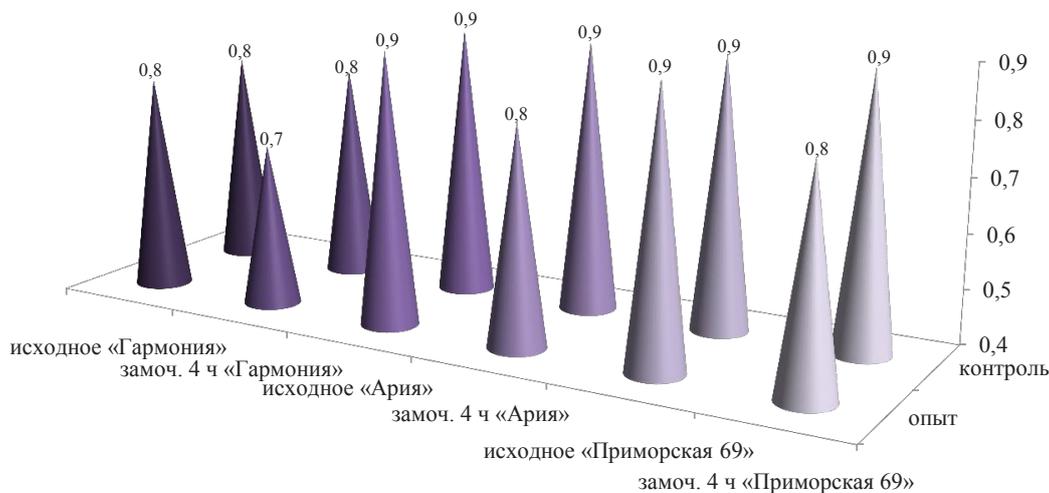


Рисунок 4. Динамика изменения активности уреазы в сое при обработке ее комплексом органических кислот

Figure 4. Changes in the activity of urease in soybean when treated with a complex of organic acids

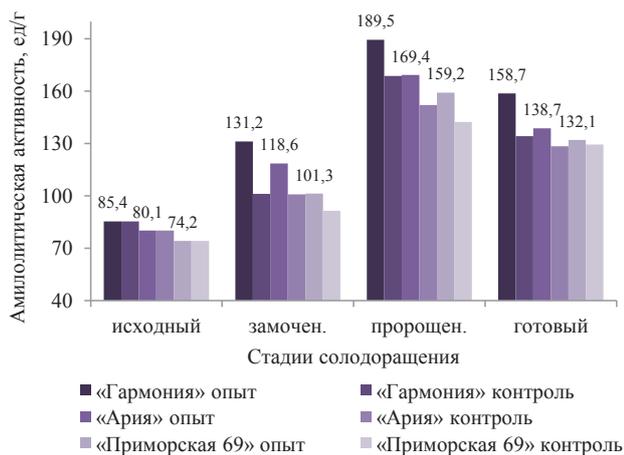


Рисунок 5. Динамика накопления активности амилолитических ферментов в сое при получении соевого солода

Figure 5. Accumulation of amylolytic enzyme activity in soybeans during soybean malt production

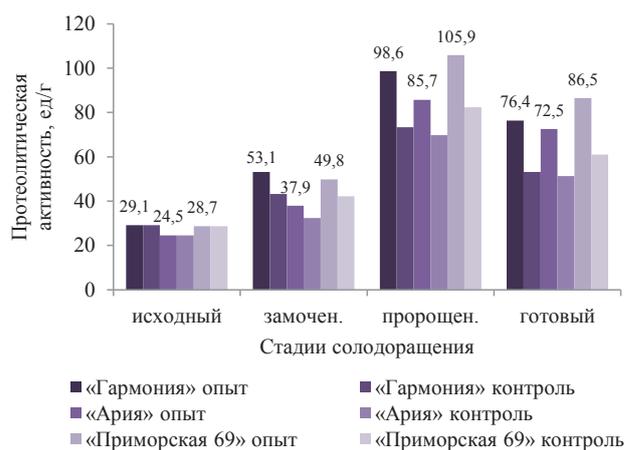


Рисунок 6. Динамика накопления активности протеолитических ферментов в сое при получении соевого солода

Figure 6. Accumulation of proteolytic enzyme activity in soybean during soybean malt production

В последнюю водяную паузу в водно-зерновую массу вносили комплекс органических кислот в концентрации 10^{-9} моль/дм³ и выдерживали зерно в данных условиях в течение 4 ч. Результаты проведенного мониторинга изменения ферментной системы зерна в процессе замачивания представлены на рисунках 1–4.

Анализируя представленные данные, следует отметить общую положительную тенденцию изменения ферментативного потенциала и его активности уже на стадии замачивания зерна. Обработка соевой культуры комплексом органических кислот провоцирует ускорение еще невидимых физиологических изменений, но уже ощутимых биохимических превращений в зерне. Во всех образцах сои независимо от сорта происходят явно выраженные процессы образования и активации ферментов на примере амилолитической, протеолитической и липоксигеназной активностей. Полученные результаты свидетельствуют о том, что даже незначительная обработка сои органическим препаратом из кислот цикла Кребса (4 ч) увеличивает амилолитическую, протеолитическую и липоксигеназную активности на 10–23, 14,5–18,6 и 6–14 % соответственно. При этом для ферментов, отвечающих за гидролиз высокомолекулярных крахмальных и белковых соединений, заметный эффект обработки зерна органическим стимулятором наблюдается в случае замачивания зерна сои сорта «Гармония».

Желаемая отрицательная динамика ферментативной активности отразилась в случае активности фермента уреазы. На рисунке 4 представлена сводная информация эксперимента замачивания зерна сои: обработанного комплексом органических кислот –

опытные образцы, необработанного – контрольные варианты. Проведенный эксперимент показал, что классический процесс замачивания зерна (без обработки) за данный период времени не повлиял на изменение активности данного фермента – уровень фермента уреазы остался на исходном значении. В то же время применение при замачивании органической обработки несколько снизило данный показатель – на 0,1 ед. рН. Для этого потребовалась обработка зерна не менее 4 ч. Меньшая выдержка зерна в данных условиях, также как и в контрольном варианте, не приводила ни к каким изменениям.

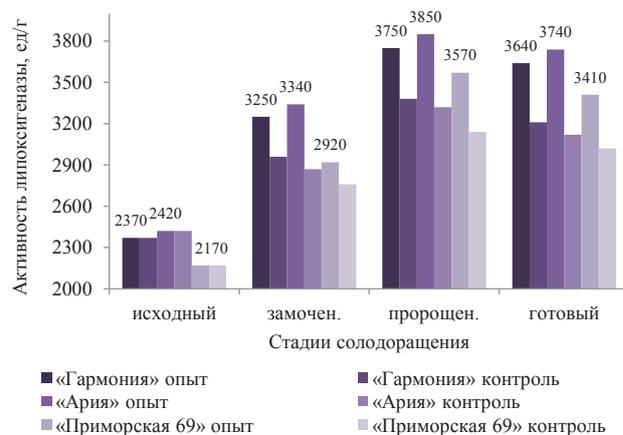


Рисунок 7. Динамика накопления активности липоксигеназы в сое при получении соевого солода

Figure 7. Accumulation of lipoxigenase activity in soybeans during soybean malt production

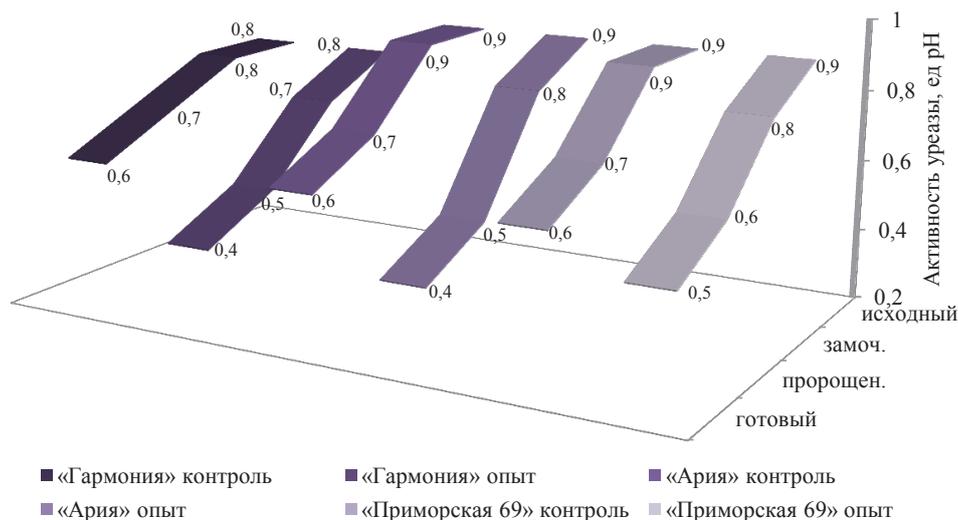


Рисунок 8. Динамика изменения активности уреазы в сое при получении соевого солода

Figure 8. Changes in urease activity during soybean malt production

Таблица 2. Физико-химические показатели соевого солода

Table 2. Physicochemical parameters of soy malt

Наименование показателя	Содержание в соевом солоде					
	«Гармония»		«Ария»		«Приморская 69 (Фортуна)»	
	контрольный образец	опытный образец	контрольный образец	опытный образец	контрольный образец	опытный образец
Массовая доля влаги, %	4,0 ± 0,1	4,0 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,9 ± 0,1	4,0 ± 0,1
Массовая доля экстракта в сухом солоде, %	57,1 ± 0,1	62,4 ± 0,1	58,4 ± 0,1	64,2 ± 0,1	58,7 ± 0,1	63,9 ± 0,1
Массовая доля белка, %	35,4 ± 0,1	33,8 ± 0,1	36,4 ± 0,1	35,2 ± 0,1	37,9 ± 0,1	35,8 ± 0,1
Массовая доля крахмала, %	24,5 ± 0,5	22,5 ± 0,5	23,5 ± 0,5	22,0 ± 0,5	23,0 ± 0,1	21,5 ± 0,1
Массовая доля жира, %	9,2 ± 0,1	8,7 ± 0,1	12,7 ± 0,1	11,2 ± 0,1	12,4 ± 0,1	10,9 ± 0,1
Амилолитическая активность, ед/г	134,2 ± 0,1	158,7 ± 0,1	128,4 ± 0,1	138,7 ± 0,1	129,4 ± 0,1	132,1 ± 0,1
Протеолитическая активность, ед/г	53,2 ± 0,1	76,4 ± 0,1	51,3 ± 0,1	72,5 ± 0,1	61,0 ± 0,1	86,5 ± 0,1
Активность липоксигеназы, ед/г	3210,0 ± 1,0	3640,0 ± 1,0	3120,0 ± 1,0	3740,0 ± 1,0	3020,0 ± 1,0	3410,0 ± 1,0
Активность уреазы, ед. рН	0,60 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,50 ± 0,01
Лабораторное сусло:						
Цвет, ц.ед.	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	1,00 ± 0,01	1,10 ± 0,01	1,10 ± 0,01
Кислотность, к.ед.	1,10 ± 0,01	1,10 ± 0,01	1,00 ± 0,01	1,00 ± 0,01	1,20 ± 0,01	1,20 ± 0,01
Прозрачность	прозрачное					

Далее последовательно проводили следующие за замачиванием этапы солодоращения: проращивание замоченных образцов сои, сушку готового солода и удаление ростков. Проращивание осуществляли по типу «ящичной солодовни» при температуре 16–18 °С и с периодическим ворошением зерна два раза в сутки. По мере необходимости – для поддержания заданного уровня влажности в проращиваемом зерне – проводили его орошение. Продолжительность проращивания

составила трое суток. После этого готовый соевый солод отправляли на сушку, проведенную в две стадии при максимальной температуре – 70 °С. Такой постепенный нагрев и высушивание зерна при относительно высоких температурах сушки, хоть и составил общую продолжительность процесса 24 ч, но поспособствовал сохранению накопленного ферментного потенциала соевой культуры, чему свидетельствуют ниже приведенные результаты.

Образовавшиеся при проращивании ростки удаляли сразу же после высушивания зерна, пользуясь тем, что в этот момент они являются очень хрупкими и процесс их отделения не составляет каких-либо сложностей. На рисунках 5–8 представлена интегрированная со всех этапов солодоращения информация об изменении ферментативной активности в зерне.

Проведенные исследования подтверждают целесообразность обработки сои комплексом органических кислот. Независимо от сорта соевой культуры на протяжении всего процесса солодоращения наблюдается положительная тенденция в преобразовании ферментной системы зерна. Продолжает происходить увеличение амилолитической активности, протеолитических ферментов, а также фермента липоксигеназы. При этом преобладание ферментативной активности в зерне, подвергнутого обработке при замачивании органическим стимулятором, над активностью аналогичных ферментов, но уже необработанного зерна, составляет для амилолитической, протеолитической и липоксигеназной активностей 11, 22 и 12 % соответственно. Несмотря на близкую схожесть результатов по ферментативной активности всех трех опытных образцов, хотелось бы отметить, что в большей степени прирост протеолитической

активности (в сравнении обработанного и необработанного зерна) наблюдается в отношении сортов «Гармония» и «Приморская 69», а активности фермента липоксигеназы (в том же сравнении) – для сорта «Ария».

Формирование ферментов происходит с замачивания соевой культуры и продолжается на протяжении всего процесса проращивания. Уникальность сои отражается в ее способности подвергаться ярким превращениям в довольно короткие сроки относительно других зерновых культур, исследуемых ранее (пшеница и ячмень) [21, 22]. В данном эксперименте отмечено, что органической обработки зерна сои достаточно всего 4 ч при замачивании и около трех суток при проращивании. В случае проращивания сорта «Гармония» продолжительность процесса можно сократить еще на 12 ч, поскольку физиологическое созревание солода к этому времени завершилось, а ферментативные накопления практически не изменяются.

После проведения сушки в соевом солоде несколько падает уровень и активность гидролаз и оксидазы, что является естественным для данного процесса. При этом активность амилолитических ферментов снижается на 20,6 % по всем сортам сои, а протеолитической – от 18–29 %. Сорт «Ария» самый устойчивый к

Таблица 3. Содержание аминокислот в исследуемых образцах сои

Table 3. Content of amino acids in soybean samples

Аминокислота	Массовая доля аминокислоты в образце, мг/100 г продукта с.в.						
	исходный образец зерна сои «Гармония»	«Гармония»		«Ария»		«Приморская 69 (Фортуна)»	
		контрольный образец	опытный образец	контрольный образец	контрольный образец	опытный образец	контрольный образец
Аланин	1550	1810	2360	1640	2160	1670	2260
Аргинин	2790	3340	3270	3450	3610	3240	3490
Валин	1380	1340	1780	1410	1560	1380	1680
Гистидин	950	790	1320	890	1240	850	1160
Глицин	1390	1570	2120	1550	2200	1690	2450
Лизин	2190	2150	2920	1940	2560	2410	2640
Аспарагин и аспарагиновая кислота (суммарно)	4390	4800	7460	4600	7250	4640	7490
Глутамин и глутаминовая кислота (суммарно)	6430	6070	9840	6510	9460	6670	9540
Лейцин и изолейцин (суммарно)	3870	4110	5090	3940	5010	4460	4570
Триптофан	450	400	530	460	560	420	480
Метионин	300	500	600	300	350	340	610
Пролин	1680	2060	2480	1980	2600	1890	2640
Серин	2090	2440	3110	2400	2940	2260	3100
Тирозин	1050	1320	1570	1450	1750	1480	1740
Треонин	1490	1850	2380	1920	2540	2290	2640
Фенилаланин	1520	1720	2180	1810	2340	1640	2310
Цистин	780	820	1100	950	1210	840	1160
Общее количество	34300	37090	50110	37200	49340	38170	50960

воздействию высоких температур и сохраняющий накопленную ферментативную активность гидролаз.

Что касается изменений такого класса ферментов, как оксидоредуктазы (на примере исследуемой липоксигеназы), то можно констатировать следующий факт: прирост данного фермента на протяжении всего процесса солодоращения незначительный, поскольку в большинстве случаев проращивание зерна приводит к возрастанию оксидоредуктаз в 40–60 раз, а липоксигеназы 5–9 раз. Это является нежелательным с точки зрения негативного последствия воздействия данного фермента на субстрат сои. В нашем случае стимулирование биохимических превращений сои посредством применения комплекса органических кислот не приводит к резко выраженному увеличению ферментов данной природы.

Особое внимание при проведении эксперимента уделялось активности уреазы, положительные изменения которой начинались, хоть и незначительно, со стадии замачивания и продолжались до окончания всего технологического цикла производства соевого солода. Во всех образцах сои уровень уреазы существенно снизился после проращивания, процесс сушки также простимулировал снижение активности данного фермента. В большей степени активность уреазы снизилась в образце сои «Ария»: с уровня 0,9 ед. рН в исходном сырье до 0,4 ед. рН в готовом соевом солоде, т. е. в 2,3 раза. В остальных сортах снижение активности менее заметно и составило для сортов «Гармония» и «Приморская 69» 2,0 и 1,8 раза соответственно. Из представленных данных рисунка 8 видно положительное влияние обработки сои на стадии замачивания комплексом органических кислот, усиливающее инактивацию фермента уреазы в дополнение к естественным процессам ее снижения на стадиях проращивания и сушки. При этом активность уреазы опытных образцов сои относительно контрольных ниже на 33 % для сортов «Гармония» и «Ария» и на 17 % для сорта «Приморская 69».

В таблицах 2 и 3 приведены качественные показатели всех образцов соевого солода и качественный аминокислотный состав (для сравнения с исходным соевым зерном приведены данные по сорту «Гармония»).

Представленные выше результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности получения соевого солода на основе трех сортов – «Гармония», «Ария», «Приморская 69 (Фортуна)» Дальневосточной селекции. С целью получения солода на основе сои с высокими качественными и технологическими характеристиками целесообразно применять на одной из стадий солодоращения комплекса органических кислот из цикла Кребса в концентрации 10^{-9} моль/дм³. Данная обработка позволяет получить соевый солод с повышенной ферментативной активностью, меньшим содержанием

антипитательных веществ и высоким уровнем аминокислот.

Выводы

Как показали результаты проведенного исследования, процесс солодоращения благоприятствует получению соевого солода с адекватным химическим составом, позволяющим в дальнейшем использовать полученный таким способом соевый солод в качестве альтернативного сырья в производстве напитков. Обработка сои на стадии замачивания комплексом органических кислот в рекомендуемой концентрации способствует улучшению показателей качества получаемого солода.

Использование органического стимулятора формирует требуемый химический состав соевого зерна, делая его пригодным к применению в пищевых технологиях за счет снижения активности уреазы в 2 раза. Предложенный нами способ отличается простотой (данную обработку легко можно внедрить на классической технологии солодоращения), эффективностью (снижение активности уреазы в 2 раза) и доступностью (незначительные затраты на расход комплекса органических кислот).

Кроме этого, данный способ воздействия на соевую культуру позволяет повысить пищевую ценность соевого солода. Применение органического стимулятора усиливает образование заменимых и незаменимых аминокислот в той или иной степени для каждого отдельного сорта сои.

Таким образом, получение соевого солода по предложенной нами технологии дает возможность и перспективы производства нового солодового продукта, отличающегося от остального традиционно используемого зернового сырья высоким уровнем белка и аминокислот, и использование его в технологии напитков с повышенной пищевой ценностью.

Критерии авторства

Т. Ф. Киселева – общее руководство и написание рукописи. Ю. Ю. Миллер – методология и организация эксперимента, участие в написание рукописи. Ю. В. Арышева – проведение эксперимента.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

T.F. Kiseleva supervised the project and wrote the manuscript. Yu.Yu. Miller was responsible for methodology and organization of experimental studies and proofread the manuscript. Iu.V. Arysheva performed the experiment.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Jayachandran M., Xu B. An insight into the health benefits of fermented soy products // Food Chemistry. 2019. Vol. 271. P. 362–371. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.158>.
2. Erdem B. G., Kaya S. Production and application of freeze dried biocomposite coating powders from sunflower oil and soy protein or whey protein isolates // Food Chemistry. 2021. Vol. 339. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127976>.
3. Metabolite dynamics and phytochemistry of a soy whey-based beverage bio-transformed by water kefir consortium / F. Azi [et al.] // Food Chemistry. 2021. Vol. 342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128225>.
4. Chua J.-Y., Lu Y., Liu S.-Q. Evaluation of five commercial non-*Saccharomyces* yeasts in fermentation of soy (tofu) whey into an alcoholic beverage // Food Microbiology. 2018. Vol. 76. P. 533–542. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.07.016>.
5. Soy, soy isoflavones, and protein intake in relation to mortality from all causes, cancers, and cardiovascular diseases: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies / S. M. Nachvak [et al.] // Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics. 2019. Vol. 119. № 9. P. 1483–1500. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2019.04.011>.
6. Tang C.-H. Nanostructured soy proteins: Fabrication and applications as delivery systems for bioactives (a review) // Food Hydrocolloids. 2019. Vol. 91. P. 92–116. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.012>.
7. Effects of replacing soybean meal, soy protein concentrate, fermented soybean meal or fish meal with enzyme-treated soybean meal on growth performance, nutrient digestibility, antioxidant capacity, immunity and intestinal morphology in weaned pigs / X. Ma [et al.] // Livestock Science. 2019. Vol. 225. P. 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.04.016>.
8. Bioactivity of soy-based fermented foods: A review / Z.-H. Cao [et al.] // Biotechnology Advances. 2019. Vol. 37. № 1. P. 223–238. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.12.001>.
9. Кретович В. Л. Биохимия растений. М.: Высшая школа, 1986. 503 с.
10. Free amino acids and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage / P. Herbert [et al.] // Journal of Food Engineering. 2005. Vol. 66. № 3. P. 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.024>.
11. Profiling and associations of seed nutritional characteristics in Chinese and USA soybean cultivars / M. Azam [et al.] // Journal of Food Composition and Analysis. 2021. Vol. 98. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103803>.
12. Oxidative stability of soy proteins: From ground soybeans to structured products / P. Duque-Estrada [et al.] // Food Chemistry. 2020. Vol. 318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126499>.
13. Physicochemical and functional properties of γ -aminobutyric acid-treated soy proteins / Y. Wang [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 295. P. 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.128>.
14. Effect of high-power sonication pretreatment on extraction and some physicochemical properties of proteins from chickpea, kidney bean, and soybean / B. Byanju [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. Vol. 145. P. 712–721. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.118>.
15. Singh S. K., Singha P., Muthukumarappan K. Modeling and optimizing the effect of extrusion processing parameters on nutritional properties of soy white flakes-based extrudates using response surface methodology // Animal Feed Science and Technology. 2019. Vol. 254. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.06.001>.
16. Covalent immobilization of soybean seed hull urease on chitosan mini-spheres and the impact on their properties / L. F. Bracco [et al.] // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. Vol. 18. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101093>.
17. Yalcin S., Basman A. Effects of infrared treatment on urease, trypsin inhibitor and lipoxygenase activities of soybean samples // Food Chemistry. 2015. Vol. 169. P. 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.114>.
18. Effect of solid-state fermentation with *Lactobacillus casei* on the nutritional value, isoflavones, phenolic acids and antioxidant activity of whole soybean flour / S. Li [et al.] // LWT – Food Science and Technology. 2020. Vol. 125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109264>.
19. Влияние проращивания на содержание антипитательных веществ в семенах сои / Т. Ф. Киселева [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2013. № 6. С. 28–30.
20. Пермякова Л. В., Помозова В. А., Верещагин А. Л. Применение смеси кислот цикла кребса в сверхнизких концентрациях для активации культуры пивных дрожжей // Пиво и напитки. 2018. № 1. С. 20–24.
21. Возможность интенсификации солодоращения посредством использования комплекса органических кислот / Т. Ф. Киселева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 40. № 1. С. 11–17.
22. Исследование возможности использования органического стимулятора в производстве пшеничного солода / Т. Ф. Киселева [и др.] // Современная наука и инновации. 2019. Т. 25. № 1. С. 161–167.

References

1. Jayachandran M, Xu B. An insight into the health benefits of fermented soy products. Food Chemistry. 2019;271:362–371. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.158>.

2. Erdem BG, Kaya S. Production and application of freeze dried biocomposite coating powders from sunflower oil and soy protein or whey protein isolates. *Food Chemistry*. 2021;339. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127976>.
3. Azi F, Tu C, Meng L, Zhiyu L, Cherinet MT, Ahmadullah Z, et al. Metabolite dynamics and phytochemistry of a soy whey-based beverage bio-transformed by water kefir consortium. *Food Chemistry*. 2021;342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128225>.
4. Chua J-Y, Lu Y, Liu S-Q. Evaluation of five commercial non-*Saccharomyces* yeasts in fermentation of soy (tofu) whey into an alcoholic beverage. *Food Microbiology*. 2018;76:533–542. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.07.016>.
5. Nachvak SM, Moradi S, Anjom-shoae J, Rahmani J, Nasiri M, Maleki V, et al. Soy, soy isoflavones, and protein intake in relation to mortality from all causes, cancers, and cardiovascular diseases: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2019;119(9):1483–1500. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2019.04.011>.
6. Tang C-H. Nanostructured soy proteins: Fabrication and applications as delivery systems for bioactives (a review). *Food Hydrocolloids*. 2019;91:92–116. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.012>.
7. Ma X, Shang Q, Hu J, Liu HS, Brokner C, Piao XS. Effects of replacing soybean meal, soy protein concentrate, fermented soybean meal or fish meal with enzyme-treated soybean meal on growth performance, nutrient digestibility, antioxidant capacity, immunity and intestinal morphology in weaned pigs. *Livestock Science*. 2019;225:39–46. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.04.016>.
8. Cao Z-H, Green-Johnson JM, Buckley ND, Lin QY. Bioactivity of soy-based fermented foods: A review. *Biotechnology Advances*. 2019;37(1):223–238. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.12.001>.
9. Kretovich VL. Biokhimiya rasteniy [Plant biochemistry]. Moscow: Vysshaya shkola; 1986. 503 p. (In Russ.).
10. Herbert P, Cabrita MJ, Ratola N, Laureano O, Alves A. Free amino acids and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. *Journal of Food Engineering*. 2005;66(3):315–322. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.024>.
11. Azam M, Zhang S, Qi J, Abdelghany AM, Shaibu AS, Ghosh S, et al. Profiling and associations of seed nutritional characteristics in Chinese and USA soybean cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021;98. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103803>.
12. Duque-Estrada P, Kyriakopoulou K, de Groot W, van der Goot AJ, Berton-Carabin CC. Oxidative stability of soy proteins: From ground soybeans to structured products. *Food Chemistry*. 2020;318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126499>.
13. Wang Y, Liu C, Ma T, Zhao J. Physicochemical and functional properties of γ -aminobutyric acid-treated soy proteins. *Food Chemistry*. 2019;295:267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.128>.
14. Byanju B, Rahman MM, Hojilla-Evangelista MP, Lamsal BP. Effect of high-power sonication pretreatment on extraction and some physicochemical properties of proteins from chickpea, kidney bean, and soybean. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;145:712–721. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.118>.
15. Singh SK, Singha P, Muthukumarappan K. Modeling and optimizing the effect of extrusion processing parameters on nutritional properties of soy white flakes-based extrudates using response surface methodology. *Animal Feed Science and Technology*. 2019;254. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.06.001>.
16. Bracco LF, Levin GJ, Urtasun N, del Canizo AAN, Wolman FJ, Miranda MV, et al. Covalent immobilization of soybean seed hull urease on chitosan mini-spheres and the impact on their properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;18. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101093>.
17. Yalcin S, Basman A. Effects of infrared treatment on urease, trypsin inhibitor and lipoxygenase activities of soybean samples. *Food Chemistry*. 2015;169:203–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.114>.
18. Li S, Jin Z, Hu D, Yang W, Yan Y, Nie X, et al. Effect of solid-state fermentation with *Lactobacillus casei* on the nutritional value, isoflavones, phenolic acids and antioxidant activity of whole soybean flour. *LWT – Food Science and Technology*. 2020;125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109264>.
19. Kiseleva TF, Ul'yankina NF, Miller YuYu, Stepanov SV, Pomozova VA. Germination of soybean as a way to reduce antinutrients. *Storage and Processing of Farm Products*. 2013;(6):28–30. (In Russ.).
20. Permyakova LV, Pomozova VA, Vereshchagin AL. Use of mix of acids of krebs cycle in ultralow concentration for activation of culture of beer yeast. *Beer and beverages*. 2018;(1):20–24. (In Russ.).
21. Kiseleva TF, Miller YuYu, Grebennikova YuV, Stabrovskaya EI. Intensification of malting using organic acid complex. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;40(1):11–17. (In Russ.).
22. Kiseleva TF, Miller YuYu, Vereschagin AL, Golub OV. Investigation of the possibility of using an organic stimulant in the production of wheat malt. *Sovremennaa nauka i innovacii*. 2019;25(1):161–167. (In Russ.).

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-260-269>
УДК 60:614.95

Оригинальная статья
<http://fpтт.ru>

Создание многоштаммового бактериального консорциума для технологии пробиотических препаратов кормового назначения



Г. С. Волкова*^{ORCID}, Е. М. Серба^{ORCID}

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии^{ORCID}, Москва, Россия

Дата поступления в редакцию: 24.12.2020

Дата принятия в печать: 03.03.2021



*e-mail: galina.volkova@bk.ru
© Г. С. Волкова, Е. М. Серба, 2021

Аннотация.

Введение. Создание многоштаммовых пробиотических препаратов без учета биосовместимости штаммов часто приводит к снижению их эффективности вследствие подавления жизнеспособности микроорганизмов. Поэтому актуальным является создание препаратов пробиотиков на основе хорошо сочетаемых штаммов, у которых практически отсутствует явление антагонизма.

Объекты и методы исследования. Отобранные штаммы молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Для оценки биосовместимости молочнокислых бактерий использовали метод прямого совместного культивирования на поверхности плотной среды (капельная методика). Наличие антагонизма выявляли визуально по наличию признаков подавления одной культуры другой через 24 и 48 ч после начала инкубации. Оценку антагонизма составленных ассоциаций штаммов проводили по методике Романович.

Результаты и их обсуждение. В результате скрининга были отобраны 7 перспективных штаммов, определены удельная скорость роста ($0,32-0,84 \text{ ч}^{-1}$) и максимальная плотность популяции (до 2,2 млрд КОЕ/см³). Изучены механизмы адаптации штаммов в смешанной культуре и определены комбинации штаммов, в которых будет отсутствовать явление антагонизма и конкуренции за субстрат. Составлен четырехштаммовый консорциум (*Lactobacillus plantarum* 314/8, *Lactobacillus helveticus* R0052/6, *Enterococcus faecium* B-2240D, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/27). Произведен экспериментальный подбор соотношения культур в консорциуме и выбран оптимальный вариант, при котором культуры присутствуют в равных соотношениях. Изучены биосинтетические свойства консорциума и соотношение штаммов в его составе на различных стадиях роста. Подтвержден сбалансированный рост консорциума, хорошая сочетаемость штаммов и отсутствие явления антагонизма. Отработан режим культивирования на молочной сыворотке (анаэробно, соотношение штаммов 1:1:1:1, 24 ч при 37 °С).

Выводы. Консорциум пробиотических бактерий может быть использован при разработке заквасок и пробиотических лечебно-профилактических препаратов, а также продуктов функционального питания.

Ключевые слова. Бактерии, скрининг, консорциум, пробиотики, биосовместимость, антагонизм, культивирование, симбиоз, штаммы

Для цитирования: Волкова Г. С., Серба Е. М. Создание многоштаммового бактериального консорциума для технологии пробиотических препаратов кормового назначения // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 260–269. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-260-269>.

Original article

Available online at <http://fpтт.ru/eng>

New Multistrain Bacterial Consortium for Feed Probiotics

Galina S. Volkova*^{ORCID}, Elena M. Serba^{ORCID}

All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology^{ORCID}, Moscow, Russia

Received: December 24, 2020

Accepted: March 03, 2021



*e-mail: galina.volkova@bk.ru
© G.S. Volkova, E.M. Serba, 2021

Abstract.

Introduction. Multistrain probiotics often include biocompatible strains, which leads to suppression of microbial viability and,

as a result, decreases their efficacy. Therefore, new probiotics should be based on well-matched strains with no antagonism. *Study objects and methods.* The research featured strains of lactic and propionic acid bacteria from the VNIIPBT collection. The method of direct co-cultivation on dense medium (drop technique) was used to assess the biocompatibility of lactic acid bacteria. Antagonism was detected visually based on signs of suppression after 24 and 48 h after the onset of incubation. Antagonism of the consortia was assessed by the Romanovich method.

Results and discussion. The screening resulted in seven promising strains with the specific growth rate of 0.32–0.84 h⁻¹ and the maximum population density ≤ 2.2 billion CFU/cm³. A set of experiments on the strain adaptation mechanisms revealed combinations of strains with the lowest antagonism and competition for the substrate. The research resulted in a four-component consortium of *Lactobacillus plantarum* 314/8, *Lactobacillus helveticus* R0052/6, *Enterococcus faecium* B-2240D, and *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/27. The optimal ratio was the one where the cultures were present in equal proportions. The study also described the biosynthetic properties of the consortium and the ratio of the strains in its composition. The consortium demonstrated a balanced growth, good strain compatibility, and absence of antagonism. The cultivation mode was tested anaerobically on milk whey at 37°C for 24 h (strain ratio = 1:1:1:1).

Conclusion. The new consortium proved suitable for industrial production of feed probiotics.

Keywords. Bacteria, screening, consortium, probiotics, biocompatibility, antagonism, cultivation, symbiosis, strains

For citation: Volkova GS, Serba EM. New Multistrain Bacterial Consortium for Feed Probiotics. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):260–269. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-260-269>.

Введение

Современная биотехнология неразрывно связана с использованием новых подходов к отбору природных микроорганизмов при создании бактериальных препаратов.

В настоящее время на отечественном рынке имеется широкий ассортимент препаратов на основе молочнокислых бактерий, оказывающих позитивные эффекты на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма через стабилизацию его микробиологического статуса. В последние годы интерес для исследователей представляют пропионовокислые бактерии, которые обладают способностью к синтезу витамина B₁₂ и высокими антимутагенными свойствами [1–3].

Важной причиной не всегда убедительной клинической эффективности пробиотических добавок является то, что при создании консорциума микроорганизмов подбираются виды бактерий без учета их биосовместимости. Это приводит к подавлению жизнеспособности микроорганизмов и утрате значимых свойств. Опубликованные результаты исследований показали, что, развиваясь в составе консорциумов, штаммы молочнокислых бактерий, в зависимости от уровня их биосовместимости, достигают различного уровня накопления биомассы [4–6].

Симбиотические пробиотики являются результатом рационального комбинирования бактериальных пробиотиков и пребиотиков, содержат несколько штаммов бактерий, которые образуют симбиоз антагонистической активности и антибиотической устойчивости. Как правило, комплексные препараты характеризуются более высокими медико-биологическими свойствами по сравнению с отдельными штаммами [7–9].

В окружающей среде микроорганизмы присутствуют не в виде индивидуальной культуры,

а в составе микробиоценозов. Они отличаются высокой жизнеспособностью и по ряду характеристик превосходят чистые, лабораторные культуры.

Консорциумы микроорганизмов обычно неустойчивы. Через несколько циклов деления происходит подавление роста одних штаммов за счет преобладания самого активного штамма, наиболее приспособленного к конкретным условиям питательной среды [10–12]. Основная задача разработки комплексного пробиотика заключается в сохранении стабильного состава составляющих его штаммов как на стадиях получения препарата на производстве, так и на стадии применения.

В Международном кодексе номенклатуры бактерий понятие консорциума включает в себя ассоциацию из двух или более микроорганизмов. Консорциум могут составлять микроорганизмы, обладающие сходными биологическими и технологическими свойствами, при отсутствии явления антагонизма.

Совместное культивирование штаммов в жидкой или плотной питательной среде с последующей констатацией факта стимуляции или угнетения развития лежит в основе методик определения взаимоотношений. Среди бактерий встречаются культуры антагонисты. Они не сочетаются не только с культурами другого вида, но и со штаммами внутри вида [13–15]. Такие штаммы не могут быть использованы в комбинации закваски, состоящей из нескольких культур.

Явление синергизма, заключающееся во взаимном усилении биологических свойств отдельных бактерий, дает возможность консорциуму создать единую биологическую систему, обладающую защитными свойствами от влияния других микроорганизмов [16]. Защитные свойства обусловлены антимикробной активностью бактерий и синтезом целого ряда биологически активных веществ.

Многочисленные исследования показывают, что для создания пробиотических препаратов на основе бактериальных консорциумов, содержащих биологически совместимые штаммы, необходимо в производственных условиях реализовать и поддерживать оптимальные условия существования микробного симбиоза для достижения высоких терапевтических свойств бактериального препарата. Поэтому постановка исследования должна быть направлена как на создание консорциума биологически совместимых штаммов бактерий, так и на поиск оптимальных условий для накопления биомассы и сохранение соотношения титра каждого штамма в консорциуме. Это довольно сложная комплексная задача, требующая проработанной научной основы.

В литературе описаны важнейшие характеристики бактериального пробиотического препарата:

- высокая жизнеспособность штаммов консорциума, быстрый переход культур в активное состояние;
- антагонизм к возбудителю заболевания животного;
- отсутствие антагонизма к нормальной полезной микрофлоре животного;
- отсутствие антагонизма нормальной микрофлоры к штамму пробиотика;
- наличие адгезивной способности у штамма пробиотика;
- безопасность препарата;
- стабильность характеристик штаммов при производстве и хранении.

Для подтверждения заявленного эффекта создаваемого пробиотического препарата необходимо провести исследования в клинических лабораториях, работая со штаммами и клиническими изолятами, взятыми из желудочно-кишечного тракта животного [17, 18].

При изучении механизма действия пробиотических препаратов внимание исследователей направлено на молочнокислые бактерии, присутствующие в микробиоме кишечника [19, 20]. Описана способность отдельных штаммов пропионовокислых бактерий выживать и присутствовать в желудочно-кишечном тракте в течение 17–20 ч. Это позволяет использовать

эти штаммы в качестве компонента современных пробиотических препаратов. Таким образом, подбор биологически совместимых штаммов при соблюдении условий оптимизации соотношений чистых культур молочнокислых и пропионовокислых бактерий является базой для активных симбиозов на основе этих бактерий.

В настоящее время является актуальным создание пробиотических препаратов на основе ассоциации молочнокислых и пропионовокислых бактерий с новыми биотехнологическими свойствами для эффективной профилактики нарушения микробиотического состояния желудочно-кишечного тракта [21–23].

Целью исследования стала разработка на основе изучения межштаммовых взаимодействий и механизмов адаптации селекционированных штаммов состава симбиотического консорциума молочнокислых и пропионовокислых бактерий перспективного для создания пробиотических препаратов.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований служили штаммы-продуценты органических кислот из коллекции ВНИИПБТ: *Lactobacillus plantarum* 314/8, *Lactobacillus helveticus* R0052/6, *Lactobacillus acidophilus* var. *coccoideus* M-94/2, *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* L-2, *Enterococcus faecium* 2240/D, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/27.

В качестве основного углеводсодержащего субстрата для молочнокислого брожения использовалась питательная среда MRS-1, а также среда следующего состава: вода дистиллированная – 600 мл, мясная вода – 400 мл, дрожжевой экстракт – 5,0 г, натрия ацетат – 5,0 г, глюкоза – 2,5 г, аммония цитрат – 2,0 г, K_2HPO_4 – 2,0 г, Твин 80 – 1 мл, $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ – 0,2 г, $MgSO_4 \cdot 4 H_2O$ – 0,05 г. Условия культивирования: анаэробно, оптимум pH 5,5–5,8, температура культивирования 37 °С. Культивирование продуцентов проводили в колбах Эрленмейера объемом 750 см³ с 100 см³ питательной среды. В процессе ферментации производили нейтрализацию образующихся кислот раствором 0,1 н NaOH.

Изучение биохимических и технологических свойств исследуемых штаммов проводили

Таблица 1. Кинетические показатели роста отобранных штаммов молочнокислых бактерий и образование молочной кислоты на 36 ч роста

Table 1. Kinetic growth parameters of the lactic acid bacteria and the formation of lactic acid after 36 h of growth

Штамм	Удельная скорость роста, ч ⁻¹	Время выхода популяции в стационарную фазу, ч	Количество молочной кислоты, г/дм ³
<i>L. helveticus</i> R0052/6	0,32 ± 0,10	18,2 ± 2,3	29,0 ± 1,4
<i>L. acidophilus</i> var. <i>coccoideus</i> M-94/2	0,39 ± 0,10	17,5 ± 2,1	31,5 ± 1,9
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> L-2	0,45 ± 0,11	21,2 ± 2,1	42,2 ± 2,1
<i>L. plantarum</i> 314/8	0,37 ± 0,10	22,7 ± 2,2	35,5 ± 1,8
<i>E. faecium</i> 2240/D	0,51 ± 0,12	21,4 ± 2,2	33,0 ± 1,8
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 1500/12	0,84 ± 0,14	20,7 ± 1,3	36,5 ± 1,8

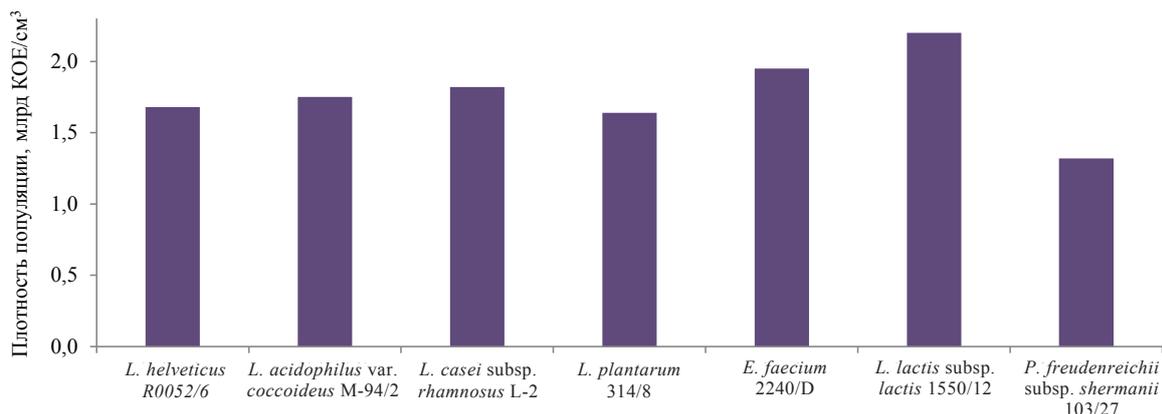


Рисунок 1. Максимальная плотность популяции

Figure 1. Maximal population density

стандартными методами. Определение количества микроорганизмов в посевном материале и культуральной жидкости проводили по ГОСТ 26670. Количество клеток (в мл суспензии) устанавливали по ГОСТ 10444.11 с помощью прямого подсчета числа клеток в единице объема на счетной камере Горяева-Тома. Накопление биомассы бактерий определяли с использованием колориметра КФК-2 нефелометрически. Количество биомассы устанавливали по калибровочной кривой с учетом разведений. Микроскопирование препаратов – по ГОСТ 9225. Содержание редуцирующих веществ в культуральной жидкости определяли методом Шомоди-Нельсона по ГОСТ 54905. Количество молочной кислоты определяли методом ВЭЖХ по ГОСТ 33410 на приборе Series-200 («PerkinElmer»).

Для оценки биосовместимости молочнокислых бактерий использовали метод прямого совместного культивирования на поверхности плотной питательной среды (капельная методика) [19]. 24-часовую культуру бактерий наносили на чашку Петри с плотной средой MRS-1 с помощью петли. Каплю оставляли на чашке до полного ее впитывания. Капля второй культуры наносится со смещением на 1–2 мм от края первой капли, добиваясь затекания на каплю первой культуры. В той части, где произошло наложение капель, оценивают границу, образуемую между культурами. Контролем служат свободные области капель. После подсыхания каплю чашки инкубировали в термостате при 37 °С.

Наличие антагонизма выявляли визуально через 24 ч роста по признаку подавления одной культуры другой. Если видимая задержка роста показывает антагонистические взаимоотношения исследуемых культур, а граница четко просматривается, то в этом случае культуры считаются биологически несовместимыми. При слиянии пятен культуры являются биосовместимыми. В некоторых случаях визуально отмечается расширение области роста в

зоне слияния. В случае выхода в зоне слияния одной культуры на поверхность другой, с подавлением роста второй культуры, то такие культуры считали проявляющими слабый антагонизм. Если визуально определяли зону задержки роста по краю капель культур, то их характеризовали как проявляющие сильный антагонизм.

Антагонистические свойства отдельных пар штаммов молочнокислых бактерий изучали по методике Романович [24]. Методика предусматривает, что, если происходило исчезновение окраски метиленовой сини культуральной жидкости консорциума, то реакция считалась положительной. Это свидетельствовало либо о сильной конкуренции за субстрат, либо о несовместимости действия бактериоцинов друг друга. Полное обесцвечивание наступало через 5–8 ч.

Биометрическую обработку полученных данных проводили методом вариационной статистики



Рисунок 2. Биосовместимость штаммов *Lactobacillus helveticus* R0052/6 и *Lactobacillus plantarum* 314/8 (полное слияние капель)

Figure 2. Biocompatibility of *Lactobacillus helveticus* R0052/6 and *Lactobacillus plantarum* 314/8 (complete confluence of drops)

Таблица 2. Результаты изучения антагонизма ассоциаций бактерий

Table 2. Antagonism of bacterial consortia

Наименование штамма	Фильтрат культуральной жидкости
<i>L. acidophilus</i> var. <i>coccoideus</i> M-94/2 и <i>L. plantarum</i> 314/8	реакция отрицательная
<i>L. acidophilus</i> var. <i>coccoideus</i> M-94/2 и <i>L. brevis</i> K-1	реакция положительная
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> L-2 и <i>L. helveticus</i> R0052/6	реакция отрицательная
<i>L. brevis</i> K-1 и <i>L. plantarum</i> 314/8	реакция положительная
<i>L. acidophilus</i> var. <i>coccoideus</i> M-94/2 и <i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> L-2	реакция отрицательная
<i>L. plantarum</i> 314/8 и <i>L. helveticus</i> R0052/6	реакция отрицательная
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> L-2 и <i>L. brevis</i> K-1	реакция положительная

(t-критерии Стьюдента) с использованием Microsoft Excel 9.0.

Результаты и их обсуждение

В результате скрининга высокопродуктивных штаммов молочнокислых бактерий по выходу молочной кислоты и скорости роста из коллекции ВНИИПБТ были отобраны 7 штаммов: *Lactobacillus helveticus* R0052/6, *Lactobacillus acidophilus* var. *coccoideus* M-94/2, *Lactobacillus plantarum* 314/8, *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* L-2, *Enterococcus faecium* 2240/D. У них выход молочной кислоты от использованной лактозы был равен или выше 50 %. Также использовали *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 1500/12 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/27.

Результаты определения показателей роста и максимальной плотности популяции для максимального

накопления биомассы отобранных штаммов приведены в таблице 1 и рисунке 1.

Исследование биосовместимости молочнокислых бактерий проводили методом капель на плотной среде MRS-1 (рис. 2). Результатом стало предварительное определение комбинаций штаммов, в которых будет отсутствовать явление антагонизма и конкуренции за субстрат. Первичный отбор позволил составить следующие пары биосовместимых штаммов молочнокислых бактерий:

– *L. acidophilus* var. *coccoideus* M-94/2 и *L. plantarum* 314/8;

– *L. acidophilus* var. *coccoideus* M-94/2 и *L. casei* subsp. *rhamnosus* L-2;

– *L. casei* subsp. *rhamnosus* L-2 и *L. helveticus* R0052/6;

– *L. helveticus* R0052/6 и *L. plantarum* 314/8.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности совместного культивирования подобранных

Таблица 3. Подбор соотношения штаммов в консорциуме № 1

Table 3. Ratio of strains in consortium No. 1

Культуры Соотношение штаммов в консорциуме	Титр клеток, lg КОЕ/см ³			
	1:1:1:1	1,5:1:1:0,5	1,5:1,5:0,5:0,5	2:0,5:1:0,5
<i>L. plantarum</i> 314/8	9,17 ± 0,46	9,23 ± 0,46	9,14 ± 0,46	9,26 ± 0,46
<i>L. helveticus</i> R0052/6	9,17 ± 0,46	9,00 ± 0,45	8,11 ± 0,40	8,70 ± 0,44
<i>E. faecium</i> 2240/D	9,14 ± 0,46	9,00 ± 0,45	8,00 ± 0,40	9,00 ± 0,45
<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> 103/27	9,01 ± 0,45	8,00 ± 0,40	8,00 ± 0,40	8,00 ± 0,40

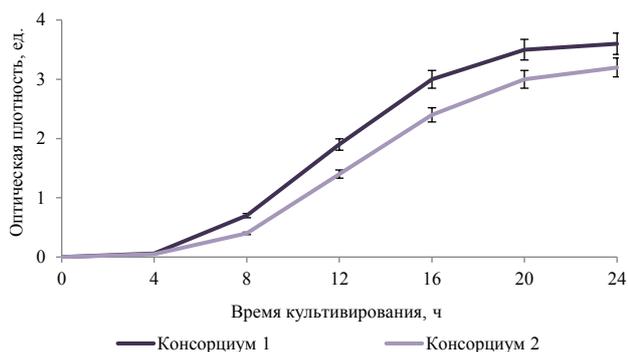
Таблица 4. Подбор соотношения штаммов в консорциуме № 2

Table 4. Ratio of strains in consortium No. 2

Культуры Соотношение штаммов в консорциуме	Титр клеток, lg КОЕ/см ³			
	1:1:1:1	1,5:1:1:0,5	1,5:1,5:0,5:0,5	2:0,5:1:0,5
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> L-2	9,15 ± 0,46	9,18 ± 0,46	9,08 ± 0,45	9,20 ± 0,46
<i>L. acidophilus</i> var. <i>coccoideus</i> M-94/2	9,08 ± 0,45	9,00 ± 0,45	9,00 ± 0,45	9,00 ± 0,45
<i>E. faecium</i> 2240/D	9,08 ± 0,45	8,00 ± 0,40	8,04 ± 0,40	8,70 ± 0,44
<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> 103/27	9,08 ± 0,45	8,00 ± 0,40	8,11 ± 0,40	8,00 ± 0,40

В таблицах 3 и 4 данные статистически достоверны при $P < 0,05$ ($n = 3$).

In Tables 3 and 4, the data are statistically significant at $P < 0.05$ ($n = 3$).



Данные статистически достоверны при $P < 0,05$ ($n = 3$)

Рисунок 3. Накопление биомассы консорциумами бактерий на глюкозной среде

Figure 3. Biomass accumulation by bacterial consortia in glucose medium

пар штаммов молочнокислых бактерий для получения многокомпонентных пробиотических препаратов определенного состава. Выборочные ассоциации штаммов и некоторые другие пары были проверены на антагонизм по методике Романович [24]. Результаты представлены в таблице 2.

Комбинации штаммов, дающие отрицательную реакцию с метиленовой синью, могут быть рекомендованы для составления комбинированной закваски.

На основе визуальной оценки биосовместимости штаммов молочнокислых бактерий были отобраны две пары с наилучшим синергизмом, на основе которых составлены два консорциума:

– *L. plantarum* 314/8, *L. helveticus* R0052/6, *E. faecium*

2240/D, *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/27; – *L. acidophilus* var. *coccoideus* M-94/2, *L. casei* subsp. *rhamnosus* L-2, *E. faecium* 2240/D, *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/27.

Произведен экспериментальный подбор соотношения культур в консорциумах. Выбран оптимальный вариант, при котором культуры присутствуют в равных соотношениях (табл. 3 и 4).

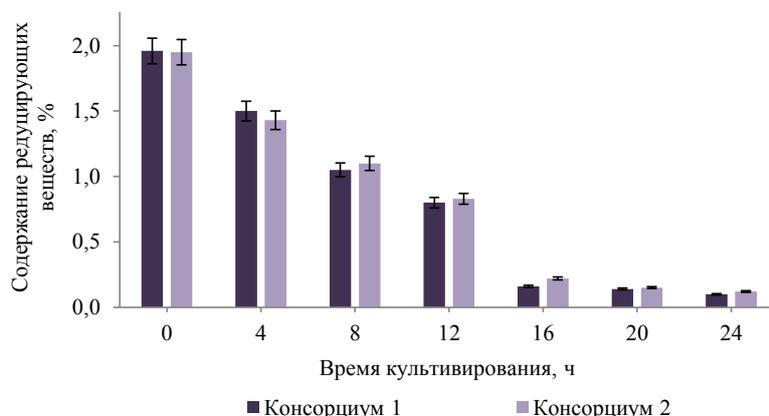
Получены экспериментальные данные по динамике накопления биомассы на глюкозной среде (рис. 3) и по содержанию редуцирующих сахаров (рис. 4).

Анализ рисунка 3 показывает, что накопление биомассы для каждого консорциума достигает максимума к 24 ч роста. Это говорит о переходе культур в стационарную фазу роста. Дальнейшее увеличение времени культивирования нецелесообразно. На рисунке 4 показано, что к 24 ч культивирования содержание сахаров в питательной среде падает до минимума.

В дальнейших исследованиях экспериментально подобрана температура культивирования консорциумов 37 °С. Так как из четырех штаммов консорциумов три штамма – это молочнокислые бактерии с оптимальной температурой для роста 35–37 °С, то это является определяющим фактором. Для штамма пропионовокислых бактерий оптимальной температурой роста является 30–32 °С, а при 37 °С штамм растет с незначительным снижением скорости роста.

Изучен состав консорциума № 1 при различном времени роста, а также титр клеток каждого штамма при культивировании. Результаты представлены в таблице 5.

Данные таблицы 5 свидетельствуют о сбалансированном росте консорциума № 1, хорошей сочетаемости штаммов, высокой биологической



Данные статистически достоверны при $P < 0,05$ ($n = 3$)

Рисунок 4. Динамика содержания редуцирующих веществ в культуральной жидкости при культивировании

Figure 4. Content of reducing substances in the culture liquid during cultivation

Таблица 5. Состав консорциума № 1 при культивировании

Table 5. Composition of consortium No. 1 during cultivation

Время, ч	Титр жизнеспособных клеток, lg КОЕ/см ³				
	Консорциум	<i>L. helveticus</i> R0052/6	<i>L. plantarum</i> 314/8	<i>E. faecium</i> 2240/D	<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> 103/27
6	7,60 ± 0,38	7,00 ± 0,35	7,00 ± 0,35	7,00 ± 0,35	7,00 ± 0,35
10	8,62 ± 0,43	8,04 ± 0,40	8,04 ± 0,40	8,01 ± 0,40	8,00 ± 0,40
12	8,67 ± 0,43	7,04 ± 0,35	8,15 ± 0,41	8,08 ± 0,40	8,00 ± 0,40
18	9,72 ± 0,49	9,08 ± 0,45	9,18 ± 0,46	8,11 ± 0,41	9,08 ± 0,45
20	9,74 ± 0,49	9,18 ± 0,46	9,18 ± 0,46	8,11 ± 0,41	9,08 ± 0,45

Данные статистически достоверны при $P < 0,05$ ($n = 3$)

Data are statistically significant at $P < 0.05$ ($n = 3$).

совместимости и отсутствии явления антагонизма. В качестве приоритетного по накоплению биомассы выбран консорциум № 1. Он может быть рекомендован для получения пробиотического препарата, а консорциум № 2 по характеристикам роста уступает консорциуму № 1. Проведена микроскопия культуральных жидкостей через 24 ч роста консорциумов (рис. 5). Микроскопия показывает отсутствие посторонней микрофлоры, высокую плотность популяции, равномерное распределение клеток в поле зрения.

Подобранные штаммы определяют высокую биологическую активность консорциума. Это позволяет создать биологический препарат с заданными физиолого-биохимическими и технологическими свойствами. Дальнейшие исследования предполагают проведение молекулярно-генетической идентификации штаммов консорциума, что является важным этапом при производстве пробиотического препарата, обеспечивая чистоту используемых культур и их идентичность, а также безопасность производства [25].

Производство пробиотического препарата осуществляется периодическим или непрерывным способами в ферментерах путем биоконверсии

молочной сыворотки подобранным консорциумом молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Режим культивирования анаэробный, совместное культивирование 4-х штаммов в соотношении 1:1:1:1. Время культивирования 24 ч. Температурный режим культивирования 37 °С.

Штаммы молочнокислых бактерий *L. plantarum* 314/8 и *L. helveticus* R0052/6, *L. acidophilus* var. *coccoides* M-94/2 и *L. casei* subsp. *rhamnosus* L-2 депонированы в ВКМ ИБФМ им. Г. К. Скрыбина под номерами ВКМ В-3478D, ВКМ В-3477D, ВКМ В-3403D и ВКМ В-3402D соответственно.

Скрининг высокоактивных штаммов микроорганизмов для создания новых пробиотических препаратов представляет собой длительный и трудоемкий процесс. Перспективу использования имеют молочнокислые и пропионовокислые бактерии, т. к. являются действующим началом практически всех имеющихся на рынке пробиотических препаратов. Согласно современным научным представлениям, помимо безопасного состава пробиотических препаратов, в дальнейших исследованиях необходимо использовать *in vitro* и *in vivo* модели для уточнения механизмов действия пробиотиков. При этом каждый предполагаемый биологический эффект необходимо связать с конкретным штаммом, входящим в его состав. Большое значение имеет точная идентификация молочнокислых бактерий, сложность которой состоит в лабильности при проявлении основных характеристик, огромного разнообразия видов, их схожести, а также наличия нетипичных форм.

Результатом данной работы стало создание консорциумов пробиотических бактерий, которые имеют перспективу использования при разработке заквасок и пробиотических лечебно-профилактических препаратов, а также продуктов функционального питания.

Выводы

Получены экспериментальные данные по кинетическим показателям роста и способности к

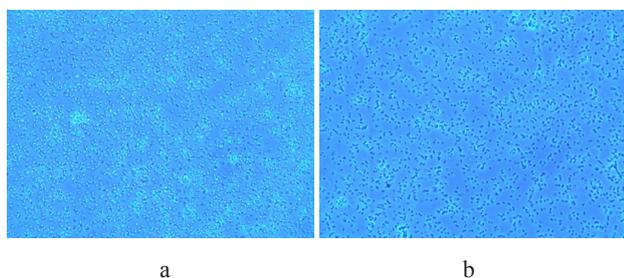


Рисунок 5. Микроскопия культуральной жидкости через 24 ч культивирования на жидкой среде MRS-1 консорциумов № 1 (а) и № 2 (б)

Figure 5. Microscopy of the culture liquid after 24 h of cultivation in liquid medium MRS-1: consortia No. 1 (a) and No. 2 (b)

синтезу молочной кислоты исследуемых штаммов молочнокислых и пропионовокислых бактерий в лабораторных условиях. Установлено, что накопление молочной кислоты может достигать до 4,22 %, удельная скорость роста – 0,32–0,84 ч⁻¹, максимальная плотность популяции – до 2,2×10⁹ КОЕ/см³.

На основе изучения биосовместимости штаммов молочнокислых бактерий установлены комбинации штаммов, в которых отсутствует явление антагонизма и конкуренции за субстрат. Это делает их перспективными для создания консорциумов. Подобран состав двух целевых консорциумов с учетом скорости роста и выхода биомассы, выбраны оптимальные варианты соотношения штаммов в их составе, выбран предпочтительный консорциум, включающий штаммы: *Lactobacillus plantarum* 314/8, *Lactobacillus helveticus* R0052/6, *Enterococcus faecium* 2240/D, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/27.

Разработаны параметры совместного культивирования консорциума: режим культивирования анаэробный, соотношение 4-х штаммов в консорциуме 1:1:1:1, время культивирования 24 ч при 37 °С.

Штаммы молочнокислых бактерий *L. plantarum* 314/8 и *L. helveticus* R0052/6, *Lactobacillus acidophilus* var. *coccoideus* M-94/2 и *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* L-2 депонированы в ВКМ ИБФМ им. Г. К. Скрыбина под номерами ВКМ В-3478D,

ВКМ В-3477D, ВКМ В-3403D и ВКМ В-3402D соответственно.

Критерии авторства

Г. С. Волкова – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация экспериментальных данных, написание статьи и ее редактирование, включающее существенные дополнения в содержании; подготовка промежуточных версий статьи. Е. М. Серба – разработка концепции и дизайна исследования, стратегическое управление комплексом исследований, финальное одобрение версии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

G.S. Volkova developed the concept and designed the study, analyzed and interpreted experimental data, wrote and proofread the manuscript. E.M. Serba developed the research concept and design, supervised the research complex, and approved of the final version of the manuscript.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Биотехнологические основы создания кормовых добавок с защитно-профилактическими свойствами / Г. С. Волкова [и др.]. М.: Первое экономическое издательство, 2020. 148 с.
2. МУК 4.2.2602-10. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков. М.: Роспотребнадзор, 2010. 60 с.
3. Creation and use of microorganism in meat production / A. Gizatov [et al.] // Periodico Tchê Quimica. 2020. Vol. 17. № 35. P. 713–727.
4. Шиповская Е. А., Евелева В. В., Черпалова Т. М. Исследование биосинтетической активности молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* при сбраживании лактозы молочной сыворотки // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. № 4 (31). С. 635–642. (In Eng.).
5. Антифунгальная активность штамма *Propionibacterium freudenreichii* и представителей рода *Lactobacillus* / Е. П. Рыжкова [и др.] // Микология и фитопатология. 2018. Т. 52. № 2. С. 144–149.
6. Крумликов В. Ю., Остроумов Л. А. Подбор параметров стабилизации симбиотического консорциума с целью получения закваски прямого внесения // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 42. № 3. С. 25–30.
7. Бокова Т. А. Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта: место метабиотиков в коррекции дисбиотических нарушений // Вопросы практической педиатрии. 2016. Т. 11. № 5. С. 38–42. <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2016-5-38-42>.
8. Интенсификация процесса культивирования физиологически адаптированных штаммов лактобацилл как основа для создания биопрепаратов микробного происхождения для птицеводства / А. Г. Кошаев [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2017. № 128. С. 1102–1115. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-128-076>.
9. Разработка поликомпонентного метаболитного пробиотика / Ю. В. Кулакова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013. № 5. С. 80–86.

10. Просеков А. Ю., Остроумов Л. А. Инновационный менеджмент биотехнологий заквасочных культур // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 43. № 4. С. 64–69.
11. Исследование антибиотической устойчивости и антиоксидантных свойств микроорганизмов желудочно-кишечного тракта / О. О. Бабич [и др.] // Актуальные вопросы науки. 2015. № 18. С. 20–24.
12. Determination of the intensity of bacteriocin production by strains of lactic acid bacteria and their effectiveness / M. I. Zimina [et al.] // Foods and Raw Materials. 2017. Vol. 5. № 1. P. 108–117. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-108-117>.
13. Prosekov A. Yu., Babich O. O., Bespomestnykh K. V. Identification of industrially important lactic acid bacteria in foodstuffs // Foods and Raw Materials. 2013. Vol. 1. № 2. P. 42–45. <https://doi.org/10.12737/2053>.
14. Use of lactic acid bacteria and yeasts to reduce exposure to chemical food contaminants and toxicity / G. M. Chiocchetti [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019. Vol. 59. № 10. P. 1534–1545. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1421521>.
15. Juturu V., Wu J. C. Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications // Biotechnology Advances. 2018. Vol. 36. № 8. P. 2187–2200. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.10.007>.
16. Фитобиотики в кормлении сельскохозяйственных животных / О. А. Багно [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. № 4. С. 687–697. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.4.687rus>.
17. Дудикова Г. Н., Чижаева А. В. Консорциум молочнокислых бактерий и дрожжей для ржаной закваски с повышенными антагонистическими свойствами // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 41. № 2. С. 34–39.
18. Получение продукции птицеводства без антибиотиков с использованием перспективных программ кормления на основе пробиотических препаратов / В. И. Фисинин [и др.] // Вопросы питания. 2017. Т. 86. № 6. С. 114–124.
19. Шурхно Р. А. Микробиологический препарат на основе гомоферментативных штаммов *Lactobacillus plantarum*, выделенных из природных источников для биоконсервирования растительных ресурсов (обзор проведенных исследований в период с 2000 по 2015 г.) // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. 2016. Т. 158. № 1. С. 5–22.
20. House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs / F. Minervini [et al.] // Food Microbiology. 2015. Vol. 52. P. 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.009>.
21. Production, characterization, and antimicrobial activity of a bacteriocin from newly isolated *Enterococcus faecium* П-31 / I. Javed [et al.] // Journal of Food Protection. 2010. Vol. 73. № 1. P. 44–52. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.1.44>.
22. Молочнокислые и пропионовокислые бактерии: формирование сообщества для получения функциональных продуктов с бифидогенными и гипотензивными свойствами / А. В. Бегунова [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 6. С. 566–577. <https://doi.org/10.1134/S0555109919060047>.
23. Дурникин Д. А., Силантьева М. М., Ерещенко О. В. Стимуляция ультразвуком накопления биомассы молочнокислых и пропионовокислых бактерий при глубинном культивировании // Биологический вестник Мелитопольского государственного педагогического университета им. Богдана Хмельницкого. 2016. Т. 6. № 2. С. 287–293.
24. Исследование ауто-, изо- и гомоантагонизма пробиотических штаммов лактобацилл / Н. А. Глушанова [и др.] // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2005. Т. 44. № 6. С. 138–142.
25. Urwyler S. K., Glaubitz J. Advantage of MALDI-TOF-MS over biochemical-based phenotyping for microbial identification illustrated on industrial applications // Letters in Applied Microbiology. 2016. Vol. 62. № 2. P. 130–137. <https://doi.org/10.1111/lam.12526>.

References

1. Volkova GS, Rimareva LV, Kuksova EV, Serba EM. Biotechnological basis for creating feed additives with protective and preventive properties. Moscow: Pervoe ekonomicheskoe izdatel'stvo"; 2020. 148 p. (In Russ.).
2. MUK 4.2.2602-10. Sistema predregistratsionnogo doklinicheskogo izucheniya bezopasnosti preparatov. Otbor, proverka i khranenie proizvodstvennykh shtammov, ispol'zuemykh pri proizvodstve probiotikov [Measurement Guidelines MUK 4.2.2602-10. System of pre-registration preclinical study of drug safety. Selection, verification, and storage of industrial strains used in the probiotics production]. Moscow: Rospotrebnadzor; 2010. 60 s.
3. Gizatov A, Gizatova N, Mironova I, Gazeev I, Nigmatyanov A. Creation and use of microorganism in meat production. Periodico Tche Quimica. 2020;17(35):713–727.
4. Shipovskaya EA, Eveleva VV, Cherpalova TM. Biosynthetic activity study of *Lactobacillus acidophilus* lactic acid bacteria in the lactose fermentation of whey. Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(4) (31):635–642.

5. Ryzhkova EP, Danilova IV, Shamraichuk IL, Kurakov AV, Netrusov AI. Antifungal activity of *Propionibacterium freudenreichii* and several *Lactobacillus* species. *Mycology and Phytopathology*. 2018;52(2):144–149. (In Russ.).
6. Krumlikov VYu, Ostroumov LA, Sukhikh SA, Kriger OV. Choice of stabilization parameters (freezing and drying) of symbiotic consortium to obtain a starter of direct inoculation. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;42(3):25–30. (In Russ.).
7. Bokova TA. Microbiocenosis of the gastrointestinal tract: place of metabiotics in correction of dysbiotic disorders. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2016;11(5):38–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2016-5-38-42>.
8. Koshchayev AG, Lysenko YuA, Mishchenko VA, Luneva AV, Radchenko VV, Machneva NL, et al. Intensification of the cultivation process of physiologically-adapted lactobacilli as a basis for the creation of biological products of microbial origin for poultry breeding. *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*. 2017;(128):1102–1115. (In Russ.). <https://doi.org/10.21515/1990-4665-128-076>.
9. Kulakova YuV, Aleshkin AV, Afanasiev SS, Zhilenkova OG. Development of polycomponent metabolite probiotic. *Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology*. 2013;(5):80–86. (In Russ.).
10. Prosekov AYu, Ostroumov LA. Innovation management biotechnology of starter cultures. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;43(4):64–69. (In Russ.).
11. Babich OO, Dyshlyuk LS, Prosekov AYu, Shishin MV. Issledovanie antibioticheskoy ustoychivosti i antioksidantnykh svoystv mikroorganizmov zheludochno-kishechnogo trakta [Antibiotic resistance and antioxidant properties of microorganisms of the gastrointestinal tract]. *Aktual'nye voprosy nauki [Relevant Issues of Science]*. 2015;(18):20–24. (In Russ.).
12. Zimina MI, Gazieva AF, Pozo-Dengra J, Noskova, SYu, Prosekov AYu. Determination of the intensity of bacteriocin production by strains of lactic acid bacteria and their effectiveness. *Foods and Raw Materials*. 2017;5(1):108–117. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-108-117>.
13. Prosekov AYu, Babich OO, Bespomestnykh KV. Identification of industrially important lactic acid bacteria in foodstuffs. *Foods and Raw Materials*. 2013;1(2):42–45. <https://doi.org/10.12737/2053>.
14. Chiocchetti GM, Jadán-Piedra C, Monedero V, Zúñiga M, Vélez D, Devesa V. Use of lactic acid bacteria and yeasts to reduce exposure to chemical food contaminants and toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(10):1534–1545. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1421521>.
15. Juturu V, Wu JC. Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. *Biotechnology Advances*. 2018;36(8):2187–2200. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.10.007>.
16. Bagno OA, Prokhorov ON, Shevchenko SA, Shevchenko AI, Dyadichkina TV. Use of phytobiotics in farm animal feeding. *Agricultural Biology*. 2018;53(4):687–697. (In Russ.). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.4.687rus>.
17. Dudikova GN, Chizhayeva AV. Consortium of lactic acid bacteria and yeast for rye starter with the increased antagonistic properties. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;41(2):34–39. (In Russ.).
18. Fisinin VI, Egorov IA, Laptev GYu, Lenkova TN, Nikonov IN, Ilyina LA, et al. Antibiotic-free poultry production based on innovative nutritional programs with the involvement of probiotics. *Problems of Nutrition*. 2017;86(6):114–124. (In Russ.).
19. Shurkhno RA. A microbiological preparation based on the homofermentative strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from the natural sources for bioconservation of plant resources (review of studies between 2000 and 2015). *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*. 2016;158(1):5–22. (In Russ.).
20. Minervini F, Lattanzi A, De Angelis M, Celano G, Gobetti M. House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs. *Food Microbiology*. 2015;52:66–76. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.009>.
21. Javed I, Ahmed S, Manam S, Riaz M, Ahmad B, Ishtiaq Ali M, et al. Production, characterization, and antimicrobial activity of a bacteriocin from newly isolated *Enterococcus faecium* IJ-31. *Journal of Food Protection*. 2010;73(1):44–52. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.1.44>.
22. Begunova AV, Rozhkova IV, Zvereva EA, Glazunova OA, Fedorova TV. Lactic and propionic acid bacteria: the formation of a community for the production of functional products with bifidogenic and hypotensive properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2019;55(6):566–577. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0555109919060047>.
23. Durnikin DA, Silant'yeva MM, Ereshchenko OV. Ultrasound-enhanced cell production of lactic and propionic acid bacteria under submerged cultivation for industrial purposes. *Biological Bulletin of Bogdan Chmel'nitskiy Melitopol State Pedagogical University*. 2016;6(2):287–293. (In Russ.).
24. Glushanova NA, Verbitskaya NB, Petrov LN, Blinov AI, Shenderov BA. Study of auto-, iso- and homoantagonism of probiotic lactobacilli strains. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2005;44(6):138–142. (In Russ.).
25. Urwyler SK, Glaubitz J. Advantage of MALDI-TOF-MS over biochemical-based phenotyping for microbial identification illustrated on industrial applications. *Letters in Applied Microbiology*. 2016;62(2):130–137. <https://doi.org/10.1111/lam.12526>.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-270-289>
УДК 637.5

Обзорная статья
<http://fptt.ru/>

Анализ мирового рынка биоматериалов с целью определения потенциальных возможностей сырья животного происхождения

М. В. Патшина*^{ORCID}, Р. А. Ворошилин^{ORCID}, А. М. Осинцев^{ORCID}



Кемеровский государственный университет^{ORCID}, Кемерово, Россия

Дата поступления в редакцию: 12.01.2020

Дата принятия в печать: 05.05.2021



*e-mail: m.patshina@yandex.ru

© М. В. Патшина, Р. А. Ворошилин, А. М. Осинцев, 2021

Аннотация.

Введение. В настоящее время перед мясоперерабатывающими предприятиями остро стоит проблема утилизации вторичных продуктов, которые имеют ограниченную область применения, но обладают целым спектром полезных свойств. Одним из перспективных способов использования продуктов убоя является производство биоматериалов, которые способны замещать различные ткани живого организма. В данном обзоре представлен анализ рынка биоматериалов, его объем и возможные пути использования вторичных мясных ресурсов в различных отраслях экономики.

Объекты и методы исследования. Кабинетное исследование на основе анализа данных открытых источников, в том числе публикаций и данных порталов в сети Интернет.

Результаты и их обсуждение. Разработка быстрых и эффективных способов восстановления поврежденных или утраченных органов и фрагментов тканей – это важнейшая задача современной регенеративной медицины. Ее решение зависит от разработки новых биоматериалов. Сегодня остро востребованы биосовместимые материалы в таких сферах медицины, как ортопедия, офтальмология, стоматология, общая и сердечно-сосудистая хирургия, восстановительная медицина, доставка лекарств и др. Кроме того, в косметологии, которая является быстроразвивающимся сегментом медицины, все большим спросом пользуются такие биоматериалы, как гиалуроновая кислота и коллаген. В области биомедицины Российский рынок составляет 0,7 % от мирового. Однако в перспективе можно ожидать развитие рынка и расширение ассортимента производимых биоматериалов.

Выводы. Неиспользуемые ресурсы мясной промышленности могут быть источником ценного сырья для создания биомедицинских конструкций для тканевой инженерии. Большое разнообразие структуры и свойств вторичных ресурсов позволит создать широкий спектр биоматериалов. Особый интерес представляет возможность изготовления матриц из собственного сырья в условиях предприятия.

Ключевые слова. Мясная промышленность, вторичное мясное сырье, биоматериалы, рынок биоматериалов, биомедицина

Для цитирования: Патшина М. В., Ворошилин Р. А., Осинцев А. М. Анализ мирового рынка биоматериалов с целью определения потенциальных возможностей сырья животного происхождения // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51, № 2. С. 270–289. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-270-289>.

Review article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Global Biomaterials Market: Potential Opportunities for Raw Materials of Animal Origin

Marina V. Patshina*^{ORCID}, Roman A. Voroshilin^{ORCID}, Alexey M. Osintsev^{ORCID}

Kemerovo State University^{ORCID}, Kemerovo, Russia

Received: January 12, 2020

Accepted: May 05, 2021



*e-mail: m.patshina@yandex.ru

© M.V. Patshina, R.A. Voroshilin, A.M. Osintsev, 2021

Abstract.

Introduction. Meat processing enterprises are facing the problem of utilization of secondary products with a limited scope of application and a wide range of useful properties. One of the promising ways of slaughter-house by-product utilization is the production of biomaterials that can replace various tissues of a living organism. This review presents an analysis of the global

biomaterials market, its volume, and possible ways of using secondary meat resources in various sectors of economy.

Study objects and methods. The article represents some results of a desk research based on open sources, i.e. publications and Internet data portals.

Results and discussion. One of the most important tasks of modern regenerative medicine is to develop fast and effective methods for the restoration of damaged or lost organs and tissue fragments. Its solution directly depends on new advanced biomaterials. Modern biocompatible materials are in great demand in such areas of medicine as orthopedics, ophthalmology, dentistry, general and cardiovascular surgery, restorative medicine, drug delivery, etc. Cosmetology is a rapidly evolving segment of medicine and depends on such biomaterials as hyaluronic acid and collagen. Russian biomedicine occupies 0.7% of the world market. However, the Russian segment is likely to grow and expand its range of biomaterials.

Conclusion. The currently unused resources of meat industry can be an excellent source of valuable raw materials for the advanced biomedical structures used in tissue engineering. A wide variety of structures and properties of secondary resources can produce a wide range of biomaterials. The possibility of manufacturing matrices from internally sourced raw materials within one enterprise is particularly promising.

Keywords. Meat industry, secondary meat raw materials, biomaterials, biomaterials market, biomedicine

For citation: Patshina MV, Voroshilin RA, Osintsev AM. Global Biomaterials Market: Potential Opportunities for Raw Materials of Animal Origin. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):270–289. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-270-289>.

Введение

Россия занимает лидирующие позиции в качестве поставщика сырья. Этот сегмент рынка позволяет быстро и легко делать деньги, в отличие от инвестиций в наукоемкие биомедицинские технологии. Доля России на мировом рынке биотехнологий составляет, согласно данным РВК, менее 0,1 %. Однако существуют политические решения, которые призваны исправить эту ситуацию. С целью создания конкурентоспособного биотехнологического сектора, а также достижения лидерских позиций в области биотехнологий (в том числе в области биомедицины, помимо сопутствующих отраслей агробиотехнологий, биоэнергетики и т. д.) в 2012 г. была создана комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 г. Для достижения поставленных целей в программе были предложены планы внедрения продуктов, создание научно-исследовательских центров, новых образовательных программ в высших учебных заведениях, стимулирование связей между наукой, бизнесом и многое другое.

С тех пор было проделано немало работы, повлекшей за собой существенные сдвиги в данном направлении. В 2013 г. была утверждена дорожная карта «Развитие биотехнологий и геномной инженерии». В ней был выдвинут значительный список целевых ориентиров и мероприятий. 23 июня 2016 г. вступил в силу ФЗ № 180 «О биомедицинских клеточных продуктах», регулирующий разработку, исследование, ввоз-вывоз, контроль качества, реализацию и уничтожение биомедицинских клеточных продуктов. Этот закон вводит сложную систему регуляции отношений между разработчиками продуктов, донорами клеток и пациентами.

Методы биотехнологии используют в различных отраслях промышленности, они позволяют решать

широкий спектр задач. Проблема рационального использования сырья и комплексной безотходной технологии наиболее остро ощутима в условиях глобализации, когда вопросы стандартизации и сертификации имеют решающее значение. Пока не создано «клеточное мясо» или «мясо из пробирки», человечество будет заниматься животноводством с целью получения животного белка – источника незаменимых аминокислот.

В результате процесса переработки животного сырья, наряду с основной продукцией, в едином технологическом цикле получают побочное сырье, обладающее полезными свойствами. Это субпродукты, шкура, кишки, жир-сырец, кровь, эндокринно-ферментное и специальное сырье, непивное (техническое) сырье, содержащее желудочно-кишечного тракта.

Вторичные сырьевые ресурсы и отходы предприятий, перерабатывающих животноводческую продукцию, используются на пищевые, кормовые и технические цели. Рациональное использование белкового сырья позволяет решить целый ряд экономических, социальных и экологических задач. Одной из наиболее актуальных задач является вовлечение максимального количества сырья в производство пищевых продуктов. Большое разнообразие продуктов убоя позволяет использовать их в качестве сырья для множества отраслей, в т. ч. пищевой, медицинской и легкой промышленности [1].

Объекты и методы исследования

Кабинетное исследование на основе анализа данных открытых источников, в том числе публикаций и данных порталов в сети Интернет.

В ходе анализа рассмотрены: тренды развития рынков, глобальные и российские рынки, дана оценка

динамики роста, рассмотрены ключевые игроки, проанализированы ключевые сегменты и технологии.

Результаты и их обсуждение

Уникальность свойств побочного сырья является предметом интереса ученых всего мира и обуславливает поиск новых возможностей его использования. Наиболее перспективными направлениями использования побочных продуктов переработки животного сырья являются:

- разработка технологии производства новых мясных продуктов, в том числе специальной и функциональной направленности;
- расширение ассортимента продуктов переработки крови;
- производство лекарственных препаратов;
- изготовление хирургических материалов;
- получение кормовых продуктов, биогаза, биотоплива.

Решения некоторых задач находятся в долгосрочной перспективе, т. к. требуют инновационно-технологического обновления инфраструктуры предприятий. Например, сбор эндокринно-ферментного и специального сырья для производства медицинских препаратов возможен только на хорошо оснащенных современных мясокомбинатах.

Одним из перспективных способов использования продуктов убоя является производство биоматериалов. Это материалы высокой функциональности и специфичности, способные воспроизводить биологические функции живых тканей организма и изменять свои свойства в ответ на изменение параметров внешней среды (температуры, pH, осмотического давления) [2]. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в биоматериаловедении к настоящему моменту, рынок биоматериалов все еще нуждается в развитии, т. к. пока не удалось создать субстанции, полностью совместимые с живым организмом.

Создание саморегулируемых биоматериалов основано на использовании химических и биотехнологических методов. Наиболее перспективной является разработка:

- материалов, способных изменять свои свойства в ответ на изменения внешней среды, а также содержащих биологически активные соединения;
- гибридных материалов с помощью методов клеточной и тканевой инженерии;
- материалов со специальными свойствами поверхности для непосредственного контакта с кровью и тканями организма человека;
- материалов на основе обработанных и модифицированных биотканей человека и животных;
- биodeградируемых материалов и композитов с контролируемым и регулируемым временем биodeградации, в т. ч. биополимеров, продуцируемых микроорганизмами.

Это позволит не только обеспечить рациональное использование вторичного сырья, но и расширить ассортимент медицинских имплантатов. В последние годы новые биоматериалы все чаще используются в таких областях, как тканевая инженерия и регенеративная медицина, нанохирургия, клеточная терапия, сердечно-сосудистая хирургия, ранняя медицинская диагностика, а также для целенаправленной доставки лекарственных препаратов в биологические ткани.

По данным Grand View Research, объем мирового рынка биоматериалов в 2017 г. оценивался в \$83,9 млрд. К 2025 г. он вырастет почти в 3 раза, достигнув уровня в \$240 млрд. Прогнозируемый среднегодовой темп роста составит 14,7 % (рис. 1) [3].

По данным maximizemarketresearch.com, глобальный рынок биоматериалов к 2025 г. достигнет объема \$251,28 млрд при среднегодовом росте в 17,12 %.

Тенденция к стабильному постоянному росту рынка биоматериалов обусловлена следующими факторами:

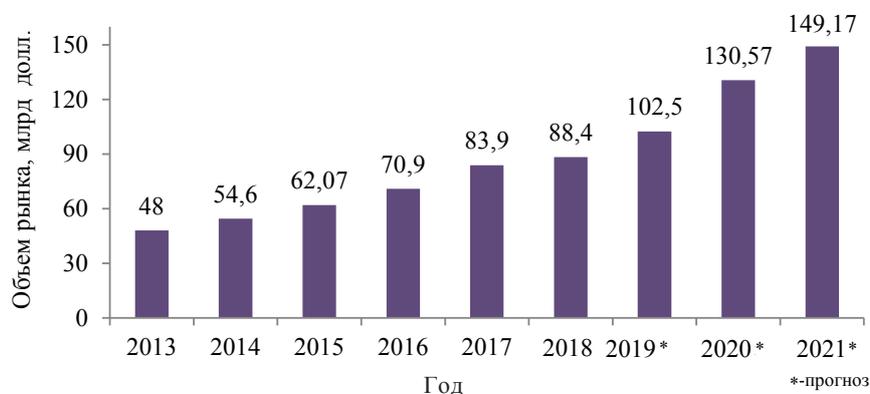


Рисунок 1. Объем мирового рынка биоматериалов

Figure 1. Global biomaterials market value

увеличение численности населения пожилого возраста в развитых странах; рост сердечно-сосудистых, ортопедических и онкологических заболеваний во всем мире; разработка имплантируемых механизмов и материалов; развитие имплантологии.

Объем инвестиций на разработку новых материалов зависит от общих расходов на здравоохранение. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения глобальные расходы на здравоохранение показывают стабильный рост с 2000 г. Кроме того, сектор здравоохранения продолжает расширяться быстрее, чем экономика в целом.

Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) прогнозируют рост расходов на

здравоохранение с 8,8 % ВВП в 2018 г. до 10,2 % в 2030 г. Это средний показатель по 36 странам ОЭСР. Самые значительные расходы на здравоохранение в 2018 году составили 16,9 и 12,2 % от ВВП в США и Швейцарии соответственно. Около 11 % ВВП уходит на здравоохранение в таких странах, как Франция, Германия, Швеция и Япония. Несколько стран, участвующих в ОЭСР, тратят на медицину по 4,2 % ВВП. Например, Мексика, Латвия, Люксембург и Турция. В России, которая не участвует в ОЭСР, расходы на здравоохранение только в 2020 г. достигнут 4,1 % от ВВП.

Министерство здравоохранения и социальных служб (FDA) США называет регенеративную медицину «следующим эволюционным шагом в медицине» и

Таблица 1. Направления использования биоматериалов

Table 1. Directions of use of biomaterials

Область применения	Назначения биоматериалов
Cardiovascular (сердечно-сосудистая система)	Sensors (Датчики) Stents (Стенты) Guidewires (Проволочные направляющие) Implantable Cardiac Defibrillators (Имплантируемые сердечные дефибрилляторы) Pacemakers (Кардиостимуляторы) Vascular Grafts (Сосудистые трансплантаты)
Ophthalmology (офтальмология)	Synthetic Corneas (Синтетическая роговица) Intraocular Lens (Интраокулярные линзы) Contact Lens (Контактные линзы) Ocular Tissue Replacement (Замена глазной ткани)
Dental (стоматология)	Tissue Regeneration Materials (Материалы для регенерации тканей) Dental Implants (Зубные имплантаты) Bone Grafts & Substitutes (Костные трансплантаты и заменители) Dental Membranes (Стоматологические мембраны)
Orthopedic (ортопедия)	Joint Replacement biomaterials (Биоматериалы для замены связок) Orthobiologics Bioresorbable Tissue Fixation Products (Биосорбируемые средства для фиксации тканей) Viscosupplementation (Повышение вязкости суставной жидкости) Spine Biomaterial (Позвоночный биоматериал)
Wound Healing (лечение ран и ожогов)	Fracture Healing Device (Устройство для заживления переломов) Adhesion Barrier (Адгезионный барьер) Skin Substitutes (Заменители кожи) Internal Tissue Sealant (Герметик для внутренних тканей) Surgical Hemostats (Хирургические гемостаты)
Tissue Engineering (тканевая инженерия)	Конструирование функциональных имплантатов и протезов
Plastic Surgery (пластическая хирургия)	Facial Wrinkle Treatment (Удаление морщин на лице) Soft Tissue Fillers (Наполнители мягких тканей) Craniofacial Surgery (Черепно-лицевая хирургия) Bioengineered Skins (Биоинженерная кожа) Peripheral Nerve Repair (Восстановление периферических нервов) Acellular Dermal Matrices (Клеточные дермальные матрицы)
Neurology (неврология)	Neural Stem Cell Encapsulation (Инкапсуляция нервных стволовых клеток) Shunting Systems (Маневровые системы) Hydrogel Scaffold For CNS Repair (Гидрогелевый каркас для восстановления ЦНС) Cortical Neural Prosthetics (Корковое нейронное протезирование)

«авангардом здравоохранения 21 века». Общая выручка рынка регенеративной медицины составила \$8 млрд в 2013 г. и выросла до \$16,3 млрд в 2017 (скорость роста – 15 % в год). Прогнозируемый объем выручки в 2025 году – до \$64,4 млрд. Мировой рынок биоматериалов составлял \$1,655 млрд в 2013 г., к 2017 г. вырос до \$3,784 млрд (GARP – 18 %), а в 2019 г. составил \$5,412 млрд. Прогнозируемый объем рынка в 2025 году составит \$15,91 млрд (GARP – 19,7 %).

Средняя продолжительность жизни в странах ОЭСР составляет 81 год. Но в последнее время в большинстве из них динамика роста этого показателя замедлилась. К 2040 г. 155 млн европейцев достигнут возраста старше 65,2 лет. В пожилом возрасте риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний резко возрастает. Это обуславливает стабильный спрос на производство биоматериалов. Помимо перечисленных выше факторов, на рост рынка биоматериалов оказывают влияние увеличение объема инвестиций в научные исследования в области клинической диагностики, молекулярной биологии и точной медицины; проведение большего количества специализированных конференций, а также растущее частное и государственное партнерство в области наук о жизни и биотехнологии.

Биоматериалы различных видов широко используются в кардиологии, офтальмологии, ортопедии, стоматологии и других областях медицины. Основные виды биоматериалов и направления их использования представлены в таблице 1 [4].

Спрос на биоматериалы напрямую будет зависеть от динамики роста отдельных областей медицинских

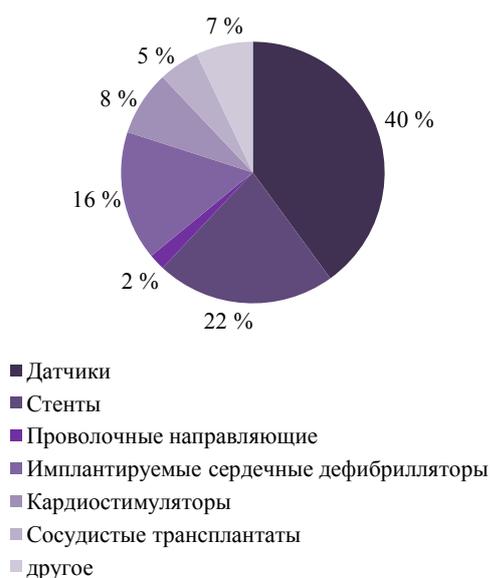


Рисунок 2. Применение биоматериалов в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы

Figure 2. Use of biomaterials in cardiovascular disease treatment

технологий в будущем. Согласно исследованиям ОЭСР в период до 2025 г. кардиология будет занимать 11 % мирового рынка медицинских технологий с ежегодным ростом рынка 5,8 %, ортопедия – 7 % рынка (рост 5,2 %), пластическая хирургия – 5 % (рост 5,3 %), стоматология – 3 % (рост 5,65 %) и ранозаживление – 3 % рынка с ростом 4,5 % в год.

Сердечно-сосудистый сегмент медицины является одним из самых доходных, ежегодный рост которого до 2025 г. составит 15,4 %. Это связано с количеством пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и возможностью регенеративной медицины. Самым быстроразвивающимся сегментом медицины является пластическая хирургия, рост которого в течение прогнозируемого периода ожидается на уровне 16,2 %. Это обусловлено повышением спроса на проведение косметологических процедур, в том числе среди мусульманского населения.

Лечение сердечно-сосудистых заболеваний предусматривает использование таких материалов, как датчики (40 % от общей доли биоматериалов), стенты (22 %), имплантируемые дефибрилляторы сердца (16 %), а также проводники, кардиостимуляторы, сосудистые трансплантаты и др. (рис. 2) [5–9].

Основными мировыми производителями природных биоматериалов являются Северная Америка (37 % рынка с объемом \$22,75 млрд) и некоторые страны Европы, а именно Швейцария, Германия и др. Лидеры рынка постоянно инвестируют в разработку новых продуктов, а также заключают стратегические соглашения с целью расширения бизнеса, связанного с исследованиями и разработками в этой области.

Ожидается, что в Азиатско-Тихоокеанском регионе (Китай, Индия, Япония и Корея) будет наблюдаться наибольшая динамика ежегодного прироста (18,3 %) в течение прогнозного периода (с 2019 по 2027 г.). Такой высокий процент прироста обусловлен ростом численности населения, увеличением количества косметологических и пластических процедур в Индии, новой налоговой политикой Китая, развитием в области научных исследований, государственной поддержкой и рядом других факторов.

Биоматериалы находят свое применение и в смежных отраслях. Их используют для производства биоимплантов, а также в тканевой инженерии для изготовления материалов восстановительной медицины. Кроме того, биоматериалы являются основным сырьем для изготовления систем доставки лекарственных средств. Объем рынка биоимплантов в 2018 г. оценивался в \$65 млрд с ежегодным приростом до 2025 г. 5,9 %. К 2026 г. мировой рынок имплантируемых систем управления сердечными ритмами вырастет до \$19,86 млрд. Динамическому росту данного сегмента рынка способствуют следующие факторы [3–4]:

– малоподвижный образ жизни. Многочисленные хронические заболевания, вызванные малоподвижным образом жизни, стимулируют спрос на биоимпланты

во всем мире. По данным Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC), только в США в 2017 г. 54,4 млн взрослого населения страдали артритом;

– болезни спины. Согласно Национальному статистическому центру травм спинного мозга в 2016 г. почти 54 % населения США страдали от болезней спины. Ожидается, что к 2020 г. этот показатель вырастет до 60 %, что приведет к росту возможностей для рынка имплантов;

– заболевания зубов. По оценкам Американской академии имплантологии, в 2017 г. более 69 % американцев в возрасте от 35 до 44 лет имеют хотя бы один отсутствующий зуб. Кроме того, увеличение потребления табака и никотина будет способствовать развитию стоматологических заболеваний в ближайшие годы. Это будет иметь общее влияние на спрос на биоимпланты в стоматологическом сегменте;

– спрос на аллотрансплантаты. Согласно информации, полученной LifeLink Tissue Bank в 2018 г., в США ежегодно имплантируется более 1,7 млн аллотрансплантатов. Они используются практически во всех хирургических дисциплинах: ортопедии, гинекологии, кардиохирургии, неврологии. Их преимуществами являются меньшая вероятность осложнений, уменьшение послеоперационной боли, а также сокращение длительности операции и периода восстановления;

– использование ксенотрансплантатов. Они заняли лидирующую позицию на рынке в 2018 г. благодаря своему биологическому происхождению. Это делает их совместимыми с организмом человека. В качестве ксенотрансплантатов могут использоваться следующие продукты животного происхождения: ткани, органы и железы крупного рогатого скота, свиней и овец, бедренная кость быка, губчатые бычьи кости, перикардальная мембрана, сухожилия быка (ахиллы), кожа/дерма, связки, тимусные железы телят, бычья сыворотка и т. д.

Ожидается, что Северная Америка будет доминировать на мировом рынке биоматериалов, в частности биоимплантов. Согласно статистике здравоохранения Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) в 2017 г. было проведено более 1,4 млн ортопедических процедур, включая операции по замене тазобедренного и коленного суставов, число которых в ближайшем будущем будет увеличиваться.

Европа является вторым по величине рынком для биоимплантов за счет увеличения государственного финансирования, роста распространенности ортопедических и сердечно-сосудистых заболеваний, активизации научно-исследовательской деятельности. Например, многие производители кардиостимуляторов работают над созданием МРТ-условных и бессвинцовых кардиостимуляторов. Кроме того,

растущее число операций при сердечнососудистых заболеваниях вслед за растущей распространенностью этого заболевания стимулирует рост рынка.

Прогнозируется, что Азиатско-Тихоокеанский регион станет самым быстрорастущим рынком в ближайшем времени. В первую очередь из-за высокой распространенности травм позвоночника, связанных с увеличением числа дорожно-транспортных происшествий. Согласно публикации Токийского университета Кейо в 2019 г. более 100 000 пациентов в Японии были парализованы из-за травм позвоночника. Недавнее одобрение технологии iPS в стране приведет к новым возможностям и направлениям использования биоимплантов.

Разработка новых биоматериалов и биоимплантов требует постоянных инвестиций в исследования и разработки инновационных технологий. В связи с этим возникает необходимость слияния и поглощения организаций, партнерства, кооперации, запуска новой продукции и т. д. Например, в марте 2018 года Orthofix International N.V. приобрела Spinal Kinetics Inc. – частного производителя и разработчика поясничных дисков. Это действие было направлено на укрепление ассортимента ортобиологических биоимплантов Orthofix.

MaterialCare разработала методы 3D-печати для биоимплантов, предназначенных исключительно для использования в ветеринарии. Однако компания заявила, что к концу 2021 г. технология будет доступна и для использования в лечении человека. Запатентованная технология LifeNet для аллотрансплантатов (Matracell, Мексика) в настоящее время используется большинством крупных производителей биоимплантов, включая Stryker и Arthrex.

Как известно, биоматериалы являются основным сырьем для получения систем доставки лекарств. Данные, представленные на рисунке 3, демонстрируют устойчивую тенденцию роста данного сегмента рынка. Например, ежегодный рост мирового рынка систем доставки лекарств в период с 2013 (\$151 млрд) по 2015 гг. (\$179 млрд) составил 9 % [10–12].

В ближайшее десятилетие рост будет составлять 6 % в год и к 2025 г. достигнет почти \$331 млрд. Основными движущими силами являются рынки Северной Америки и Европы, чей совокупный доход в 2015 г. составил 74,4 % мировых доходов. Этот процент будет оставаться высоким и в ближайшие годы.

По исследованиям Grand View Research, мировой рынок тканевой инженерии и регенеративной медицины в 2015 г. был оценен в \$27 млрд, а ежегодный рост в период между 2013 и 2015 гг. составил 27 %. Ожидается, что объем рынка возрастет с \$32 млрд в 2018 г. до \$135 млрд в 2024 (рис. 4) [3].

Лидерами в этой отрасли являются Северная Америка и Европа, которые заняли 83 % международного рынка в 2014 г. и сохранили этот показатель на уровне 80 % в 2019 г. Наибольший прогресс наблюдается в странах с развитой экономикой. Это связано с наукоемкостью и высокой стоимостью технологий, применяемых в данной отрасли. Рост рынка стимулируется правительственной поддержкой исследований в области клинических испытаний и финансированием исследований.

Благодаря постоянным инновациям новые участники рынка вступают в жесткую конкуренцию с зарекомендовавшими себя производителями, которые будут способствовать развитию рынка за счет разработок новых технологий и продуктов на основе биоматериалов. В настоящее время разработки ученых направлены на поиск новых источников для получения инновационных биоматериалов [13].

По исходному сырью биоматериалы можно разделить на металлические, полимерные, керамические и натуральные.

Металлические биоматериалы включают стальные и титановые амальгамы, кобальт-хромовые комбинации, серебро, золото, магний и др. Для этой категории материалов характерны биосовместимость, прочность и устойчивость к разрушению. Это делает их пригодными для использования в различных медицинских направлениях: ортопедия, сердечнососудистые заболевания, лечение ран и ожогов, стоматология. На долю этих материалов приходится треть рынка. Однако в нем ожидается наименьшая динамика роста относительно других сегментов. Это связано с поиском новых композитных материалов, которые не вызвали бы негативное воздействие на организм.

Керамические биоматериалы состоят из глинозема, фосфатов кальция, биостекла и керамики, а также

пиролитического углерода. Керамика вызывает большой интерес из-за своей способности выполнять необходимую механическую функцию для восстановления твердых тканей. На сегодняшний день доля рынка керамических биоматериалов составляет 20–25 %. Но ожидается, что способность биокерамики стимулировать ткани для регенерации костей в ближайшие годы увеличит спрос на этот материал [14].

Сегмент полимеров включает материалы, изготовленные из эластичного силикона, полиэтилена, нейлона, полимолочно-гликолевой кислоты (PLGA), полиэфира, поливинилхлорида и других полимеров. Этот сегмент занимает около трети рынка и сохранит свое лидерство до 2025 г. за счет использования в пластической хирургии.

Существуют также синтетические полимеры, применяемые или имеющие перспективы для биомедицины. Круг этих материалов расширяется и можно ожидать появление нового спектра полимеров с улучшенными биомедицинскими и технологическими свойствами, которые предназначены для конструирования эндопротезов длительного функционирования [15–18]. Однако их недостатком являются непредсказуемое взаимодействие с клетками и компонентами иммунной системы пациента, а также неконтролируемое время биодеградации в среде организма. Следует также отметить, что полимеры медицинского назначения должны быть высокой степени чистоты, т. е. исключено присутствие в них даже следовых количеств остатков субстратов, катализаторов и технологических добавок.

В последние десятилетия непрерывно растет интерес к природным (биологическим) полимерам. К ним относят материалы на растительной и животной основе, такие как альгинат натрия,

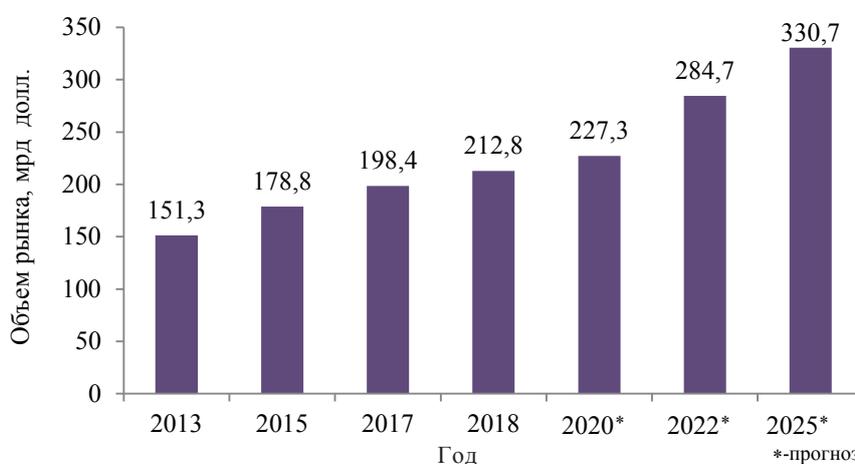


Рисунок 3. Объем рынка передовых систем доставки лекарств

Figure 3. Market value of advanced drug delivery systems

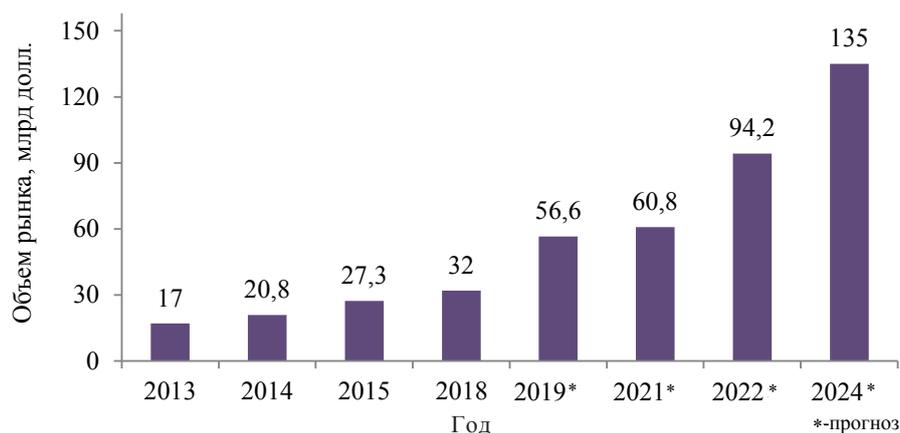


Рисунок 4. Объем мирового рынка тканевой инженерии и восстановительной медицины

Figure 4. World market value of tissue engineering and restorative medicine

целлюлоза, натуральный каучук, ткани и органы животных, коллаген, желатин, шовный материал, гликозаминогликаны гиалуроновой кислоты, гепарин, хитин, хитозан, агароза и др.

Согласно информации, полученной LifeLink Tissue Bank, в 2018 г. ксенотрансплантаты заняли лидирующую долю на рынке благодаря своему биологическому происхождению. Это делает их совместимыми с организмом человека. В качестве ксенотрансплантантов могут использоваться следующие продукты животного происхождения: ткани, органы и железы крупного рогатого скота, свиньи и овцы, бедренная кость быка, губчатые бычьей кости, перикардальная мембрана, сухожилия быка (ахиллы), кожа/дерма, связки, тимусные железы телят, бычья сыворотка и т. д.

В связи с этим ожидается, что рынок природных биоматериалов станет наиболее динамично развивающимся благодаря разработке и созданию новых продуктов. По данным maximizemarketresearch.com, в 2017 г. этот сегмент занимал около 16 % рынка (\$13 млрд), а к 2025 г. он продемонстрирует самый большой рост, по сравнению с остальными сегментами, достигнув 18–20 % (\$43–50 млрд) (рис. 5). По данным Coherent Market Insights, в 2018 г. объем сегмента составил \$57,75 млрд, а темпы роста рынка до 2027 г. составят 14,4 % и его объем превысит \$194,29 млрд.

Природные биоматериалы представляют интерес как основа для производства медицинских изделий и протезов. Большое разнообразие природных биоматериалов обуславливает широкий спектр их механических, биологических и химических свойств. Природные биоматериалы обычно являются биоразлагаемыми и могут быть реконструированы существующими протеазами и ферментами. Эта характеристика может быть использована для разработки современных медицинских устройств и методов лечения, которые требуют только

временного ремоделирования места имплантации или рассасывания.

В дальнейшем следует ожидать развитие рынка 3D-печати органов. В настоящее время ученые сосредоточены на разработке оптимальной технологии получения биочернил. В их основу входят такие полимеры, как коллаген, гиалуроновая кислота, альгинат, агароза и целлюлоза.

Технология получения биоматериалов, производимых природой, оттачивались на протяжении миллиардов лет, создавая исключительно точные структурно-функциональные отношения, которые ученые теперь стремятся воспроизвести. Достижения в области генной инженерии позволили определить, что изменение даже одного пептида в пептидной последовательности белка может привести к получению биоматериалов с уникальными термическими, механическими и биологическими свойствами [19–35].

В организме млекопитающих большая доля белков приходится на белки соединительной ткани. И именно их природные свойства ученые широко используют при создании новых биоматериалов. Одним из представителей соединительнотканых белков является эластин. Он служит модельным белком для определения взаимосвязи между конкретными структурными элементами и желаемыми характеристиками биоматериала. Модульная, повторяющаяся природа белка облегчает формирование четко определенных вторичных структур с возможностью самостоятельной сборки в сложные трехмерные архитектуры в различных масштабах длины.

Кроме того, существует множество возможностей для включения других структурных элементов на основе белка и неорганических материалов в материалы на основе рекомбинантного белка. Это позволяет расширить диапазон применения этих материалов в биомедицинских целях. Эластиноподобные полипептиды могут формировать трехмерные

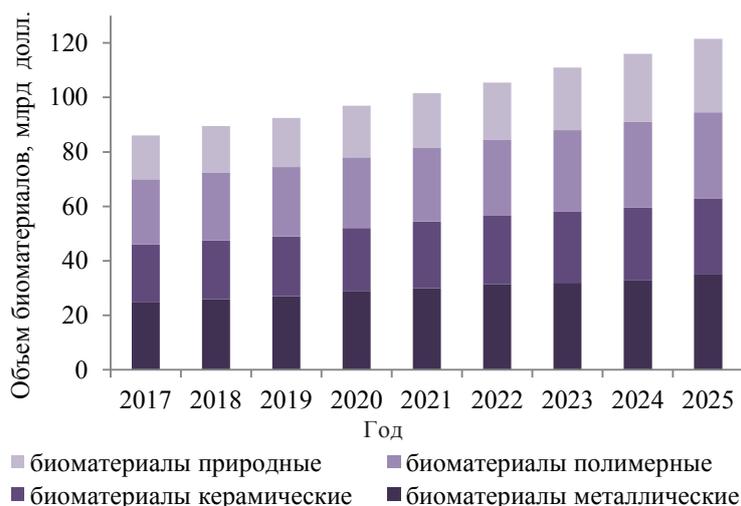


Рисунок 5. Мировой рынок разных типов биоматериалов

Figure 5. World market of various biomaterials

архитектуры с точным контролем инкапсуляции полезной нагрузки, механических и термических свойств, а также уникальными возможностями функционализации как генетическими, так и ферментативными способами [36].

Распространенным в медицине природным полимерным материалом является коллаген. Этот фибриллярный белок является одним из основных компонентов соединительной, костной и хрящевой тканей, а также соединительной ткани, входящей в состав сухожилий.

По составу сырья разделяют три основных вида коллагена:

– морской. Это белок получают из кожи и хрящей морских рыб. По структуре он наиболее близок к натуральному человеческому коллагену. Его доля составляет порядка 15 % от всего рынка коллагена. Ежегодный рост этого сегмента составляет 7,6 %;

– животный, который производят из кожи и хрящей крупного рогатого скота, свиней, лошадей, овец, кур. Это самый доступный вид синтетического коллагена. 35 % животного коллагена получают из крупного рогатого скота;

– гидролизанный, который производят не из целых молекул коллагена, а на основе их фрагментов – определенных аминокислот. За счет дробления частицы гидролизованного коллагена меньше по размеру, чем частицы морского или животного. Это обуславливает его высокую проникающую способность. В качестве сырья может использоваться не только хрящевая ткань животных или рыб, но и растения. Например, белок пшеницы, который содержит в себе коллагеноподобные фрагменты.

Мировой рынок коллагена, который в 2018 г. оценивался в \$4,28 млрд, по прогнозам Grand View Research, будет расти с умеренным среднегодовым темпом роста в 6,5 % и к 2025 г. приведет к мировым продажам в размере \$7,83 млрд [3].

Области применения коллагена – это создание эндопротезов мягких тканей, материалов для лечения поражений кожного покрова, эндопротезов жидкостных протоков и компонентов органов зрения. Известны примеры положительной оценки коллагена и для создания имплантатов артериальных сосудов, эндопротезов, связок и компонентов нервной системы. Для улучшения свойств имплантируемых материалов на основе коллагена и придания им большей механической прочности предложено получать композиты коллагена с керамиками и синтетическими полимерами (полиэтиленом, поливиниловым спиртом, полисилоксанами). Композиты коллагена и гидроксиапатита рассматриваются в качестве остеозамещающего материала для восстановления дефектов костной ткани в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии [37–44].

Кроме того, коллаген пользуется большой популярностью и в косметологии. Он помогает удерживать влагу в коже, увеличивает время действия других активных компонентов косметического препарата, стимулирует процесс регенерации кожи. Поэтому он незаменим в рецептурах средств по уходу за телом и волосами, а также коллагеновых инъекций, разглаживающих морщины. В фармацевтике коллаген входит в состав многих препаратов и БАД, которые применяются при лечении ревматоидного артрита и профилактики заболеваний опорно-двигательного аппарата. Одним из перспективных направлений

применения коллагена в медицине является изготовление скаффолдов – каркасов из коллагеновых волокон. Их используют для «выращивания» человеческих клеток прямо в организме человека. На каркасе фактически нарастает нужный орган [45].

Рынок коллагена представлен коллагеновыми пептидами/гидролизатами и желатином.

Пептид/гидролизат коллагена, также называемый гидролизованным коллагеном, представляет собой белый порошок без запаха, нейтральный на вкус и легко растворимый в холодных жидкостях. Он легко усваивается и не обладает желеобразующими свойствами. Важнейшим свойством гидролизата коллагена является его высокая проникающая способность, которая обусловлена низкой молекулярной массой. Это определяет высокую эффективность коллагена при лечении остеопороза, ювенильной слепоты, ревматоидного артрита и онкологических заболеваний.

Из-за высокой концентрации аминокислот коллагеновый пептид используют в различных пищевых продуктах, таких как протеиновые напитки, белковые порошки, белковые энергетические батончики, пищевые добавки, противовоспалительные добавки и добавки для суставного хряща.

Европа является крупнейшим мировым производителем коллагеновых продуктов с долей рынка более 50 % в качестве основного поставщика ингредиентов коллагена на азиатский рынок. На 2 месте находится Северная Америка, которая сохранит свое положение и в дальнейшем. Таким образом, рынок Северной Америки к 2025 г. оценивается в \$17 млрд с ежегодным темпом роста 10 %. Ежегодный темп роста рынка Азиатско-Тихоокеанского региона составит 11,1 % в период с 2017 по 2025 гг.

Grand View Research прогнозирует, что мировой рынок коллагена только для использования в регенеративной медицине вырастет с \$420,6 млн в 2017 г. до \$679,9 млн к 2022 г. с ежегодным темпом роста 10,1 % [3].

Коллагеновые биоматериалы эффективно используются в ортопедии, спортивной медицине, стоматологии, офтальмологии, общей и пластической хирургии, доставке лекарственных средств и других областях. В настоящее время сегмент ортопедии занимает лидирующую позицию на рынке благодаря многочисленным применениям коллагена при повреждении костей, сухожилий и связок. Согласно отчету Национального фонда остеопороза в 2014 г. около 54 млн человек в США старше 50 лет страдают от низкой костной массы и остеопороза, что поспособствовало росту рынка.

Вторым по популярности природным биоматериалом является желатин, который получают из коллагена и используют в качестве гелеобразующего вещества в производстве средств личной гигиены, косметики, продуктов питания, пищевых добавок, напитков, фармацевтической продукции и т. д. [46–48].

По данным Grand View Research, объем рынка желатина составлял \$2,91 млрд в 2018 г. Темп роста рынка желатина составит 8 % ежегодно и к 2025 г. объем рынка в денежном выражении достигнет \$5 млрд. Согласно исследованиям Global Industry Analysts, Inc. (США) за 2019 г. рынок желатина высоко концентрирован и включает только 6 основных мировых производителей, которые обеспечивают около 70 % мирового производства желатина – Gelitta, Nitta, Russelot, Sterling, Weishardt, Tessengerli (PB Gelatins). Исследователи утверждают, что к 2024 г. объем рынка желатина составит 510 тыс. тонн (против 480 тыс. тонн в 2019 г.) за счет роста применения в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности.

Для получения желатина используются такие виды сырья, как свиные и бычьи шкуры, кожа и хрящи рыб, а также кости крупного рогатого скота. Ежегодный темп роста последнего будет составлять 5,5 %. В зависимости от сферы применения желатина рынок делится на следующие сегменты:

- продукты питания и напитки. Желатин широко используется в качестве гелеобразующего, стабилизирующего, пенообразующего и эмульгирующего вещества в мясных и молочных продуктах, десертах, выпечке, диетических продуктах, напитках и т. д. Этот сегмент был лидирующим на мировом рынке желатина в 2018 г. и до 2025 г. будет расширяться на 7,8 % в год;
- фармацевтические препараты. Сегмент будет расширяться на 8,2 % в год до 2025 г.;
- функциональные продукты питания. Рост этого сектора составит 6 % в год;
- средства личной гигиены. Этот сектор испытывает спад из-за конкуренции с гидроколлоидными заменителями, такими как ксантановая камедь и карбоксиметилцеллюлозы.

Рынок желатина занимает все новые ниши. Rousselot Angouleme SAS (Франция) запускает новый стандарт желатина для применения в теле – медицинский желатин X-Pure™. Nitta Gelatin (США) выпускает желатин DRG, предназначенный для ингибирования реакций сшивания (Inhibit Cross-Linkage Reactions). Catalent Pharma (США) разработала технологию доставки RP Scherer Softgel, аналогичную капсулам.

Желатин находит применение в качестве матриц для выращивания клеток *in vitro* применительно к задачам клеточной и тканевой инженерии. Доказано, что матрицы из желатина пригодны для успешного выращивания клеток разного происхождения [45, 48].

Еще одним природным полимером, широко применяемым в медицине, является гиалуроновая кислота, которая может быть как животного, так и растительного (синтезированная) происхождения. Для получения гиалуроновой кислоты животного происхождения используют следующее сырье: гребни петухов, синовиальную жидкость, хрящи,

стекловидное тело глаза, амниотическая жидкость, ткани пуповины, соединительнотканый матрикс кожи и т. д. Синтезированную гиалуроновую кислоту получают из растительного сырья с использованием бактериальных культур. Она имеет такую же структуру, как гиалуроновая кислота из животного сырья, но, благодаря микробному синтезу, очищена от примесей бактериального белка и эндотоксинов и может иметь заданную молекулярную массу. Кроме того, химическая модификация молекул гиалуроновой кислоты позволяет получить материалы с разными биофизическими и биохимическими свойствами.

С 2014 г. FDA одобрило MONOVISC – первый препарат для одноразовой инъекции синтезированной гиалуроновой кислотой. Это делает его доступным к применению для пациентов, страдающих аллергией на препарат, полученный из животного сырья.

Гиалуроновая кислота – один из перспективных материалов в восстановительной хирургии и тканевой инженерии. Одна молекула гиалуроновой кислоты способна связывать до 1000 молекул воды. Этот компонент используется в качестве вязкоэластика в офтальмологии, барьерной мембраны в ортопедии, а также ожогового покрытия в восстановительной медицине. Гиалуроновая кислота и композиты на ее основе используются в абдоминальной хирургии в качестве барьерного и противовоспалительного средства. Таким образом, гиалуроновая кислота является перспективным компонентом в клеточных технологиях [49].

Кроме того, гиалуроновая кислота широко используется в качестве косметического ингредиента: как увлажняющий компонент косметики и как филлер при контурной пластике лица. Исследователи Центра дерматологии и лазерной косметологии из Южной Каролины доказали эффективность солей гиалуроновой кислоты в лечении себорейного дерматита и других заболеваний кожи.

По прогнозам компании Grand View Research, рынок филлеров в эстетической хирургии к 2025 г. продемонстрирует годовой темп роста до 8,31 % и достигнет объема \$6,04 млрд. Рост можно объяснить повышением качества жизни и общего состояния здоровья, а технологические инновации в данной отрасли еще больше укрепят рынок. Влияние рекламы в социальных сетях с акцентом на безупречную внешность будет стимулировать рост сегмента.

По данным Международного общества эстетической пластической хирургии (ISAPS), в 2017 г. процедуры с филлерами на основе гиалуроновой кислоты занимали второе место по популярности в мире – 3,3 млн процедур. В период с 2017 по 2018 гг. рынок вырос на 11,6 %. Количество инъекций составляло от 72852 до 5033693 в зависимости от используемого препарата.

В 2017 г. наибольшая доля рынка принадлежала Северной Америке благодаря большой популярности малоинвазивных косметических процедур. Быстро растет число процедур в таких странах, как Бразилия, Китай, Япония и Южная Корея. Ожидается, что к 2025 году Азиатско-Тихоокеанский регион обойдет США по количеству процедур. Это связывают с укреплением Китая и повышением уровня доходов пациентов.

Еще одним широко используемым биоматериалом является гепарин. Это антикоагулянт (разжижитель крови), который предотвращает образование тромбов и является эффективным решением при лечении и профилактики сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваниях, число которых растет с каждым годом. Сырьем для гепарина являются свиная кишка, бычье легкое и бычий кишечник и т. д. [50].

По прогнозу Global Info Research, мировой рынок гепарина в ближайшие пять лет будет расти на 3,3 % в год и достигнет \$1,2 млрд к 2024 г. по сравнению с \$0,99 млрд в 2019. По данным Research and Markets, потенциал роста рынка гепарина составит 5 % в год. Основными производителями являются всего три

Таблица 3. Сегментация российского рынка биомедицины

Table 3. Segmentation of the Russian biomedicine market

Сегмент	Подсегмент	Объем рынка РФ в 2017 г., млн руб.	Доля РФ на мировом рынке, %	Годовой прирост, %	Объем рынка РФ в 2025 г., млн руб. (прогноз)
Регенеративная медицина	В целом	362	0,061	15,5	979
	Клеточная терапия	140	0,084	14	350
	Тканевая инженерия	10	0,005	16	29
	Биосовместимые материалы	180	0,082	18	573
	Прочее	10	0,053	14	27
Генная терапия		18,5	2,52	19	74
Биофармацевтика		80351	0,66	9	14700
Контролируемая доставка лекарств		0	–	–	–
Общий рынок		80762	0,37	14,5	148053

компании – Hepalink (Китай), Bioibérica (Испания), Changshan Pharm (Китай). Каждая имеет своего потребителя. По данным за 2016 г., крупнейшим потребителем гепарина являются Европа (40 % рынка потребления) и США (36 %). Поскольку большинство нефракционированных и низкомолекулярных гепаринов производятся из слизистой оболочки свиньи, а Китай является крупнейшим в мире производителем свинины (50 % мирового объема), то неудивительно, что китайские компании занимают лидирующее положение в производстве гепаринов.

Уникальным продуктом переработки животных является перикард – жесткая двухслойная мембрана, которая покрывает сердце. Его стоимость в три раза превышает стоимость источника, из которого его получают (свиньи и крупный рогатый скот). Перикард крупного рогатого скота широко используется в таких областях, как биопротезирование сердечных клапанов, закрытие твердой мозговой оболочки, костных и зубных оболочек, а также для хирургической поддержки. Его основным свойством является прочность и эластичность [51].

Высокая распространенность инсульта, ишемической болезни сердца, а также растущее количество пациентов, имеющих показания к каротидной эндартерэктомии, которая проводится только в условиях стационара, требует применения сосудистых пластырей (трансплантантов). Пластыри подразделяются на биологические и синтетические. По данным Mordor Intelligence, биологические пластыри занимают около 63 % мирового рынка. Их основными преимуществами являются способность к биологическому разложению, высокая прочность при натяжении и удержании швов, а также выраженный бактерицидный эффект.

Для производства биологических сосудистых пластырей используется ткань перикарда крупного рогатого скота. XenoSure Biologic Vascular Patch (LeMaitre Vascular GmbH, США) является одним из высококачественных пластырей из бычьего перикарда, используемых во время процедур эндартерэктомии (endarterectomy) и восстановления сосудов. Пластырь перикарда крупного рогатого скота Duravess (Edwards Lifesciences, США) используется при каротидной эндартерэктомии, ревизии артериовенозного доступа, профундапластики, бедренной, подвздошной, а также почечной и большеберцовой эндартерэктомии.

Ткань перикарда крупного рогатого скота обладает эластичными свойствами, что имеет большое значение, принимая во внимание сложную анатомию сосудов. Кроме того, они демонстрируют значительно меньший риск возникновения интраоперационного кровотечения по шовным линиям по сравнению с синтетическими пластырями. Эти свойства стимулируют спрос на биологические сосудистые пластыри.

По данным www.absolutereports.com, мировой рынок сосудистых пластырей в 2017 г. был оценен в \$168,33 млн и к 2023 г. достигнет \$306,94 млн со среднегодовым темпом роста 10,53 % в течение прогнозируемого периода 2019–2024 гг. Наибольшую долю рынка удерживает Северная Америка. Однако рынки Северной Америки и Европы достаточно насыщены, что обуславливает средний темп их роста. Наибольшая динамика в ближайшее десятилетие ожидается на рынках Азиатско-Тихоокеанского региона.

Все больше новых биоматериалов из различных источников животного сырья появляется на рынке благодаря развитию тканевой инженерии. Одним из примеров такого материала является внеклеточный матрикс (ЕСМ – extracellular matrix), представляющий собой трехмерную сеть внеклеточных макромолекул, таких как коллаген, ферменты и гликопротеины, которые обеспечивают структурную и биохимическую поддержку окружающих клеток [11, 27, 28, 31]. Внеклеточный матрикс животного включает интерстициальный матрикс и базальную мембрану. Базальные мембраны представляют собой пластинчатые отложения ЕСМ, на которых находятся различные эпителиальные клетки. Каждый тип соединительной ткани у животных имеет тип ЕСМ: коллагеновые волокна и костный минерал составляют ЕСМ костной ткани; ретикулярные волокна и измельченное вещество составляют ЕСМ рыхлой соединительной ткани; плазма крови – это ЕСМ крови [36–39, 45, 52].

В качестве примера можно привести Medeor Matrix (Koninklijke DSM N.V., Нидерланды), который используется для пластических и реконструктивных операций на мягких тканях. Он изготовлен с использованием процесса OPTRIX, который устраняет поврежденные клетки, инактивирует вирусы, дезинфицирует ткани и сохраняет компоненты ЕСМ.

По данным Grand View Research, Inc., объем мирового рынка пластырей внеклеточной матрицы в 2017 г. оценивался в \$22,08 млн, среднегодовой темп роста рынка до 2025 г. оценивается в 7,7 %. К 2025 г. объем рынка составит \$39,7 млн. По прогнозам, самый большой спрос на пластыри будет обусловлен при проведении сосудистых операций. Кроме того, многие государственные и частные организации поддерживают исследования в области внеклеточного матрикса для лечения сосудистых заболеваний, что также может способствовать развитию сегмента [15, 53–55].

Самым распространенным источником получения пластырей внеклеточной матрицы являются свиньи и крупный рогатый скот. В 2017 г. пластыри, полученные из свиней, имели наибольшую долю в структуре доходов (40 %) из-за высокого использования этих трансплантатов в реконструктивных операциях. Трансплантаты, полученные из свиней, обладают рядом преимуществ, таких как доступность

сырья, долговечность, эластичность и низкая вероятность образования рубцов, что стимулирует их востребованность.

Пластыри, полученные из крупного рогатого скота, составляют 30 % рынка и демонстрируют динамику роста 8,3 %. Рост обусловлен эффективностью их использования в восстановлении мягких тканей, сосудов, твердой мозговой оболочки, а также перикарда. Кроме того, эти пластыри обеспечивают биосовместимость, снижают риск заражения и просты в применении во время хирургических процедур.

Помимо свиней и крупного рогатого скота, пластыри ЕСМ получают также и из других источников, таких как производная от дермы человека и перикард лошадиного происхождения. Они занимали значительную долю рынка (30 %) в 2017 г. Разработка трансплантатов поддерживается как государственными, так и частными организациями, в сочетании с большими инвестициями в НИОКР. Например, MTF Biologics (США) является некоммерческой организацией, занимающейся предоставлением ткани аллотрансплантата человека.

Мировой рынок биоматериалов показывает стабильный рост и большие объемы. Развитие этого сектора экономики непосредственно связано с развитием медицинских технологий и затратами на исследование и разработку новых материалов. Доля России на мировом рынке биотехнологий составляет, согласно данным НТИ HealthNet, менее 0,1 % (табл. 3) [56–58].

Россия представлена только в биофармацевтическом сегменте благодаря научным разработкам ученых СССР. Главной причиной отставания отечественного рынка от мировых трендов является отсутствие деятельности по разработке новых биомолекул внутри российских фармацевтических компаний. Такое отставание связано с отсутствием инвестиционных вложений и источников дешевого капитала. Отрасль биотехнологии отпугивает частных инвесторов длинным циклом разработки – для него нужны большие деньги. В большинстве своем российские компании инвестируют собственные средства, а не привлеченный/заемный капитал.

Однако существуют политические решения, которые призваны исправить эту ситуацию. Так, в 2012 г. создана комплексная программа развития биотехнологий в России, координируемая Министерством экономического развития Российской Федерации. Она включает в себя создание конкурентоспособного биотехнологического сектора, а также достижение лидерских позиций в области биотехнологий, в том числе в области биомедицины.

За это время созданы профильные технологические платформы «Биотех 2030», «Биоэнергетика», «Медицина будущего», а также 10 инновационных биотехнологических кластеров. В инновационном центре «Сколково» Кластер «Биомед» помогает

фундаментальным научным исследованиям в области биологии, химии и физики найти прикладное применение в практической медицине.

В Кластере собрано 215 инновационных компаний, деятельность которых направлена на реализацию проектов в области создания инновационных лекарственных средств, медицинских диагностических и терапевтических изделий, новых биосовместимых материалов и продуктов клеточных технологий, проектов по биоинформатике. Для реализации научно-исследовательской деятельности Кластер оказал финансовую поддержку 80 проектам.

Поддержку Кластера получил проект «Биосовместимые синтетические материалы на основе фосфатов кальция для замещения и регенерации костных тканей» малого инновационного предприятия ООО «БиоНова». Научной командой проекта сделано более 20 изобретений в сфере биоматериалов, внедрено в медицинскую практику медицинское изделие TriCaFog.

За время работы программы развития биотехнологий в России начали работу различные проекты.

ООО «ХЕЛИКСАН КОСМЕТИКС» занимается производством высокомолекулярного рыбного коллагена косметического и медицинского назначения. Он представляет собой дисперсию высокомолекулярного рыбного коллагена с заданным комплексом свойств. Одним из применений данного препарата может быть изготовление скаффолдов – каркасов из коллагеновых волокон.

ООО «Глазная клиника ЛЭК» и ООО фирмы «ИМТЕК» занимаются разработкой коллагенового импланта для кератопластики.

Завод «Белкозин» применяет новейшие технологии при изготовлении раствора коллагена для производства уникальных медицинских изделий – ранозаживляющих, противоожоговых покрытий, пластин и гемостатических губок.

ЗАО «Зеленая дубрава» производит лекарственные средства, медицинские изделия и парфюмерно-косметическую продукцию. Нативный трехспиральный коллаген от ЗАО «Зеленая дубрава» наиболее близок к белку соединительной ткани человека и является структурным каркасом для построения новой ткани и стимулирования регенеративных функций в кожных покровах.

Группа компаний «Ниармедик» разрабатывает платформы продуктов для регенерации тканей в стоматологии, хирургии и травматологии. На рынке уже представлена линейка биопластических материалов. На стадии регистрации находится система для выделения стромально-васкулярной фракции ESVIEW. Проходит экспертизу линейка материалов для регенерации костной ткани BONGRAF. В компании «Ниармедик» создают медицинские изделия для регенерации костной ткани на основе биологического

матрикса ксеногенного происхождения. Собственная технология производства позволяет получить высокоочищенную нереконструированную нативную коллагеновую и минеральную матрицу с полностью сохраненной трехмерной структурой и проводить ее стерилизацию без изменения активности и структуры.

Развитие биотехнологического сектора и разработка новых приемов обработки белкового сырья позволяют расширить возможности вторичных ресурсов. Появление на рынке новых востребованных биоматериалов на основе сырья животного происхождения прямое тому доказательство. Состав и свойства побочных продуктов переработки мясной промышленности представляют огромный интерес для биотехнологов в качестве сырья для производства биоматериалов. Как показывают проведенные исследования, учитывая ресурсность вторичного сырья мясной промышленности, представляется перспективным разработать технологию получения внеклеточного матрикса (скаффолдов) из различного сырья.

Матрикс является перспективным материалом для тканевой инженерии и регенеративной медицины. Использование в регенеративной медицине биологических конструкций, включающих в себя компоненты нативной ткани, позволяет повторить необходимые архитектуру, микро- и наноструктурные особенности и функциональную активность тканей. Для снижения вероятности отторжения ксеногенного материала проводят децеллюляризацию органов или тканей, т. е. получение лишенного клеток межклеточного матрикса. Эта технология является одной из новых в регенеративной медицине для создания трансплантатов и изделий. При использовании данного метода сохраняется состав, архитектура, сосудистое русло и биологическая активность межклеточного матрикса. Компоненты межклеточного матрикса в составе изделий создают естественное микроокружение, благоприятное для клеток, схожее с нативным. Также межклеточный матрикс может быть прекрасным материалом для клеточной адгезии, пролиферации и дифференцировки, т. к. межклеточный матрикс – это не инертный компонент, а динамический регулятор функционирования клеток. Метод децеллюляризации позволяет получить васкуляризованный межклеточный матрикс органов с разветвленной системой сосудов и пор.

В этой ситуации предприятия мясной промышленности приобретают большую значимость в качестве источника дешевого побочного сырья как основы для создания новых биоматериалов.

Выводы

В мясной промышленности ежегодно образуется до 1 млн тонн вторичного сырья и отходов, лишь незначительная часть которых используется в

дальнейшем. Вторичные ресурсы мясной промышленности – ценное сырье для производства пищевой, технической, кормовой продукции, а также лекарственных препаратов. Утилизация отходов является актуальной задачей предприятий агропромышленного сектора. Полная переработка побочного сырья позволит не только сократить объемы биологических отходов, но и увеличить рентабельность производств и прибыль предприятий.

Анализ мирового рынка биоматериалов показал, что возможности использования вторичного сырья мясной отрасли не ограничиваются производством только пищевых продуктов – потребность рынка в натуральных биоматериалах, благодаря их универсальности и биосовместимости, растет с каждым годом. Таким образом, гиалуроновая кислота, коллаген, гепарин, желатин и другие биоматериалы занимают значительную долю рынка и востребованы в таких областях медицины, как ортопедия, стоматология, общая и пластическая хирургия и многих других. Это может быть связано с увеличением среднего возраста населения, а значит развитием сердечнососудистых, ортопедических и других заболеваний.

Как показал проведенный анализ, получение биоматериалов на основе вторичного мясного сырья и отходов мясного производства является перспективным направлением в условиях современного рынка. Однако низкая оснащенность и устаревшая инфраструктура предприятий мясной отрасли России, а также недостаток инвестиций затрудняет рост рынка новых биоматериалов.

Сырье, получаемое при производстве и переработке мяса, чрезвычайно разнообразно. Оно отличается химическим составом и свойствами. В связи с этим представляет интерес разработка методов обработки ткани, в том числе и в условиях предприятий мясной промышленности, для получения новых биоматериалов в виде децеллюляризованных органов или тканей с разным поведением в организме, различной скоростью биорезорбции и физико-механическими параметрами, а также возможностью заселения аутологичными стволовыми клетками или фиксацией биологически активных белковых субстанций с перспективой использования в тканевой инженерии.

Разрабатываемые методы позволяют создать перспективные биомедицинские конструкции для биоинженерии, поскольку разработанные в ходе работы биodeградируемые скаффолды на основе децеллюляризованной ткани могут стать универсальными бесклеточными платформами для создания персонализированных биомедицинских клеточных продуктов. Полученные конструкции после витализации собственными клетками пациента могут стать одними из эффективных продуктов для регенеративной медицины.

Критерии авторства

Фактический вклад каждого соавтора в выполненную работу составляет М. В. Патшина – 60 %, Р. А. Ворошилин – 20 %, А. М. Осинцев – 20 %.

Contribution

The actual contribution of each co-author to the work performed is M.V. Patshina – 60%, R.A. Voroshilin – 20%, A.M. Osintsev – 20%.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Лисицын А. Б., Небурчилова Н. Ф., Петрунина И. В. Комплексное использование сырья в мясной отрасли АПК // Пищевая промышленность. 2016. № 5. С. 58–62.
2. An overview of injectable polymeric hydrogels for tissue engineering / A. Sivashanmugam [et al.] // European Polymer Journal. 2015. Vol. 72. P. 543–565. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.05.014>.
3. Biomaterials market size, share & trends analysis report by product (natural, metallic, ceramics, polymers), by application (cardiovascular, orthopedics, plastic surgery), and segment forecasts, 2020–2027. Grand View Research, 2010. 190 p.
4. Севастьянов В. И. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2014. Т. 16. № 3. С. 93–108. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2014-3-93-108>.
5. Swim bladder as a novel biomaterial for cardiovascular materials with anti-calcification properties / J. Liu [et al.] // Advanced Healthcare Materials. 2020. Vol. 9. № 2. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901154>.
6. Diepoxy-versus glutaraldehyde-treated xenografts: outcomes of right ventricular outflow tract reconstruction in children / N. R. Nichay [et al.] // World Journal for Pediatric and Congenital Heart Surgery. 2020. Vol. 11. № 1. P. 56–64. <https://doi.org/10.1177/2150135119885900>.
7. Blatchley M. R., Gerecht S. Reconstructing the vascular developmental milieu *in vitro* // Trends in Cell Biology. 2020. Vol. 30. № 1. P. 15–31. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2019.10.004>.
8. *In vitro* construction of artificial blood vessels using spider silk as a supporting matrix / K. Dastagir [et al.] // Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2020. Vol. 101. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103436>.
9. An injectable chitosan/dextran/ β -glycerophosphate hydrogel as cell delivery carrier for therapy of myocardial infarction / X. Ke [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2020. Vol. 229. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115516>.
10. Retentive drug delivery systems based on shape memory materials / A. Maroni [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. 2020. Vol. 137. № 25. <https://doi.org/10.1002/app.48798>.
11. Extracellular matrix-modified fiber scaffolds as a proadipogenic mesenchymal stromal cell delivery platform / C. Blum [et al.] // ACS Biomaterials Science and Engineering. 2019. Vol. 5. № 12. P. 6655–6666. <https://doi.org/10.1021/acsbmaterials.9b00894>.
12. Stabilization of chitosan-based polyelectrolyte nanoparticle cargo delivery biomaterials by a multiple ionic cross-linking strategy / M. Motiei [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2020. Vol. 231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115709>.
13. Reis R. L., Neves N. M. Challenges and opportunities of natural biomaterials for advanced devices and therapies // Biomaterials from nature for advanced devices and therapies / N. M. Neves, R. L. Reis editors. Wiley Blackwell, 2016. P. 629–633 <https://doi.org/10.1002/9781119126218.ch33>.
14. Mesoporous bioactive glasses for bone healing and biomolecules delivery / V. Lalezarlina [et al.] // Materials Science and Engineering C. 2020. Vol. 106. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110180>.
15. New injectable elastomeric biomaterials for hernia repair and their biocompatibility / J. Skrobot [et al.] // Biomaterials. 2016. Vol. 75. P. 182–192. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.10.037>.
16. Pramudya I., Chung H. Recent progress of glycopolymer synthesis for biomedical applications // Biomaterials Science. 2019. Vol. 7. № 12. P. 4848–4872. <https://doi.org/10.1039/c9bm01385g>.
17. Multifunctional temperature-responsive polymers as advanced biomaterials and beyond / E. M. Frazar [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. 2020. Vol. 137. № 25. <https://doi.org/10.1002/app.48770>.
18. Diez-Escudero A., Espanol M., Ginebra M.-P. Synthetic bone graft substitutes: Calcium-based biomaterials // Dental implants and bone grafts: materials and biological issues / H. Alghamdi, J. Jansen editors. Woodhead Publishing, 2020. P. 125–157. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102478-2.00006-4>.
19. Stoop R. Smart biomaterials for tissue engineering of cartilage // Injury. 2008. Vol. 39. № 1. P. 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2008.01.036>.

20. Renth A. N., Detamore M. S. Leveraging «raw materials» as building blocks and bioactive signals in regenerative medicine // *Tissue Engineering. Part B: Reviews*. 2012. Vol. 18. № 5. P. 341–362. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2012.0080>.
21. Dziki J. L., Badyal S. F. Acellular biologic scaffolds in regenerative medicine: unacceptable variability with acceptable results // *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019. Vol. 5. № 4. P. 414–419. <https://doi.org/10.1007/s40883-019-00106-5>.
22. Gilmore B., Jackson K. L., Migaly J. New innovations in anal fistula surgery // *Seminars in Colon and Rectal Surgery*. 2019. Vol. 30. № 4. <https://doi.org/10.1016/j.scrs.2019.100707>.
23. Biomaterials for stem cell engineering and biomanufacturing / Y. Xu [et al.] // *Bioactive Materials*. 2019. Vol. 4. P. 366–379. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.11.002>.
24. Role of biomaterials and controlled architecture on tendon/ligament repair and regeneration / Y. No [et al.] // *Advanced Materials*. 2019. Vol. 32. № 18. <https://doi.org/10.1002/adma.201904511>.
25. Quaternized chitosan-Matrigel-polyacrylamide hydrogels as wound dressing for wound repair and regeneration / H. Xue [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. 2019. Vol. 226. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115302>.
26. Thermoresponsive hydrogels based on renewable resources / E. I. Koca [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science*. 2019. Vol. 137. № 28. <https://doi.org/10.1002/app.48861>.
27. Recent strategies in fabrication of gradient hydrogels for tissue engineering applications / H. Jo [et al.] // *Macromolecular Bioscience*. 2020. Vol. 20. № 3. <https://doi.org/10.1002/mabi.201900300>.
28. Bioinspired multifunctional biomaterials with hierarchical microstructure for wound dressing / J. Xue [et al.] // *Acta Biomaterialia*. 2019. Vol. 100. P. 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.10.012>.
29. Ghosh A., Grosvenor A. J., Dyer J. M. Marine Spongia collagens: Protein characterization and evaluation of hydrogel films // *Journal of Applied Polymer Science*. 2019. Vol. 136. № 39. <https://doi.org/10.1002/app.47996>.
30. Li Y.-C. E. Sustainable biomass materials for biomedical applications // *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2019. Vol. 5. № 5. P. 2079–2092. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b01634>.
31. Additive manufactured porous biomaterials targeting orthopedic implants: A suitable combination of mechanical, physical and topological properties / F. Bartolomeu [et al.] // *Materials Science and Engineering C*. 2020. Vol. 107. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110342>.
32. Applications of chitin and chitosan nanofibers in bone regenerative engineering / F. Tao [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 230. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115658>.
33. Hassanein N., Bougherara H., Amleh A. In- vitro evaluation of the bioactivity and the biocompatibility of a novel coated UHMWPE biomaterial for biomedical applications // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2020. Vol. 101. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103409>.
34. Dong R., Ma P. X., Guo B. Conductive biomaterials for muscle tissue engineering // *Biomaterials*. 2020. Vol. 229. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119584>.
35. Nanotechnology-based biomaterials for orthopaedic applications: Recent advances and future prospects / S. Kumar [et al.] // *Materials Science and Engineering C*. 2020. Vol. 106. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110154>.
36. Chen Q., Liang S., Thouas G. A. Elastomeric biomaterials for tissue engineering // *Progress in Polymer Science*. 2013. Vol. 38. № 3–4. P. 584–671. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003>.
37. Glowacki J., Mizuno S. Collagen scaffolds for tissue engineering // *Biopolymers*. 2008. Vol. 89. № 5. P. 338–344. <https://doi.org/10.1002/bip.20871>.
38. Collagen tissue engineering. Development of novel biomaterials and applications / L. Cen [et al.] // *Pediatric Research*. 2008. Vol. 63. № 5. P. 492–496. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e31816c5bc3>.
39. Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: A review / A. A. Chaudhari [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17. № 12. <https://doi.org/10.3390/ijms17121974>.
40. Strauss K., Chmielewski J. Advances in the design and higher-order assembly of collagen mimetic peptides for regenerative medicine // *Current Opinion in Biotechnology*. 2017. Vol. 46. P. 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.10.013>.
41. Tonndorf R., Aibibu D., Cherif C. Collagen multifilament spinning // *Materials Science and Engineering C*. 2020. Vol. 106. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110105>.
42. A BMSCs-laden quercetin/duck's feet collagen/hydroxyapatite sponge for enhanced bone regeneration / J. E. Song [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research – Part A*. 2020. Vol. 108. № 3. P. 784–794. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36857>.
43. Production and characterization of recombinant collagen-binding resilin nanocomposite for regenerative medicine applications / P. E. Mikael [et al.] // *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019. Vol. 5. № 4. P. 362–372. <https://doi.org/10.1007/s40883-019-00092-8>.
44. Tensile properties of three selected collagen membranes / P. Raz [et al.] // *Biomed Research International*. 2019. Vol. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/5163603>.

45. Biomaterials and scaffold design: Key to tissue-engineering cartilage / J. Raghunath [et al.] // Biotechnology and Applied Biochemistry. 2007. Vol. 46. № 2. P. 73–84. <https://doi.org/10.1042/BA20060134>.
46. A green fabrication approach of gelatin/CM-chitosan hybrid hydrogel for wound healing / C. Yang [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2010. Vol. 82. № 4. P. 1297–1305. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.013>.
47. Short peptide analogs as alternatives to collagen in pro-regenerative corneal implants / J. R. Jangamreddy [et al.] // Acta Biomaterialia. 2018. Vol. 69. P. 120–130. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.01.011>.
48. Composite hydrogels based on gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol to biomedical applications: a review / R. Rodríguez-Rodríguez [et al.] // International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. 2020. Vol. 69. № 1. P. 1–20. <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1581780>.
49. Evaluation of biomimetic hyaluronic-based hydrogels with enhanced endogenous cell recruitment and cartilage matrix formation / M. L. Vainieri [et al.] // Acta Biomaterialia. 2020. Vol. 101. P. 293–303. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.11.015>.
50. Zhu Y., Zhang F., Linhardt R. J. Heparin contamination and issues related to raw materials and controls // The science and regulations of naturally derived complex drugs / R. Sasisekharan [et al.]. Cham: Springer, 2019. P. 191–206. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11751-1_11.
51. Extraction and characterization of highly purified collagen from bovine pericardium for potential bioengineering applications / M. H. Santos [et al.] // Materials Science and Engineering C. 2013. Vol. 33. № 2. P. 790–800. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.11.003>.
52. Interaction of various pectin formulations with porcine colonic tissues / L. Liu [et al.] // Biomaterials. 2005. Vol. 26. № 29. P. 5907–5916. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.03.005>.
53. Augmenting endogenous repair of soft tissues with nanofibre scaffolds / M. Baldwin [et al.] // Journal of the Royal Society Interface. 2018. Vol. 15. № 141. <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0019>.
54. Interfacial tissue engineering of heart regenerative medicine based on soft cell-porous scaffolds / X. Geng [et al.] // Journal of Thoracic Disease. 2018. Vol. 10. № 20. P. S2333–S2345. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.01.117>.
55. Porous chitosan adhesives with L-DOPA for enhanced photochemical tissue bonding / H. Ruprai [et al.] // Acta Biomaterialia. 2020. Vol. 101. P. 314–326. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.10.046>.
56. Анализ российского и международного рынка биомедицины: технологические и рыночные тренды. URL: https://healthnet.academpark.com/images/bio_medicine.pdf (дата обращения: 15.12.2019).
57. Володин С. Н., Кириллов Б. А. Российский рынок биомедицинских технологий: преимущества, сложности и возможности участия инвесторов // Валютное регулирование. Валютный контроль. 2017. № 11. С. 50–58.
58. Материалы международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». М.: РЭД ГРУПП, 2019. 640 с.
59. Translational research symposium-collaborative efforts as driving forces of healthcare innovation / J. Q. Coentro [et al.] // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2019. Vol. 30. № 12. <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6339-2>.

References

1. Lisitsyn AB, Neburchilova NF, Petrunina IV. Complex use of raw material in the meat sector of the agro-industrial complex. Food Industry. 2016;(5):58–62. (In Russ.).
2. Sivashanmugam A, Kumar RA, Priya MV, Nair SV, Jayakumar R. An overview of injectable polymeric hydrogels for tissue engineering. European Polymer Journal. 2015;72:543–565. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.05.014>.
3. Biomaterials market size, share & trends analysis report by product (natural, metallic, ceramics, polymers), by application (cardiovascular, orthopedics, plastic surgery), and segment forecasts, 2020–2027. Grand View Research; 2010. 190 p.
4. Sevastianov VI. Technologies of tissue engineering and regenerative medicine. Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs. 2014;16(3):93–108. (In Russ.). <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2014-3-93-108>.
5. Liu J, Li B, Jing H, Wu Y, Kong D, Leng X, et al. Swim bladder as a novel biomaterial for cardiovascular materials with anti-calcification properties. Advanced Healthcare Materials. 2020;9(2). <https://doi.org/10.1002/adhm.201901154>.
6. Nichay NR, Zhuravleva IY, Kulyabin YuY, Zubritskiy AV, Voitov AV, Soynov IA, et al. Diepoxy-versus glutaraldehyde-treated xenografts: outcomes of right ventricular outflow tract reconstruction in children. World Journal for Pediatric and Congenital Heart Surgery. 2020;11(1):56–64. <https://doi.org/10.1177/2150135119885900>.
7. Blatchley MR, Gerecht S. Reconstructing the vascular developmental milieu *in vitro*. Trends in Cell Biology. 2020;30(1):15–31. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2019.10.004>.
8. Dastagir K, Dastagir N, Limbourg A, Reimers K, Strauss S, Vogt PM. *In vitro* construction of artificial blood vessels using spider silk as a supporting matrix. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2020;101. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103436>.

9. Ke X, Li M, Wang X, Liang J, Wang X, Wu S, et al. An injectable chitosan/dextran/ β -glycerophosphate hydrogel as cell delivery carrier for therapy of myocardial infarction. *Carbohydrate Polymers*. 2020;229. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115516>.
10. Maroni A, Melocchi A, Zema L, Foppoli A, Gazzaniga A. Retentive drug delivery systems based on shape memory materials. *Journal of Applied Polymer Science*. 2020;137(25). <https://doi.org/10.1002/app.48798>.
11. Blum C, Schlegelmilch K, Schilling T, Shridhar A, Rudert M, Jakob F, et al. Extracellular matrix-modified fiber scaffolds as a proadipogenic mesenchymal stromal cell delivery platform. *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2019;5(12):6655–6666. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.9b00894>.
12. Motiei M, Munster L. Stabilization of chitosan-based polyelectrolyte nanoparticle cargo delivery biomaterials by a multiple ionic cross-linking strategy. *Carbohydrate Polymers*. 2020;231. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115709>.
13. Reis RL, Neves NM. Challenges and opportunities of natural biomaterials for advanced devices and therapies. In: Neves NM, Reis RL, editors. *Biomaterials from nature for advanced devices and therapies*. Wiley Blackwell; 2016. pp. 629–633 <https://doi.org/10.1002/9781119126218.ch33>.
14. Lalzawmliana V, Anand A, Roy M, Kundu B, Nandi SK. Mesoporous bioactive glasses for bone healing and biomolecules delivery. *Materials Science and Engineering C*. 2020;106. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110180>.
15. Skrobot J, Zair L, Ostrowski M, El Fray M. New injectable elastomeric biomaterials for hernia repair and their biocompatibility. *Biomaterials*. 2016;75:182–192. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.10.037>.
16. Pramudya I, Chung H. Recent progress of glycopolymer synthesis for biomedical applications. *Biomaterials Science*. 2019;7(12):4848–4872. <https://doi.org/10.1039/c9bm01385g>.
17. Frazar EM, Shah RA, Dziubla TD, Hilt JZ. Multifunctional temperature-responsive polymers as advanced biomaterials and beyond. *Journal of Applied Polymer Science*. 2020;137(25). <https://doi.org/10.1002/app.48770>.
18. Diez-Escudero A, Espanol M, Ginebra MP. Synthetic bone graft substitutes: Calcium-based biomaterials. In: Alghamdi H, Jansen J, editors. *Dental implants and bone grafts: materials and biological issues*. Woodhead Publishing; 2020. pp. 125–157. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102478-2.00006-4>.
19. Stoop R. Smart biomaterials for tissue engineering of cartilage. *Injury*. 2008;39(1):77–87. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2008.01.036>.
20. Renth AN, Detamore MS. Leveraging “raw materials” as building blocks and bioactive signals in regenerative medicine. *Tissue Engineering. Part B: Reviews*. 2012;18(5):341–362. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2012.0080>.
21. Dziki JL, Badylak SF. Acellular biologic scaffolds in regenerative medicine: unacceptable variability with acceptable results. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019;5(4):414–419. <https://doi.org/10.1007/s40883-019-00106-5>.
22. Gilmore B, Jackson KL, Migaly J. New innovations in anal fistula surgery. *Seminars in Colon and Rectal Surgery*. 2019;30(4). <https://doi.org/10.1016/j.scrs.2019.100707>.
23. Xu Y, Chen C, Hellwarth PB, Bao X. Biomaterials for stem cell engineering and biomanufacturing. *Bioactive Materials*. 2019;4:366–379. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.11.002>.
24. No YJ, Castilho M, Ramaswamy Y, Zreiqat H. Role of biomaterials and controlled architecture on tendon/ligament repair and regeneration. *Advanced Materials*. 2019;32(18). <https://doi.org/10.1002/adma.201904511>.
25. Xue H, Hu L, Xiong Y, Zhu X, Wei C, Cao F, et al. Quaternized chitosan-Matrigel-polyacrylamide hydrogels as wound dressing for wound repair and regeneration. *Carbohydrate Polymers*. 2019;226. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115302>.
26. Koca EI, Bozdag G, Cayli G, Kazan D, Hatir PC. Thermoresponsive hydrogels based on renewable resources. *Journal of Applied Polymer Science*. 2019;137(28). <https://doi.org/10.1002/app.48861>.
27. Jo H, Yoon M, Gajendiran M, Kim K. Recent strategies in fabrication of gradient hydrogels for tissue engineering applications. *Macromolecular Bioscience*. 2020;20(3). <https://doi.org/10.1002/mabi.201900300>.
28. Xue J, Wang X, Wang E, Li T, Chang J, Wu C. Bioinspired multifunctional biomaterials with hierarchical microstructure for wound dressing. *Acta Biomaterialia*. 2019;100:270–279. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.10.012>.
29. Ghosh A, Grosvenor AJ, Dyer JM. Marine Spongia collagens: Protein characterization and evaluation of hydrogel films. *Journal of Applied Polymer Science*. 2019;136(39). <https://doi.org/10.1002/app.47996>.
30. Li Y-CE. Sustainable biomass materials for biomedical applications. *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2019;5(5):2079–2092. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.8b01634>.
31. Bartolomeu F, Dourado N, Pereira F, Alves N, Miranda G, Silva FS. Additive manufactured porous biomaterials targeting orthopedic implants: A suitable combination of mechanical, physical and topological properties. *Materials Science and Engineering C*. 2020;107. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110342>.
32. Tao F, Cheng Y, Shi X, Zheng H, Du Y, Xiang W, et al. Applications of chitin and chitosan nanofibers in bone regenerative engineering. *Carbohydrate Polymers*. 2020;230. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115658>.
33. Hassanein N, Bougherara H, Amleh A. In- vitro evaluation of the bioactivity and the biocompatibility of a novel coated UHMWPE biomaterial for biomedical applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2020;101. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103409>.

34. Dong R, Ma PX, Guo B. Conductive biomaterials for muscle tissue engineering. *Biomaterials*. 2020;229. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119584>.
35. Kumar S, Nehra M, Kedia D, Dilbaghi N, Tankeshwar K, Kim K-H. Nanotechnology-based biomaterials for orthopaedic applications: Recent advances and future prospects. *Materials Science and Engineering C*. 2020;106. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110154>.
36. Chen Q, Lianga S, Thouas GA. Elastomeric biomaterials for tissue engineering. *Progress in Polymer Science*. 2013;38(3–4):584–671. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003>.
37. Glowacki J, Mizuno S. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers*. 2008;89(5):338–344. <https://doi.org/10.1002/bip.20871>.
38. Cen L, Liu W, Cui L, Zhang W, Cao Y. Collagen tissue engineering. Development of novel biomaterials and applications. *Pediatric Research*. 2008;63(5):492–496. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e31816c5bc3>.
39. Chaudhari AA, Vig K, Baganizi DR, Sahu R, Dixit S, Dennis V, et al. Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(12). <https://doi.org/10.3390/ijms17121974>.
40. Strauss K, Chmielewski J. Advances in the design and higher-order assembly of collagen mimetic peptides for regenerative medicine. *Current Opinion in Biotechnology*. 2017;46:34–41. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.10.013>.
41. Tonndorf R, Aibibu D, Cherif C. Collagen multifilament spinning. *Materials Science and Engineering C*. 2020;106. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110105>.
42. Song JE, Tian J, Kook YJ, Thangavelu M, Choi JH, Khang G. A BMSCs-laden quercetin/duck's feet collagen/hydroxyapatite sponge for enhanced bone regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research – Part A*. 2020;108(3):784–794. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36857>.
43. Mikael PE, Udangawa R, Sorci M, Cress B, Shtein Z, Belfort G, et al. Production and characterization of recombinant collagen-binding resilin nanocomposite for regenerative medicine applications. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019;5(4):362–372. <https://doi.org/10.1007/s40883-019-00092-8>.
44. Raz P, Brosh T, Ronen G, Tal H. Tensile properties of three selected collagen membranes. *Biomed Research International*. 2019;2019. <https://doi.org/10.1155/2019/5163603>.
45. Raghunath J, Rollo J, Sales KM, Butler PE, Seifalian AM. Biomaterials and scaffold design: Key to tissue-engineering cartilage. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2007;46(2):73–84. <https://doi.org/10.1042/BA20060134>.
46. Yang C, Xu L, Zhou Y, Zhang X, Huang X, Wang M, et al. A green fabrication approach of gelatin/CM-chitosan hybrid hydrogel for wound healing. *Carbohydrate Polymers*. 2010;82(4):1297–1305. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.013>.
47. Jangamreddy JR, Haagdorens MKC, Mirazul Islam M, Lewis P, Samanta A, Fagerholm P, et al. Short peptide analogs as alternatives to collagen in pro-regenerative corneal implants. *Acta Biomaterialia*. 2018;69:120–130. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.01.011>.
48. Rodriguez-Rodriguez R, Espinosa-Andrews H, Velasquillo-Martinez C, Garcia-Carvajal ZY. Composite hydrogels based on gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol to biomedical applications: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2020;69(1):1–20. <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1581780>.
49. Vainieri ML, Lolli A, Kops N, D'Atri D, Eglin D, Yayon A, et al. Evaluation of biomimetic hyaluronic-based hydrogels with enhanced endogenous cell recruitment and cartilage matrix formation. *Acta Biomaterialia*. 2020;101:293–303. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.11.015>.
50. Zhu Y, Zhang F, Linhardt RJ. Heparin contamination and issues related to raw materials and controls. In: Sasisekharan R, Lee SL, Rosenberg A, Walker LA, editors. *The science and regulations of naturally derived complex drugs*. Cham: Springer; 2019. pp. 191–206. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11751-1_11.
51. Santos MH, Silva RM, Dumont VC, Neves JS, Mansur HS, Heneine LGD. Extraction and characterization of highly purified collagen from bovine pericardium for potential bioengineering applications. *Materials Science and Engineering C*. 2013;33(2):790–800. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.11.003>.
52. Liu L, Fishman ML, Hicks KB, Kende M. Interaction of various pectin formulations with porcine colonic tissues. *Biomaterials*. 2005;26(29):5907–5916. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.03.005>.
53. Baldwin M, Snelling S, Dakin S, Carr A. Augmenting endogenous repair of soft tissues with nanofibre scaffolds. *Journal of the Royal Society Interface*. 2018;15(141). <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0019>.
54. Geng X, Liu B, Liu J, Liu D, Lu Y, Sun X, et al. Interfacial tissue engineering of heart regenerative medicine based on soft cell-porous scaffolds. *Journal of Thoracic Disease*. 2018;10(20):S2333–S2345. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.01.117>.
55. Ruprai H, Shanu A, Mawad D, Hook JM, Kilian K, George L, et al. Porous chitosan adhesives with L-DOPA for enhanced photochemical tissue bonding. *Acta Biomaterialia*. 2020;101:314–326. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.10.046>.
56. Analiz rossiysskogo i mezhdunarodnogo rynka biomeditsiny: tekhnologicheskije i rynochnye trendy [Analysis of the Russian and international biomedicine markets: technological and market trends] [Internet]. [cited 2019 Dec 15]. Available from: https://healthnet.academpark.com/images/bio_medicine.pdf.

57. Volodin SN, Kirillov BA. Russian market of biomedical technologies: advantages, complications and investing opportunities. *Valyutnoe regulirovanie. Valyutnyy kontrol'* [Currency regulation. Foreign exchange control]. 2017;(11):50–58. (In Russ.).

58. The proceedings of International congress “Biotechnology: state of the art and perspectives”. Moscow; RED GROUP; 2019. p. 604. (In Russ.).

59. Coentro JQ, De Pieri A, Gaspar D, Tsiapalis D, Zeugolis DI, Bayon Y. Translational research symposium-collaborative efforts as driving forces of healthcare innovation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2019;30(12). <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6339-2>.

Оценка влияния вязкости жидких пищевых продуктов на нагрузочные характеристики одновинтовых насосов

В. А. Наумов 



Калининградский государственный технический университет , Калининград, Россия

Дата поступления в редакцию: 21.01.2021

Дата принятия в печать: 23.02.2021



*e-mail: vladimir.naumov@klgtu.ru

© В. А. Наумов, 2021

Аннотация.

Введение. Важную роль в совершенствовании современных технологических линий играют гидравлические расчеты их проточных частей. Нередко такие расчеты выполняются без учета характеристик насосных установок. Одновинтовые насосы (ОВН) являются одним из типов гидравлических машин, применяемых для перекачивания высоковязких жидкостей в современных пищевых производствах. Цель работы – разработка инженерного метода оценки влияния вязкости неньютоновских жидкостей на нагрузочные характеристики ОВН, применяемые в пищевых технологиях.

Объекты и методы исследования. Одновинтовые насосы, снабженные бункером со шнеком и предназначенные для перекачивания высоковязких жидкостей. В качестве исходных данных использовались находящиеся в открытом доступе результаты испытаний ОВН серии Atlas W и результаты исследования реологических свойств кондитерских жележных масс. Были применены ранее разработанные автором методы расчета нагрузочных характеристик ОВН и учета влияния на них вязкости перекачиваемой жидкости. Зависимость вязкости от частоты вращения ротора определялась по формуле Бингама.

Результаты и их обсуждение. Анализ результатов испытаний ОВН серии Atlas W подтвердил необходимость учитывать в расчетах минимальную частоту вращения ротора, при которой начинается перекачивание жидкости. Для данной серии указанная частота прямо пропорциональна перепаду давления. Построен примерный вид нагрузочных характеристик ОВН при перекачивании жележных масс. Производительность ОВН при перекачивании особо вязких пищевых продуктов заметно меньше, а затраченная мощность существенно больше, чем при перекачивании воды. Снижение температуры и возрастание содержания пектина в кондитерских жележных массах приводит к снижению подачи и росту затраченной мощности ОВН.

Выводы. Разработан метод, позволяющий оценить нагрузочные характеристики ОВН (зависимости подачи, мощности и КПД от перепада давления) при перекачивании в пищевой технологии высоковязких жидкостей. Метод может быть использован при проектировании технологических трубопроводов.

Ключевые слова. Одновинтовые насосы, жидкие пищевые продукты, жележные массы, нагрузочные характеристики

Финансирование. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ)  и Правительства Калининградской области в рамках научного проекта № 19-48-390004.

Для цитирования: Наумов В. А. Оценка влияния вязкости жидких пищевых продуктов на нагрузочные характеристики одновинтовых насосов // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 290–300. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-290-300>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Effect of Liquid Food Viscosity on the Load Characteristics of Single-Screw Pumps

Vladimir A. Naumov 

Kaliningrad State Technical University , Kaliningrad, Russia

Received: January 21, 2021

Accepted: February 23, 2021



*e-mail: vladimir.naumov@klgtu.ru

© V.A. Naumov, 2021

Abstract.

Introduction. Hydraulic calculations of flow parts play an important role in the improvement of modern technological lines. Such calculations do not include the characteristics of pumping units. Single-screw pumps (SSP) pump high-viscosity liquids in modern food production. The research objective was to develop a new engineering method for assessing the effect of the viscosity of non-Newtonian fluids on the load characteristics of SSP in food production.

Study objects and methods. The research featured SSP with a hopper and an auger, designed for pumping high-viscosity liquids. The initial data were taken from officially published test results of Atlas W SSP and the study of the rheological properties of confectionery jelly masses. The research involved authentic methods for calculating the load characteristics of SSP based on the effect of the viscosity of pumped liquid. According to the first approximation, the change in the dimensionless load characteristics was similar in different SSP with an increase in the viscosity of the pumped liquid. The dependence of the viscosity on the rotation speed was determined by the Bingham formula.

Results and discussion. The test results of the Atlas W SSP confirmed the need to take into account the minimum rotation speed at which liquid pumping begins in the calculations. The specified frequency was directly proportional to the differential pressure for this series. The study revealed approximate load characteristics of the SSP during jelly pumping. While pumping viscous foods, SSP demonstrated poorer performance and bigger power consumption than during pumping water. The supply decreased and the power increased as the temperature went down and the pectin content in confectionery jelly masses rose.

Conclusion. The dependences of the flow rate and power consumed on the rotation speed published by the manufacturers of SSP were obtained during tests on water. The present research resulted in a new method to assess the load characteristics of the SSP when pumping high-viscosity liquids in food production. The obtained regression dependences need further refinement and experimental verification. The method can be used to design new technological pipelines.

Keywords. Single-screw pumps, liquid food products, jelly masses, load characteristics

Funding. The research was partially supported by the Russian Foundation for Basic Research and (RFBR)^{ROR} and the Government of the Kaliningrad Region (project No. 19-48-390004).

For citation: Naumov VA. Effect of Liquid Food Viscosity on the Load Characteristics of Single-Screw Pumps. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):290–300. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-290-300>.

Введение

Пищевые технологии нередко связаны с перекачиванием жидких субстанций как в виде составляющих компонентов, так и готового продукта. Опубликовано большое количество результатов исследований по повышению эффективности и снижению энергоемкости таких технологий [1–4]. Важную роль в совершенствовании современных технологических линий играют гидравлические расчеты их проточных частей. Однако зачастую такие расчеты выполняются без учета характеристик насосных установок. Например, в исследовании G. N. Stoforos и J. Simunovic с помощью методов вычислительной гидродинамики выполнено сравнение двух схем движения картофельного пюре [5]. В первом случае для охлаждения вязкого продукта использовался обычный трубчатый теплообменник, а во втором продукт протекал внутри внутренней трубы и кольцевого пространства теплообменника «труба в трубе». Течение считалось стационарным и ламинарным. Математическая модель представляла собой систему уравнений Навье-Стокса для неизотермического течения, в котором напряжение (Па) определялось формулой: $\sigma = K \cdot \omega^m$, где ω – скорость сдвига, с^{-1} . Эмпирический коэффициент K и показатель степени m были определены экспериментально для температуры от 25 до 95 °С.

G. N. Stoforos и J. Simunovic утверждают, что энергетическая эффективность установки с

теплообменником «труба в трубе» может быть выше на 25 % [5]. Отмечено, что картофельное пюре подается в теплообменник непрерывно, но во внимание не принимается изменение характеристик насоса, обеспечивающего эту подачу, при увеличении гидравлического сопротивления трубопровода.

В работе I. M. Ardana и др. выполнено теоретическое исследование трубчатого теплообменника, широко используемого на малых предприятиях пищевой промышленности Индонезии [6]. Была рассмотрена конструкция трубчатого теплообменника традиционной дровяной печи для варки соевых бобов. Для математического описания стационарного турбулентного течения и теплообмена в трубопроводе была применена система осредненных уравнений Навье-Стокса (уравнения Рейнольдса), дополненная двумя уравнениями переноса: пульсационной энергии и скорости диссипации этой энергии. Трехмерная краевая задача решалась методами вычислительной гидродинамики. С помощью такой сложной математической модели было изучено влияние диаметра трубопровода (0,5, 1 и 1,5 дюйма) и скорости на входе (1,6, 3,6 и 5,6 м/с) на энергетическую эффективность системы. При этом не было учтено, что уменьшение диаметра трубопровода и увеличение скорости приведет к росту гидравлического сопротивления. В результате повысятся требования к напору и мощности насоса.

Оптимизационная задача, связанная с гидравлическим расчетом в пищевой технологии, рассмотрена в [7]. В работе предложены расчетные соотношения для определения оптимального диаметра технологического трубопровода из условия минимизации суммарных годовых затрат на его создание и эксплуатацию с учетом текущих цен и тарифов на материалы и электроэнергию, трассировки трубопровода, условий его работы, а также свойств транспортируемой жидкости. Расход жидкости с большой вязкостью считается заданным. Увеличение диаметра трубопровода d , с одной стороны, приводит к росту затрат на его создание из-за повышения материалоемкости. С другой стороны, чем больше значение d , тем меньше гидравлические потери давления в трубопроводе. Указанные потери рассчитываются в рамках традиционного инженерного подхода с помощью уравнения Бернулли [7]. На примере гидравлической установки для перекачивания патоки в кондитерском производстве проведен расчет по оценке влияния диаметра трубопровода и массового расхода жидкости на технико-экономические показатели транспортной системы и определены ее оптимальные параметры. Однако не учитывается, что изменение гидравлических потерь в трубопроводе приводит к смещению рабочей точки насосной установки. При этом коэффициент полезного действия насоса (КПД) считается постоянным. Это может привести к заметной погрешности определения технико-экономических показателей.

Многие жидкие пищевые продукты имеют большую вязкость. Винтовые насосы являются одним из типов гидравлических машин, применяемых для перекачивания высоковязких жидкостей в современных технологических линиях. Это связано с их конструктивными и эксплуатационными преимуществами, по сравнению с другими типами насосов: равномерная подача жидкости; самовсасывание; способность работать при наличии в перекачиваемой жидкости твердых примесей; низкий уровень шума и минимальная вибрация из-за хорошей балансировки механизма; простота обслуживания и ремонта; минимальный износ оборудования. Развиваемое давление зависит от подачи в меньшей степени, чем у центробежных насосов. Однако рекомендация отдельных производителей считать производительность винтового насоса не зависящей от давления может привести к заметной погрешности. Винтовые насосы для пищевой промышленности конструируют из специальных материалов с деталями, приспособленными для очистки и промывки рабочих поверхностей.

В настоящее время одновинтовые насосы (ОВН) широко применяются не только в пищевой, но и в нефтехимической, нефтеперерабатывающей и других отраслях промышленности. Перекачиваемая

среда может содержать волокнистые, твердые и даже абразивные включения. Опубликованы результаты исследований различных аспектов повышения эффективности винтовых насосов [8–15]. Для обоснованного выбора параметров ОВН в заданных условиях работы необходимы нагрузочные характеристики. Построение и исследование влияния на них различных факторов является актуальной проблемой. Важными факторами, влияющими на нагрузочные характеристики ОВН, являются конструктивные особенности (число заходов ротора, контурный диаметр, длина рабочих органов и натяг, расположение ротора и др.) и свойства перекачиваемой жидкости (плотность, вязкость, газосодержание) [8–13, 15].

Реология многих жидких пищевых продуктов не описывается моделью Ньютона. Опубликованы результаты исследований таких течений, в том числе с помощью решения уравнений Навье-Стокса, в шнековых устройствах. В работе С. Yu и S. Gunasekaran проведено численное моделирование поля течения и теплопередачи внутри одношнекового канала экструдера для сырной массы [16]. Модификации традиционной двумерной модели геометрии одношнекового экструдера были применены для учета эффектов перетекания и кривизны канала. Для получения численных решений уравнений течения и энергии использовались конечно-разностные и конечно-элементные методы. Рассматривались изотермические и неизотермические условия для ньютоновских и неньютоновских (степенных) жидкостей. Были протестированы распределения скоростей и характерные кривые одношнековых устройств. В [16] приведено сравнение результатов расчетов по нескольким моделям с экспериментальными данными. Модель Rowell-Finayson (1928 г.) заметно (до 50 %) завывшала производительность одношнекового устройства, полученную в экспериментах (точки). В модели Nami-Pittman (1980 г.) были учтены эффекты перетекания жидкости. Результаты расчетов по этой модели лучше согласуются с опытными данными. Различия находятся в пределах погрешности экспериментов. Поэтому утверждение авторов, что им удалось с помощью своих усложненных моделей добиться отклонения 0,5 % вместо обычных 50 % не выглядит убедительным [16]. Обратим внимание, что график линейной зависимости $n-Q$ проходит через начало координат. Это означает, что был рассмотрен только частный случай с перепадом давления равным нулю. Можно сравнить с рисунком 1, где представлены графики при $\Delta P \neq 0$.

В исследовании W. Roland и J. Miethlinger также используются численные методы для решения системы уравнений Навье-Стокса [17]. Был выполнен анализ вязкой диссипации зоны транспортировки расплава в одношнековых экструдерах, которая отвечает за

Таблица 1. Технические параметры ОВН серии Atlas W [19]

Table 1. Technical parameters of Atlas W SSP [19]

Индекс ОВН Atlas W	Q_{p1}	Q_{p2}	ΔP_M	n_p	N_E	δ_1	δ_2	D
	м ³ /час	м ³ /час	кПа	об/мин	кВт	мм	мм	мм
W15-1B	1,2	0,65	450	750	1,1	10	3,0	32
W21-1B	2,5	2,33	600	750	1,5	10	3,0	40
W31-1B	6,5	5,2	600	750	3,0	18	4,5	50
W38-1B	12,5	8,0	600	520	5,5	15	3,75	65
W45-1B	20,8	15,6	600	520	7,5	36	9,0	80
W53-1B	25,0	14,8	600	370	7,5	42	10,5	100
W63-1B	41,0	32,6	600	370	11,0	52	13,0	100

осевое повышение температуры расплава. Получены решения как для одномерных, так и для двумерных неизотермических полностью развитых потоков степенной жидкости. Преобразование уравнений течения и теория подобия позволило авторам выявить три независимых параметра, влияющих на параметры течения в одношнековом устройстве: безразмерный градиент давления, реологический показатель степенной жидкости m и относительный шаг винта [17]. Было проведено комплексное численное исследование влияния этих параметров на вязкую диссипацию и расход жидкости. Для одномерных и двумерных течений были разработаны упрощенные модели расчета вязкой диссипации при заданном градиенте давления и при заданной пропускной способности устройства.

Однако в настоящее время метод оценки влияния вязкости жидких пищевых продуктов на нагрузочные характеристики ОВН отсутствует. Целью работы является разработка инженерного метода оценки влияния вязкости неньютоновских жидкостей на нагрузочные характеристики ОВН, применяемые в пищевых технологиях.

Объекты и методы исследования

Производители предлагают современные ОВН для пищевой промышленности с широким спектром параметров. Важнейшими являются производительность (подача) насоса Q (м³/час или дм³/с), дифференциальное давление (разность давлений на выходе и на входе насоса) ΔP (кПа) и затрачиваемая мощность N (кВт). Остановимся на ОВН, снабженных бункером со шнеком и предназначенных для перекачивания высоковязких жидкостей в пищевых технологических процессах.

Многие производители размещают в открытом доступе результаты испытаний ОВН в виде графических зависимостей подачи (производительности) и затраченной мощности от частоты вращения ротора при различных значениях давления [18–20]. Наиболее полные данные представлены на Интернет-ресурсе

компании Alpha Dynamic Pumps [19]. Технические параметры ОВН серии Atlas W (с бункером и шнеком) представлены в таблице 1. Q_{p1} , Q_{p2} – производительность на рабочей частоте вращения ротора n_p при дифференциальном давлении $\Delta P = 200$ кПа и наибольшем ΔP_M соответственно; N_E – номинальная мощность электродвигателя; δ_1 , δ_2 – максимально допустимый размер мягкой и твердой примеси соответственно; D – диаметр выходного патрубка.

В [19] указана наибольшая допустимая температура перекачиваемой среды – 100 °С и коэффициент динамической вязкости – до 1000 Па·с. Следует заметить, что производительность ОВН в таблице 1 относится к перекачиванию воды. В технической и рекламной документации этот факт не отражен, но отмечен в протоколах испытаний. Далее в качестве исходных данных для расчета использованы результаты испытаний ОВН Atlas W63-1B, полученные при

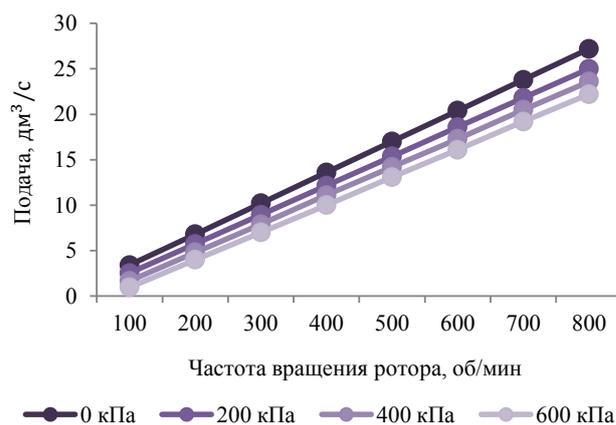


Рисунок 1. Зависимость подачи ОВН Atlas W63-1B от частоты вращения при разных перепадах давления ΔP . Точки – экспериментальные данные [19], линии – результат расчета по формуле (1)

Figure 1. Atlas W63-1B SSP: effect of rotation speed on flow rate at different pressure drops ΔP . Points – experimental data [19], lines – calculations by the formula (1)

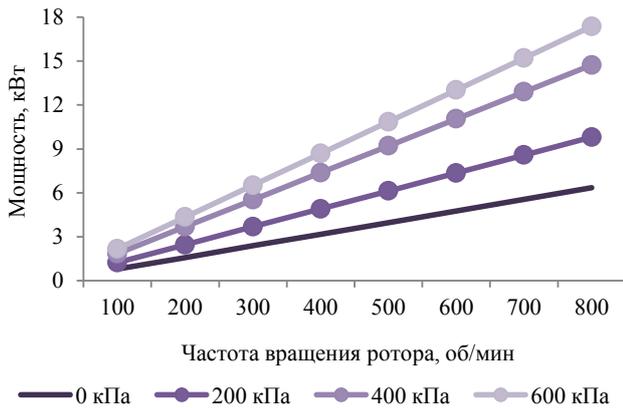


Рисунок 2. Зависимость затраченной мощности ОВН Atlas W63-1B от частоты вращения при разных перепадах давления ΔP . Точки – экспериментальные данные [19], линии – результат расчета по формуле (2)

Figure 2. Atlas W63-1B SSP: effect of rotation speed on consumed power at different pressure drops ΔP . Points – experimental data [19], lines – calculations by the formula (2)

перекачивании воды с температурой 30 °С. По рисункам 1 и 2 видно, что на испытаниях частота вращения ротора достигала 800 об/мин (13,33 с⁻¹). Для этого использовался электродвигатель повышенной мощности (более 20 кВт) вместо того, который поставляется с данным насосом в обычной комплектации (11 кВт, табл. 1).

Для первичной обработки экспериментальных данных был использован метод, предложенный в работе автора и использованный для получения нагрузочных характеристик ОВН Varisco серии SP, которые не имеют загрузочного бункера со шнеком [14].

На рисунках 1 и 2 видно, что линейные зависимости Q и N от n могут быть представлены в виде [14]:

$$Q(n, \Delta p) = V_1(\Delta p) \cdot [n - n_0(\Delta p)], \quad (1)$$

$$N(n, \Delta p) = A_1(\Delta p) \cdot n \quad (2)$$

где V_1 – объем жидкости, перекачиваемой за один оборот (при $\Delta p = 0$), дм³; A_1 – работа, затрачиваемая ОВН за один оборот, кДж; n_0 – минимальная частота вращения, с которой начинается перекачивание жидкости, с⁻¹; $\Delta p = \Delta P/P_A$ – безразмерный перепад давления, P_A – атмосферное давление.

Имеются отличия уравнений (1)-(2) от подобных формул, полученных в [14]. В работе [14] объем жидкости, перекачиваемой за один оборот, не менялся при увеличении давления ($V_1 = \text{const}$). Зависимость частоты вращения n_0 от Δp была нелинейной. Здесь все зависимости получились линейными (рис. 3):

$$n_0 = a_0 \cdot \Delta p; V_1 = a_{11} - a_{12} \cdot \Delta p; A_1 = a_{21} + a_{22} \cdot \Delta p \quad (3)$$

Эмпирические константы в формулах (3) для ОВН Atlas W63-1B равны: $a_0 = 0,188$ с⁻¹; $a_{11} = 2,022$ дм³; $a_{12} = 0,0350$ дм³; $a_{21} = 0,4755$ кДж; $a_{22} = 0,1493$ кДж.

Для определения параметров в рабочей точке насосной установки требуется зависимость подачи и мощности ОВН не от частоты вращения ротора, как на сайтах фирм производителей, а от дифференциального давления. Такие графики называют нагрузочными характеристиками насоса. Нагрузочные характеристики были построены (рис. 4 и 5) по формулам (1)-(3) для ОВН из таблицы 1 с разными значениями D (50, 65, 80 и 100 мм). Увеличение D приводит к значительному росту как производительности, так и затраченной мощности.

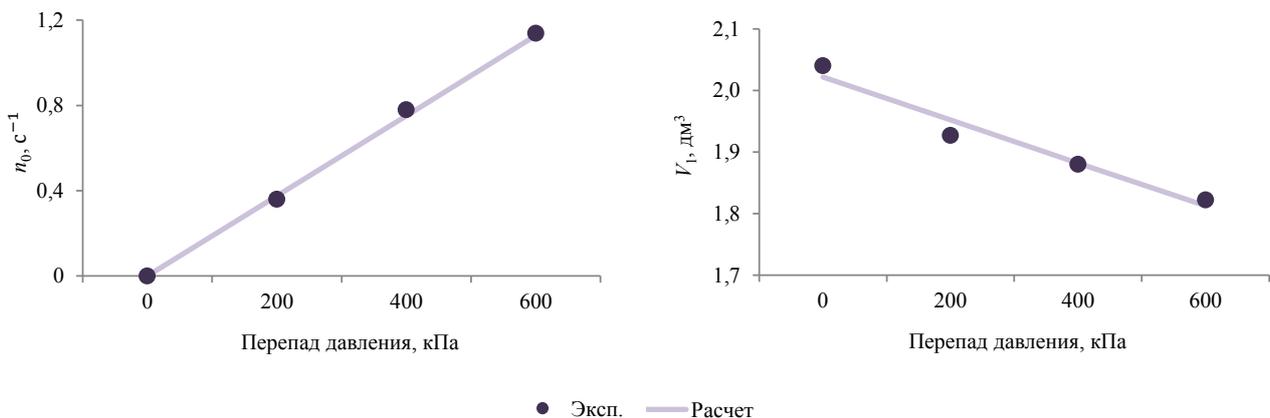


Рисунок 3. Зависимость эмпирических коэффициентов в формуле (1) от безразмерного перепада давления для ОВН Atlas W63-1B. Точки получены по экспериментальным данным [19], линии – результат расчета по формуле (3)

Figure 3. Atlas W63-1B: effect of dimensionless pressure drop on empirical coefficients in the formula (1). Points – experimental data [19], lines – calculations by the formulas (3)

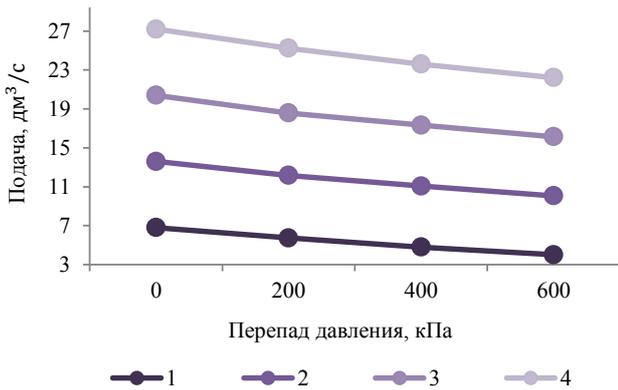


Рисунок 4. Зависимость подачи насосов Atlas W от перепада давления при частоте вращения $n = 10 \text{ с}^{-1}$: 1 – W31-1B; 2 – W38-1B; 3 – W45-1B; 4 – W53-1B. Точки – экспериментальные данные [19], линии – результат расчета по формуле (1)

Figure 4. Effect of pressure drop on flow rate at rotation speed $n = 10 \text{ s}^{-1}$: 1 – W31-1B; 2 – W38-1B; 3 – W45-1B; 4 – W53-1B. Points – experimental data [19], lines – calculations by the formula (1)

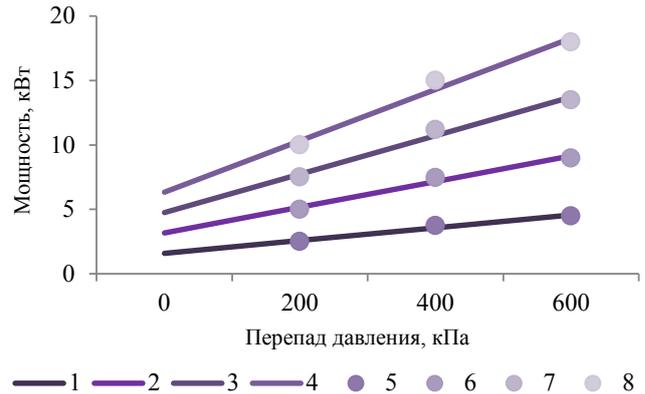


Рисунок 5. Зависимость затраченной мощности насосов Atlas W от перепада давления при частоте вращения $n = 10 \text{ с}^{-1}$: 1 и 5 – W31-1B; 2 и 6 – W38-1B; 3 и 7 – W45-1B; 4 и 8 – W53-1B. Точки – экспериментальные данные [19], линии – результат расчета по формуле (2)

Figure 5. Effect of pressure drop at rotation rate $n = 10 \text{ s}^{-1}$: 1 and 5 – W31-1B; 2 and 6 – W38-1B; 3 and 7 – W45-1B; 4 and 8 – W53-1B. Points – experimental data [19], lines – calculations by the formula (2)

В монографии Д. Ф. Балденко и др. для аппроксимации зависимостей подачи и мощности от давления используются формулы [8]:

$$Q = Q_x - b \cdot \Delta p^a, \quad (4)$$

$$N = N_x + k \cdot \Delta p^\beta \quad (5)$$

где Q_x , N_x – подача и затраченная мощность при $\Delta p = 0$ соответственно.

Подставляя последнюю из формул (3) в (2), получим выражение, аналогичное (5), в котором $N_x = a_{21} \cdot n$; $k = a_{22} \cdot n$; $\beta = 1$.

Как и в [14], показатель степени в формуле (5) равен единице. Нижняя линия на рисунке 2 это есть N_x .

Подстановка (3) в (1) дает зависимость, отличную от линейной функции:

$$Q = Q_x - (a_0 + a_{12} - a_0 \cdot a_{12} \cdot \Delta p) \cdot \Delta p, \quad Q_x = a_{11} \cdot n \quad (6)$$

Вклад последнего слагаемого в скобках формулы (6) не превышает 10 % при $\Delta p < 5$. Поэтому графики на рисунке 4 имеют вид линейных зависимостей до указанного давления. При больших перепадах давления становится заметным отклонение от линейной зависимости.

Во всех испытаниях, результаты которых используются в данной статье, были применены измерительные устройства высокого класса точности [19]. Поэтому погрешность прямых измерений невелика и не превышает 1,0 %. В масштабе рисунков 1–5 такие величины будут меньше размера экспериментальных точек. Адекватность

регрессионных зависимостей можно оценить с помощью коэффициента детерминации R^2 . На рисунках 1–4 он составляет 0,98–0,99. Несколько меньше на рисунке 5 ($R^2 = 0,95$). Что подтверждает хорошее согласие (1)-(2) с экспериментальными данными.

Все предыдущие зависимости были получены для воды. В пищевой промышленности ОВН применяют для перекачивания субстанций с вязкостью в десятки или в сотни раз большей, чем у воды. Для учета влияния вязкости перекачиваемой жидкости на нагрузочные характеристики ОВН воспользуемся результатами, полученными в статье [15]. Анализ экспериментальных данных позволил получить оценочные зависимости безразмерных величин подачи и затраченной мощности от коэффициента кинематической вязкости жидкости v :

$$\bar{Q} \equiv Q / Q_0 = \varphi_1(\bar{v}) = 1 - 0,000789 \cdot (\bar{v} - 1), \quad \bar{v} = v / v_0 \quad (7)$$

$$\bar{N} \equiv N / N_0 = \varphi_2(\bar{v}) = 1 + 0,001765 \cdot (\bar{v} - 1) \quad (8)$$

где $v_0 = 1,004 \times 10^{-6} \text{ м}^2/\text{с}$ – коэффициент кинематической вязкости воды при 20 °С; Q_0, N_0 – подача и затраченная мощность ОВН на воде при указанной температуре соответственно.

Формулы (7)-(8) были получены в широком диапазоне изменения безразмерной вязкости: $1 \leq \bar{v} \leq 534$ с $R^2 = 0,97$.

Испытания были проведены при 30 °С, что соответствует безразмерной вязкости воды 0,8 [19]. По формулам (7)-(8) изменения подачи и мощности незначительные (менее 0,1 %) по сравнению с

Таблица 2. Значения эмпирических коэффициентов в формуле (10)

Table 2. Values of empirical coefficients in the formula (10)

t	C	A	B
°C	%	–	c ⁻¹
100	1,0	172,6	118,3
100	1,5	222,5	159,7
100	2,0	311,1	163,9
90	1,5	282,6	161,2
85	1,5	385,0	308,1

водой при 20 °С. Поэтому величины Q_0 и N_0 можно рассчитывать по формулам (1)-(2).

В качестве примера воспользуемся результатами исследования реологии кондитерских жележных масс [21]. Их эффективная динамическая вязкость μ при температуре 80–100 °С описывается формулой Бингама с $R^2 = 0,99$:

$$\mu = \mu_p + \tau_0 / \omega \quad (9)$$

где τ_0 – предельное напряжение сдвига среды, Па; μ_p – коэффициент пластической (бингамовской) вязкости среды, Па·с; $\omega = 2\pi \cdot n$ – скорость деформации, с⁻¹.

В [21] величины τ_0 и μ_p экспериментально определены при различных температурах t, марке и содержании пектина C. Поделив (9) на плотность жележной массы ρ и v_0 , получим зависимость безразмерной кинематической вязкости от частоты вращения ротора, а также значений t и C:

$$\bar{v} = A(t, C) + B(t, C) / n \quad (10)$$

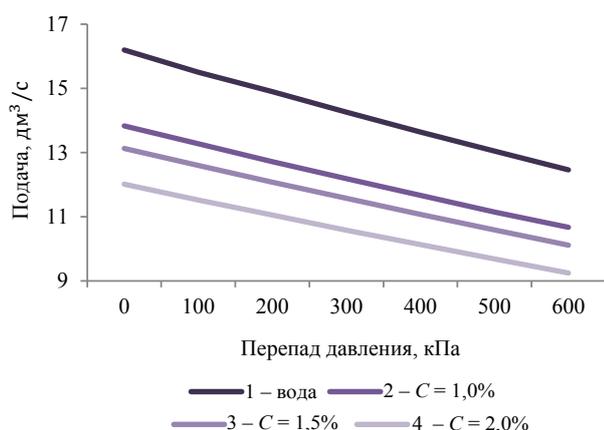


Рисунок 6. Результаты расчета подачи ОВН Atlas W63-1В при частоте вращения $n = 8 \text{ с}^{-1}$: 1 – вода при 20 °С; 2, 3, 4 – жележная масса при 100 °С

Figure 6. Calculation results of the Atlas W63-1B flow rate at a speed of $n = 8 \text{ s}^{-1}$: 1 – water at 20°C; 2, 3, 4 – jelly mass at 100°C

Согласно [21] величины A и B будут зависеть и от марки пектина. Для определенности будем считать, что используется Unipectin PG DS. Для указанной марки пектина рассчитанные значения эмпирических коэффициентов приведены в таблице 2.

Подставляя выражение (10) в формулы (7) и (8), получим оценку влияния частоты на подачу и затраченную мощность ОВН при перекачивании жележной массы с заданной температурой и содержанием пектина.

На последнем этапе предполагается, что изменение безразмерных нагрузочных характеристик разных ОВН с увеличением вязкости перекачиваемой жидкости происходит одинаковым образом. В пользу такого предположения говорят результаты опубликованных работ. Например, экспериментальное и теоретическое изучение характеристик (подача – давление) одновинтового устройства показало, что для ньютоновских и неньютоновских жидкостей (при одинаковой эффективной вязкости) они различаются незначительно и лишь при высоких давлениях [22].

Результаты и их обсуждение

Результаты расчета подачи и затраченной мощности ОВН Atlas W63-1В при перекачивании жележной массы с температурой 100 °С и разным содержанием пектина Unipectin PG DS представлены на рисунках 6–8. Для сравнения линией 1 на всех последующих рисунках показаны нагрузочные характеристики, полученные на испытаниях [19] при перекачивании воды. Построенные нагрузочные характеристики ОВН (рис. 6 и 7) необходимы при определении параметров насосной установки в рабочей точке для

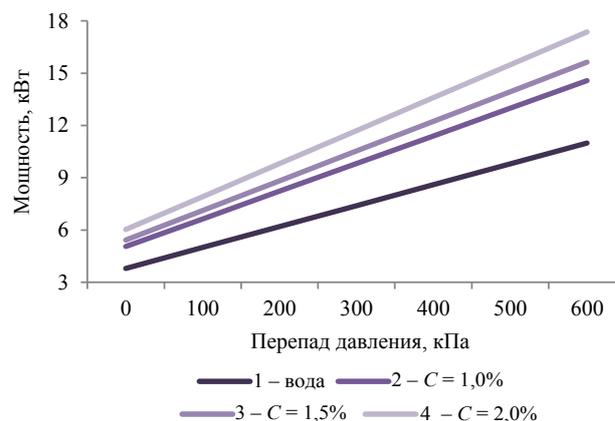


Рисунок 7. Результаты расчета затраченной мощности ОВН Atlas W63-1В при частоте вращения $n = 8 \text{ с}^{-1}$: 1 – вода при 20 °С; 2, 3, 4 – жележная масса при 100 °С

Figure 7. Consumed power for Atlas W63-1B at rotation speed of $n = 8 \text{ s}^{-1}$: 1 – water at 20°C; 2, 3, 4 – jelly mass at 100°C

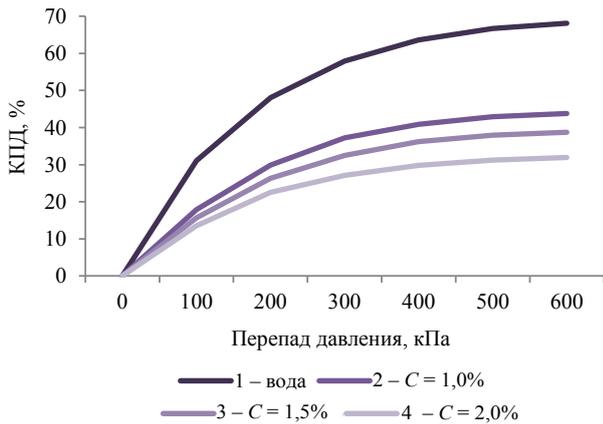


Рисунок 8. Результаты расчета КПД ОВН Atlas W63-1В при частоте вращения $n = 8 \text{ с}^{-1}$: 1 – вода при $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – желейная масса при $100 \text{ }^\circ\text{C}$

Figure 8. Performance for Atlas W63-1B at rotation speed of $n = 8 \text{ s}^{-1}$: 1 – water at $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – jelly mass at $100 \text{ }^\circ\text{C}$

перекачивания желейных масс с разным содержанием пектина. По ним видно, что производительность ОВН при перекачивании желейной массы меньше, а затраченная мощность больше, чем при перекачивании воды. Последнее изменение заметнее, чем первое. При дифференциальном давлении $\Delta P = 600 \text{ кПа}$ и частоте $n = 10 \text{ с}^{-1}$ (или 600 об/мин) подача ОВН желейной массы ($C = 2 \text{ } \%$) на 25,5 % меньше подачи воды, а затраченная мощность на 57,6 % больше.

Коэффициент полезного действия производителями ОВН в открытом доступе не всегда приводится даже

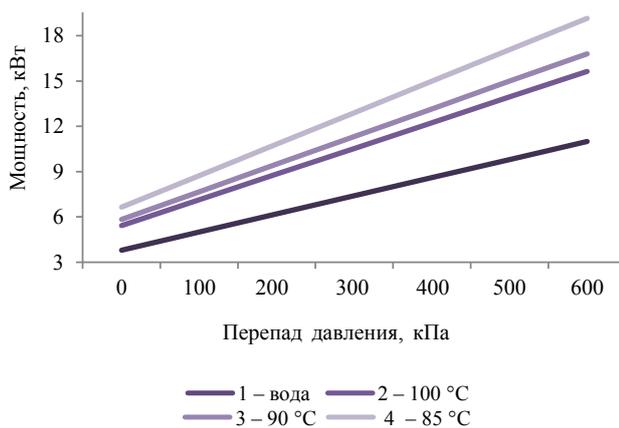


Рисунок 10. Результаты расчета затраченной мощности ОВН Atlas W63-1В при частоте вращения $n = 8 \text{ с}^{-1}$: 1 – вода при $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – желейная масса при $C = 1,5 \text{ } \%$

Figure 10. Consumed power for Atlas W63-1B at rotation speed of $n = 8 \text{ s}^{-1}$: 1 – water at $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – jelly mass at $C = 1.5 \text{ } \%$

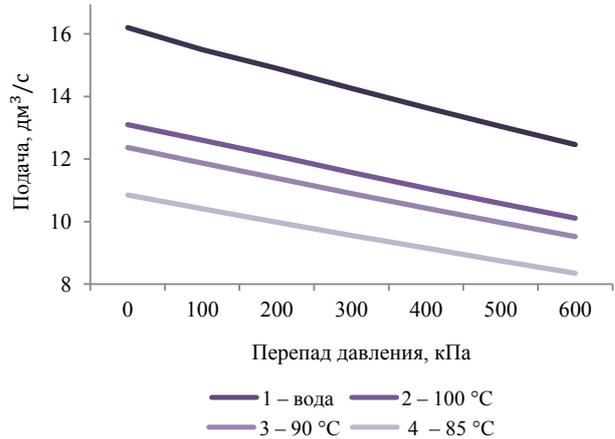


Рисунок 9. Результаты расчета подачи ОВН Atlas W63-1В при частоте вращения $n = 8 \text{ с}^{-1}$: 1 – вода при $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – желейная масса при $C = 1,5 \text{ } \%$

Figure 9. Floe rate for Atlas W63-1B at rotation speed of $n = 8 \text{ s}^{-1}$: 1 – water at $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – jelly mass at $C = 1.5 \text{ } \%$

для перекачивания воды. Он может быть рассчитан по подаче и затраченной мощности:

$$\eta = 100 \cdot \Delta p \cdot Q / N \quad (11)$$

Так как зависимости подачи и затраченной мощности от перепада давления уже получены, то можно построить КПД как функцию ΔP . На рисунке 8 видно, что КПД ОВН при перекачивании желейных масс в 2 раза ниже, чем при перекачивании воды.

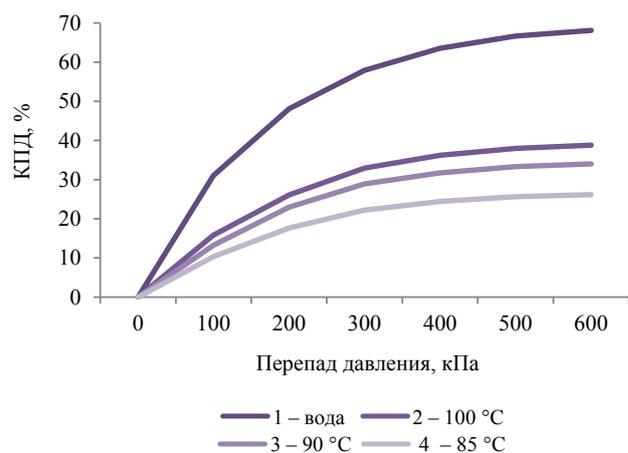


Рисунок 11. Результаты расчета КПД ОВН Atlas W63-1В при частоте вращения $n = 8 \text{ с}^{-1}$: 1 – вода при $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – желейная масса при $C = 1,5 \text{ } \%$

Figure 11. Performance for Atlas W63-1B at rotation speed of $n = 8 \text{ s}^{-1}$: 1 – water at $20 \text{ }^\circ\text{C}$; 2, 3, 4 – jelly mass at $C = 1.5 \text{ } \%$

С ростом содержания пектина возрастает вязкость. Это приводит к снижению производительности, увеличению затраченной мощности и падению КПД.

На рисунках 9 и 10 представлены нагрузочные характеристики ОВН Atlas W63-1В при перекачивании желейной массы с содержанием пектина Unipectin PG DS 1,5 % и разной температуре. Снижение температуры приводит к увеличению вязкости перекачиваемой жидкости. В результате производительность ОВН падает, а затраченная мощность возрастает. Поэтому КПД, рассчитанный по формуле (11), уменьшается (рис. 11).

На рисунках 8 и 11 видно, что при уменьшении дифференциального давления (это происходит при снижении гидравлических потерь в трубопроводе) КПД заметно падает. В гидравлических расчетах установок для перекачивания высоковязких пищевых жидкостей нельзя принимать КПД таким высоким, как дается в технической документации для воды. Например, в работе А. А. Хвостова и др. при расчете технологического трубопровода транспортировки патоки принято для значения КПД насоса $\eta = 80 \% = \text{const}$ [7]. Это может привести к неоправданному занижению расчетного энергопотребления по сравнению с реальным значением. Нельзя полагать КПД насоса не зависящим от изменения параметров трубопровода, например, диаметра [7].

Важным критерием применимости инженерного метода является сравнение результатов расчетов с экспериментальными данными. Наиболее полный набор параметров при перекачивании неньютоновской жидкости (расплавленный полиэтилен высокого давления, $\rho = 700 \text{ кг/м}^3$) одновинтовым устройством приведен в [23]: $D = 80 \text{ мм}$, $t = 235 \text{ }^\circ\text{C}$. Перепад давления в опытах менялся в диапазоне 0,5–60 МПа, подача – 1–5 кг/мин. Приведены нагрузочные характеристики ($\Delta P-Q$) при трех значениях частоты вращения ротора: $n = 0,86, 1,40$ и $1,78 \text{ с}^{-1}$. Результаты расчета по предложенному методу отличаются от экспериментальных точек [23] на 15 %. Причем ОВН серии Atlas W не предназначены для таких больших температур и перепадов давления.

Выводы

Публикуемые производителями ОВН зависимости подачи и затраченной мощности от частоты вращения ротора получены при испытаниях на воде. Разработан метод, позволяющий оценить нагрузочные характеристики ОВН (зависимости подачи, мощности и КПД от перепада давления) при перекачивании в пищевой технологии высоковязких жидкостей. Основными этапами метода расчета являются:

1. Получение аналитических зависимостей (1) и (2) производительности и мощности заданного ОВН (на воде) от частоты вращения ротора, включая расчет

методом наименьших квадратов величин V_1, A_1, n_0 для каждого значения ΔP .

2. Нахождение зависимости подачи, затраченной мощности КПД ОВН (на воде) от ΔP , для характерных значений частоты. Расчет методом наименьших квадратов эмпирических параметров в формулах (4) и (5).

3. Определение по результатам экспериментальных исследований зависимости безразмерной кинематической вязкости перекачиваемой жидкости от частоты вращения ротора в заданных условиях. Для модели Бингама это будут коэффициенты A и B в формуле (10). Возможно использование и других реологических моделей.

4. Оценка по формулам (7) и (8) снижения производительности и повышения затраченной мощности при перекачивании высоковязких пищевых продуктов по сравнению с водой. Расчет КПД по формуле (11).

Результаты расчетов по предложенному методу нагрузочных характеристик ОВН при перекачивании неньютоновских жидкостей большой вязкости (не связанных с пищевой технологией) показали удовлетворительное согласие с опубликованными экспериментальными данными. Тем не менее формулы (7) и (8) нуждаются в дальнейшем уточнении и экспериментальной проверке: влияет ли реологический тип пищевой жидкости на исследуемые характеристики ОВН. Поэтому полученные оценки следует считать первым приближением и по ним можно сделать ряд выводов.

Анализ результатов испытаний ОВН серии Atlas W подтвердил необходимость учитывать в расчетах минимальную частоту вращения ротора, при которой начинается перекачивание жидкости. Для данной серии насосов указанная частота прямо пропорциональна перепаду давления.

Производительность ОВН при перекачивании особо вязких пищевых продуктов заметно меньше, а затраченная мощность существенно больше, чем при перекачивании воды. Снижение температуры и возрастание содержания пектина в кондитерских желейных массах приводит к снижению подачи и росту затраченной мощности. Как следствие, КПД заметно уменьшается. Нельзя принимать КПД ОВН таким высоким, как дается в технической документации для воды. Необходимо учитывать, что КПД будет падать при снижении гидравлического сопротивления трубопровода.

Проверка показала, что предложенный инженерный метод расчета пригоден и для ОВН других производителей. Однако необходимо учитывать особенности конструкции. Например, у ОВН Varisco серии SP влияние ΔP на величины n_0, V_1, A_1 несколько иное, чем у ОВН серии Atlas W.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Study of the process of concentration as a factor of product quality formation / A. L. Maytakov [et al.] // *Foods and Raw Materials*. 2018. Vol. 6. № 1. P. 172–181. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-1-172-181>.
2. Modelling of a milk powder falling film evaporator for predicting process trends and comparison of energy consumption / Y. Zhang [et al.] // *Journal of Food Engineering*. 2018. Vol. 225. P. 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.01.016>.
3. Hettiarachchi C. A., Voronin G. L., Harte F. M. Spray drying of high pressure jet-processed condensed skim milk // *Journal of Food Engineering*. 2019. Vol. 261. P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.04.007>.
4. Совершенствование технологического потока линии производства инстантированного киселя / К. Б. Плотников [и др.] // *Техника и технология пищевых производств*. 2020. Т. 50. № 1. С. 96–105. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-96-105>.
5. Stoforos G. N., Simunovic J. Computer-aided design and experimental testing of continuous flow cooling of viscous foods // *Journal of Food Process Engineering*. 2018. Vol. 41. № 8. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12913>.
6. Optimized hydraulic diameter and operating condition of tube heat exchanger for food industry – A numerical study / I. M. Arsana [et al.] // *Journal of Mechanical Engineering Research and Developments*. 2020. Vol. 43. № 6. P. 329–338.
7. Оптимизация параметров технологического трубопровода по технико-экономическим показателям / А. А. Хвостов [и др.] // *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2020. Т. 82. № 1 (83). С. 34–46.
8. Балденко Д. Ф., Балденко Ф. Д., Гноевых А. Н. Одновинтовые гидравлические машины. Т. 1. Одновинтовые насосы. М.: ИРЦ Газпром, 2005. 488 с.
9. Bi H., Wu M., Zhang X. Design of parameters optimization system for crew pump well // *International Journal of Simulation: Systems, Science and Technology*. 2016. Vol. 17. № 25. P. 11–16. <https://edas.info/doi/10.5013/IJSSST.a.17.25.01>.
10. Numerical modelling of twin-screw pumps based on computational fluid dynamics / D. Yan [et al.] // *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science*. 2017. Vol. 231. № 24. P. 4617–4634. <https://doi.org/10.1177/0954406216670684>.
11. Балденко Д. Ф., Балденко Ф. Д. Пути совершенствования одновинтовых насосов для реализации современных технологий нефтегазовой промышленности // *Бурение и нефть*. 2018. № 4. С. 4–11.
12. The hydraulic performance of twin-screw pump / D. Zhang [et al.] // *Journal of Hydrodynamics*. 2020. Vol. 32. № 3. P. 605–615. <https://doi.org/10.1007/s42241-020-0938-9>.
13. Design and investigation on a novel piezoelectric screw pump / Y. Yin [et al.] // *Smart Materials and Structures*. 2020. Vol. 29. № 8. <https://doi.org/10.1088/1361-665X/ab98ec>.
14. Наумов В. А. Расчет нагрузочных характеристик типоразмерного ряда одновинтовых насосов по результатам испытаний // *Материаловедение. Энергетика*. 2020. Т. 26. № 3. С. 80–89. <https://doi.org/10.18721/JEST.26306>.
15. Великанов Н. Л., Наумов В. А., Корягин С. И. Работа одновинтовых насосов с жидкостями различной вязкости // *Технико-технологические проблемы сервиса*. 2020. Т. 54. № 4. С. 40–44.
16. Yu C., Gunasekaran S. Modeling of melt conveying in a deep-channel single-screw cheese stretcher // *Journal of Food Engineering*. 2004. Vol. 61. № 2. P. 241–251. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00096-7](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00096-7).
17. Roland W., Miethlinger J. Heuristic analysis of viscous dissipation in single-screw extrusion // *Polymer Engineering and Science*. 2018. Vol. 58. № 11. P. 2055–2070. <https://doi.org/10.1002/pen.24817>.
18. CSF Inox S.p.A. Eccentric screw. URL: <https://www.csf.it/en/products/eccentric-screw/> (date of application: 08.12.2020).
19. Atlas – Progressive cavity pump. URL: <https://www.alphadynamic.eu/products/atlas-progressive-cavity-pump/atlas-wsm/> (date of application: 20.12.2020).
20. Одновинтовые насосы Varisco. URL: https://promnasos.com/catalog/screw_pumps/varisco_vulcan/ (дата обращения: 07.07.2020).
21. Муратова Е. И., Смолихина П. М. Реология кондитерских масс. Тамбов: Тамбовский государственный технический университет, 2013. 188 с.
22. Fu T., Haworth B., Mascia L. Analysis of process parameters related to the single-screw extrusion of recycled polypropylene blends by using design of experiments // *Journal of Plastic Film and Sheeting*. 2017. Vol. 33. № 2. P. 168–190. <https://doi.org/10.1177/8756087916649006>.
23. Flow/pressure characteristics and modeling of deformation processes of single-screw extruders / A. A. Borisov [et al.] // *Polymer Engineering and Science*. 2010. Vol. 50. № 10. P. 2069–2073. <https://doi.org/10.1002/pen.21722>.

References

1. Maytakov AL, Yusupov ST, Popova AM, Kravchenko SN, Bakin IA. Study of the process of concentration as a factor of product quality formation. *Foods and Raw Materials*. 2018;6(1):172–181. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-1-172-181>.
2. Zhang Y, Munir MT, Udugama I, Yu W, Young BR. Modelling of a milk powder falling film evaporator for predicting process trends and comparison of energy consumption. *Journal of Food Engineering*. 2018;225:26–33. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.01.016>.
3. Hettiarachchi CA, Voronin GL, Harte FM. Spray drying of high pressure jet-processed condensed skim milk. *Journal of Food Engineering*. 2019;261:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.04.007>.
4. Plotnikov KB, Popov AM, Plotnikov IB, Kryuk RV, Rudnev SD. Improving the line of instant starch soft drinks. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(1):96–105. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-96-105>.
5. Stoforos GN, Simunovic J. Computer-aided design and experimental testing of continuous flow cooling of viscous foods. *Journal of Food Process Engineering*. 2018;41(8). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12913>.
6. Arsana IM, Putra YRR, Sari HN, Nurjannah I, Wahyuono RA. Optimized hydraulic diameter and operating condition of tube heat exchanger for food industry – A numerical study. *Journal of Mechanical Engineering Research and Developments*. 2020;43(6):329–338.
7. Khvostov AA, Magomedov MG, Zhuravlev AA, Shipilova EA, Semenikhin OA, Nikitchenko AA. Optimization of process pipeline parameters by techno-economic parameters. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2020;82(1)(83):34–46. (In Russ.).
8. Baldenko DF, Baldenko FD, Gnoevykh AN. *Odnovintovye gidravlicheskie mashiny. T. 1. Odnovintovye nasosy [Single-screw hydraulic machines. Vol. 1. Single-screw pumps]*. Moscow: IRTS Gazprom; 2005. 488 p. (In Russ.).
9. Bi H, Wu M, Zhang X. Design of parameters optimization system for crew pump well. *International Journal of Simulation: Systems, Science and Technology*. 2016;17(25):11–16. <https://edas.info/doi/10.5013/IJSSST.a.17.25.01>.
10. Yan D, Kovacevic A, Tang Q, Rane S, Zhang W. Numerical modelling of twin-screw pumps based on computational fluid dynamics. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science*. 2017;231(24):4617–4634. <https://doi.org/10.1177/0954406216670684>.
11. Baldenko DF, Baldenko FD. Ways to improve single-screw pumps for the implementation of modern technologies in the oil and gas industry. *Burenie i neft' [Drilling and Oil]*. 2018;(4):4–11. (In Russ.).
12. Zhang D, Cheng L, Li Y-Y, Jiao W-X. The hydraulic performance of twin-screw pump. *Journal of Hydrodynamics*. 2020;32(3):605–615. <https://doi.org/10.1007/s42241-020-0938-9>.
13. Yin Y, Zhou C, Zhao F, Wang L, Ye Z, Jin J. Design and investigation on a novel piezoelectric screw pump. *Smart Materials and Structures*. 2020;29(8). <https://doi.org/10.1088/1361-665X/ab98ec>.
14. Naumov VA. Calculation of load characteristics of the single-screw standard-size series pumps based on test results. *Materials Science. Power Engineering*. 2020;26(3):80–89. (In Russ.). <https://doi.org/10.18721/JEST.26306>.
15. Velikanov NL, Naumov VA, Koryagin SI. Operation of single-screw pumps with liquids of various viscosities. *Technico-tehnologicheskie problemy servisa*. 2020;54(4):40–44. (In Russ.).
16. Yu C, Gunasekaran S. Modeling of melt conveying in a deep-channel single-screw cheese stretcher. *Journal of Food Engineering*. 2004;61(2):241–251. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00096-7](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00096-7).
17. Roland W, Miethlinger J. Heuristic analysis of viscous dissipation in single-screw extrusion. *Polymer Engineering and Science*. 2018;58(11):2055–2070. <https://doi.org/10.1002/pen.24817>.
18. CSF Inox S.p.A. Eccentric screw [Internet]. [cited 2020 Dec 08]. Available from: <https://www.csf.it/en/products/eccentric-screw/>.
19. Atlas – Progressive cavity pump [Internet]. [cited 2020 Dec 20]. Available from: <https://www.alphadynamic.eu/products/atlas-progressive-cavity-pump/atlas-wsm/>.
20. Odnovintovye nasosy Varisco [Varisco single-screw pumps] [Internet]. [cited 2020 Jul 07]. Available from: https://promnasos.com/catalog/screw_pumps/varisco_vulcan/.
21. Muratova EI, Smolikhina PM. *Reologiya konditerskikh mass [Rheology of confectionery masses]*. Tambov: Tambov State Technical University; 2013. 188 p. (In Russ.).
22. Fu T, Haworth B, Mascia L. Analysis of process parameters related to the single-screw extrusion of recycled polypropylene blends by using design of experiments. *Journal of Plastic Film and Sheeting*. 2017;33(2):168–190. <https://doi.org/10.1177/8756087916649006>.
23. Borisov AA, Berdyshev BV, Hosseini H, Shirkavand-Hadavand B. Flow/pressure characteristics and modeling of deformation processes of single-screw extruders. *Polymer Engineering and Science*. 2010;50(10):2069–2073. <https://doi.org/10.1002/pen.21722>.

Исследование возможности иммобилизации антиоксидантов шиповника Даурского включением в белково-липидный комплекс



Б. А. Баженова^{1,*}, А. Г. Бурханова¹,
Ю. Ю. Забалуева², Р. А. Добрецкий¹

¹ Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления^{ROR}, Улан-Удэ, Россия

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

Дата поступления в редакцию: 15.02.2021

Дата принятия в печать: 22.03.2021



*e-mail: bayanab@mail.ru

© Б. А. Баженова, А. Г. Бурханова, Ю. Ю. Забалуева, Р. А. Добрецкий, 2021

Аннотация.

Введение. Высоким содержанием полифенольных комплексов с антиоксидантными свойствами характеризуются некоторые виды растительного сырья. Поэтому введение в состав мясных изделий фитонутриентов будет способствовать расширению ассортимента пищевых продуктов с антиоксидантным действием. Интерес представляют биологически активные вещества шиповника Даурского и возможность повышения их сохранности в процессе приготовления продукта. Целью исследований явилось изучение возможности иммобилизации антиоксидантов шиповника Даурского путем включения в белково-липидный комплекс.

Объекты и методы исследования. Плоды шиповника Даурского, его водно-спиртовой экстракт, а также белково-липидный комплекс.

Результаты и их обсуждение. В статье представлены экспериментальные данные по химическому составу плодов шиповника Даурского. Обоснован способ получения фитоэкстракта с максимально возможным извлечением соединений с антиоксидантными свойствами водно-спиртовым раствором в СВЧ-поле мощностью 800 Вт в течение 6–7 мин. Выявлено повышение сохранности антиоксидантов шиповника Даурского за счет иммобилизации путем включения в гель белково-липидного комплекса. Получена рецептура белково-липидного комплекса с внесением экстракта шиповника: белковый препарат 9 %, экстракт шиповника 6 %, жировой компонент 42 %, вода для гидратации 43 %. Отмечены высокие функционально-технологические характеристики полученной системы.

Выводы. Экспериментальным путем получены оптимальные режимы экстракции биологически активных веществ плодов шиповника в СВЧ-поле. Введение экстракта шиповника в состав белково-липидного комплекса способствует повышению степени сохранности антиоксидантов за счет их иммобилизации.

Ключевые слова. Шиповник Даурский, СВЧ-экстракция, водно-спиртовой экстракт, антиоксиданты, полифенолы, антоцианы, иммобилизация, белково-липидный комплекс

Финансирование: Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» (ВСГУТУ)^{ROR} в рамках Госзадания Министерство науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)^{ROR} № 19.5486.2017/БЧ.

Для цитирования: Исследование возможности иммобилизации антиоксидантов шиповника Даурского включением в белково-липидный комплекс / Б. А. Баженова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 301–311. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-301-311>.

Original article

Available online at <http://fppt.ru/eng>

Immobilization of Daurian Rosehip Antioxidants by Protein-Lipid Inclusion

Bayana A. Bazhenova^{1,*}, Anastasia G. Burkhanova¹,
Yuliya Yu. Zabalueva², Roman A. Dobretsky¹

¹ East Siberia State University of Technology and Management^{ROR}, Ulan-Ude, Russia

² K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management , Moscow, Russia

Received: February 15, 2021

Accepted: March 22, 2021



*e-mail: bayanab@mail.ru

© B.A. Bazhenova, A.G. Burkhanova, Yu.Yu. Zabalueva, R.A. Dobretsky, 2021

Abstract.

Introduction. Antioxidant system is one of the main cellular mechanisms of adaptation. It is able to neutralize the destructive effect of free radicals, both external and internal. Functional products, especially of meat origin, can provide necessary antioxidant properties. Some types of plant raw materials possess a high content of polyphenol complexes with antioxidant properties. Therefore, introduction of phytonutrients into the composition of meat products can help to expand the range of foods with an antioxidant effect. Daurian rosehip is rich in biologically active substances and can increase their safety during processing. The research objective was to study the possibility of immobilization of Daurian rosehip antioxidants by protein-lipid inclusion.

Study objects and methods. The research featured fruits of Daurian rosehip, its aqueous alcoholic extract, and protein-lipid complex.

Results and discussion. The article presents experimental data on the chemical composition of Daurian rosehip. The optimal method with the best antioxidant results was a microwave phytoextraction by an aqueous alcoholic solution at a power of 800 W for 6–7 min. The antioxidants were immobilized by including the protein-lipid complex into the gel. The experiment demonstrated excellent functional and technological characteristics of the resulting system.

Conclusion. The research revealed the optimal modes of microwave extraction of biologically active substances of Daurian rosehip. The rosehip extract was included into the protein-lipid complex and immobilized antioxidants, thus increasing their efficiency.

Keywords. Daur rosehip, microwave extraction, water-alcohol extract, antioxidants, polyphenols, anthocyanins, immobilization, protein-lipid complex

Financing. The work was part of the State Task of the East Siberia State University of Technology and Management (ESSUTM)  and Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka)  (project No. 19.5486.2017/BCH).

For citation: Bazhenova BA, Burkhanova AG, Zabalueva YuYu, Dobretsky RA. Immobilization of Daurian Rosehip Antioxidants by Protein-Lipid Inclusion. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):301–311. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-301-311>.

Введение

В настоящее время вероятность заражения организма человека вирусными инфекциями чрезвычайно высока. Поэтому возникает необходимость повышения иммунитета и формирования адапционных механизмов. Одним из основных клеточных механизмов формирования адаптации является антиоксидантная система организма. Она способна нейтрализовать разрушающее действие свободных радикалов, как образующихся в организме, так и попадающих извне. Запас нутриентов с антиоксидантными свойствами можно пополнить созданием продуктов здорового питания. Данная научная тема вызывает в последние годы большой интерес ученых отрасли [1–5].

Для решения проблемы обогащения продуктов питания антиоксидантами необходимо не только изучение потенциала пищевого сырья, но и поиск путей ограничения подвижности молекул антиоксидантов с закреплением их активного центра для сохранения максимальной работоспособности. Важно ограничить активность антиоксидантов или иммобилизовать их для сохранения биодоступности в процессе переваривания пищи и доставки к отдельным органам и клеткам.

Расширить ассортимент пищевых продуктов с антиоксидантным действием, особенно мясных, в которых содержание антиоксидантов ограничено,

можно путем включения растительного сырья, богатого биологически активными веществами полифенольной природы. Среди доступных дикорастущих растений интерес представляет шиповник вида *Rósa davúrica*, распространенный в регионах Бурятии, Якутии, Читинской и Амурской областей, Приморского края и др. Основным достоинством данного вида шиповника является морозоустойчивость и неприхотливость.

Пищевая ценность и свойства шиповника, выращенного в разных регионах страны и зарубежья, являются объектом многих исследований. Эффективность употребления плодов шиповника для уменьшения риска сердечно-сосудистых заболеваний, а также для профилактики недостатка витамина С показана в работах [6, 7]. Результаты исследования биологических характеристик и пищевой ценности разных сортов шиповника, произрастающего в районе г. Благовещенска, представленные в статье А. Б. Козлова с соавторами, показали высокое содержание витамина С – до 2980 мг% в плодах [8]. В статье С. А. Алексахина и др. представлены результаты изучения нескольких видов и сортов шиповника, выращенного в Самарском регионе [9]. В исследуемых образцах высокая антиоксидантная активность, а также высокое содержание полифенольных соединений, веществ группы флавоноидов и витамина С.

Исследования [10–12] показали, что растительные биологически активные вещества с антиоксидантной активностью способны ингибировать свободнорадикальные реакции в клетках и восстанавливать процессы в организме человека.

Однако в работе Н. А. Петрова с соавторами отмечена невысокая биологическая доступность для организма полифенольных соединений с сохранением активного комплекса [13]. В связи с этим актуальным направлением исследований в пищевой отрасли является поиск путей повышения биодоступности антиоксидантов.

Известны два основных метода иммобилизации биологически активных веществ – это физический и химический. Физическая иммобилизация представляет собой включение вещества в среду, которая обеспечит ограничение общего объема. Рассматривают несколько таких способов: адсорбция на нерастворимых носителях; включение в поры геля; пространственное отделение биологически активного вещества от остального объема реакционной системы с помощью полупроницаемой перегородки или мембраны; включение в двухфазную среду, где биологически активное вещество растворимо и может находиться только в одной из фаз.

Для повышения биодоступности полифенольных соединений с антиоксидантными свойствами за счет иммобилизации путем сорбирования, инкапсулирования и т. д. ученые предлагают различные методы. Н. А. Петровым и др. разработан технологический подход к получению пищевой матрицы путем обогащения гречневой муки полифенольными соединениями, извлекаемыми из ягод черники, для последующего включения в состав специализированных пищевых продуктов [13]. Доля сорбции на гречневой муке составила 45 % общих полифенолов, а содержание антоцианинов в исходном экстракте ягод черники было 48 %. Сорбционный подход позволяет целенаправленно концентрировать полифенолы в составе пищевой матрицы. Это повышает эффективность ее использования в качестве функционального пищевого продукта.

Предложен способ иммобилизации полифенолов, полученных биотехнологическим методом из овсяных отрубей, инкапсуляцией в комплексные коацерваты сывороточного белка и мальтодекстрина. Показана эффективность инкапсуляции (95 %) при определенном соотношении компонентов коацервата. Процент высвобождения полифенолов при ферментативном гидролизе составил 70–83 % [14].

В работе Е. А. Большунова и др. исследовалась эффективность включения экстракта бадана толстолистного в липосомальные структуры жира нерпы [15]. При экспериментах на животных было выявлено высокое антиоксидантное действие инкапсулированных в липосомы биологически

активных веществ экстракта из черных листьев бадана толстолистного.

В статье Б. А. Баженовой с соавторами представлены исследования по повышению сохранности биологически активных веществ экстракта из выжимок брусники в составе субпродуктовой пасты за счет иммобилизации [16]. Выявлено повышение суммарного содержания антиоксидантов в паштетном фарше, содержащем субпродуктовую пасту с предварительным включением в ее состав экстракта брусники.

Интерес представляет инкапсулирование биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами и включением их в гель, что может повысить их биодоступность. В мясной отрасли при производстве фаршевых мясопродуктов широко используются препараты с гелеобразующими свойствами, которые вносятся как отдельно, так и в составе белково-липидных эмульсий, суспензий, гранул и т. д.

Целью работы было исследование возможности иммобилизации антиоксидантов шиповника Даурского для повышения их биодоступности путем включения в состав белково-липидного комплекса.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований служили порошок из плодов шиповника Даурского, водно-спиртовой экстракт плодов шиповника, препарат Скинпрот А-105 и белково-липидный комплекс.

Для приготовления порошка были использованы зрелые плоды шиповника, собранные и высушенные в Мухоршибирском районе Республики Бурятия. Плоды шиповника сортировали, промывали и высушивали при температуре 80 °С до содержания влаги 13–15 %. Высушенные плоды измельчали, просеивали и подвергали дальнейшему высушиванию до остаточной влаги 10 %. Из полученного порошка готовили экстракт. Для повышения экстракции биологически активных веществ использовали обработку в СВЧ-поле. Затем изучали возможность включения полученного экстракта в состав белково-липидного комплекса.

Для гелеобразования использовали препарат Скинпрот А-105, который вырабатывается на основе свиной шкурки для применения в мясных и рыбных продуктах. Препарат имеет высокие значения водо- и жиросвязывающей способностей, образует устойчивый гель, который сохраняет свойства после тепловой обработки. Характеристика белкового препарата приведена в таблице 1.

В ходе проведения экспериментальных исследований были применены следующие методы. Общую массовую долю минеральных веществ устанавливали методом озоления. Содержание влаги – методом высушивания до постоянного веса при температуре 103–105 °С (ГОСТ Р 51479-99). Суммарное содержание антиоксидантов (ССА) определяли на приборе

Таблица 1. Характеристика белкового препарата Скинпрот А-105

Table 1. Skinprot A-105 protein formulation

Наименование показателя	Значение	Наименование показателя, %	Значение
pH 5 % раствора	6–8	Массовая доля белка	91 ± 3
Цвет	Светло-кремовый	Массовая доля влаги	3 ± 2
Вкус	Нейтральный	Массовая доля жира	12 ± 2

«Цвет Яуза-01-АА» амперометрическим методом. Содержание полифенольных соединений (ПФ) – спектрофотометрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу. Кислотность среды устанавливали потенциометрическим методом. Массовую долю сахара определяли по ГОСТ 13192-73. Содержание витамина Е определяли на анализаторе «Флюорат-02» с приставкой ВЭЖХ. Метод основан на щелочном гидролизе пробы, экстракции гексаном неомыляемой части и введением экстракта на ВЭЖХ для количественного определения витамина. Содержание органических кислот и водорастворимых витаминов устанавливали методом капиллярного электрофореза на приборе Капель-105М с косвенным детектированием при длине волны 190 нм. Содержание каротиноидов – на спектрофотометре Сагу 300 путем экстракции ацетоном каротиноидов из образца с последующим спектрофотометрированием при длине волны 450 нм, соответствующей максимуму поглощению каротиноидов. Оптические характеристики экстрактов были получены на приборе фотометр КФК-3-01-30МЗ. Минеральный состав – на атомно-абсорбционном спектрометре PinAAcle 900F.

Содержание белка определяли методом, основанным на минерализации пробы по Кьельдалю, – отгонкой аммиака в раствор серной кислоты с последующим титрованием исследуемой пробы (ГОСТ 25011-81). Водо- и жирудерживающие способности (ВУС и ЖУС), устойчивость системы (УС) – последовательным определением из одного образца навески. Метод определения жира – по Сокслету. Предельное напряжение сдвига (ПНС) определяли на приборе пенетрометр методом погружения индентора в исследуемый образец. Для качественной оценки экстракта шиповника изучали прозрачность, вкус, цвет и аромат исследуемых образцов органолептическим методом.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе был изучен химический состав плодов шиповника Даурского. Данные представлены в таблице 2.

Представленные в таблице 2 данные свидетельствуют о высоком содержании биологически активных веществ в плодах шиповника. Сахаров, в состав которых входят инвертные, содержится 8,81 %. Органические кислоты, включающие лимонную и

яблочную, составляют 4,91 %. Высоко содержание полифенольных соединений – 48 % относительно сухого вещества. Основные полифенольные соединения шиповника Даурского – это флавоноиды, фенольные кислоты, полифенольные амиды, флавоны и антоцианы. Среди них наиболее характерны кверцетин, изокверцетин, кемпферол и тилирозид [9, 10].

Плоды шиповника Даурского характеризуются насыщенным темно-красным цветом из-за присутствия большого количества антоцианов и каротиноидов (7,76 мг%). Отмечено высокое содержание витаминов С и Е – 1285,4 и 141,8 мг% соответственно.

Таким образом, значение суммарного содержания антиоксидантов в плодах шиповника Даурского имеет высокое значение и составило 138,34 мг/г, из которых 76 % составляют полифенольные соединения.

Для обогащения пищевых продуктов биологически активными веществами плодов шиповника Даурского изучена возможность их экстракции с применением эффективных методов.

Методы экстракции подразделяются на статические: одноступенчатые (мацерация), многоступенчатые (ремацерация, циркуляция, реперколяция по Чулкову) и динамические: одноступенчатые (перколяция), многоступенчатые (реперколяция с законченным и незаконченным циклами). Недостатками данных способов являются неполнота экстракции веществ, продолжительность, трудоемкость, повышенное содержание балластных веществ и др. В настоящее время предлагают более эффективные способы экстракции: сверхкритическая флюидная экстракция,

Таблица 2. Химический состав плодов шиповника Даурского

Table 2. Chemical profile of Daurian rosehip

Показатели химического состава	Значение
Массовая доля сухих веществ, %	21,92 ± 0,17
Массовая доля сахаров, %	8,81 ± 0,19
Содержание органических кислот, %	4,91 ± 0,12
Содержание полифенолов, %	10,54 ± 0,08
Содержание каротиноидов, мг/100 г	7,76 ± 0,12
Содержание витамина С, мг/100 г	1285,4 ± 14,6
Содержание витамина Е, мг/100 г	141,80 ± 1,63
Суммарное содержание антиоксидантов, мг/г	138,34 ± 3,21

экстракция субкритическими растворителями, ускоренная экстракция и экстракция с использованием сверхвысокочастотного излучения. В работах [17–19] представлены результаты эффективности экстракции растительного сырья с применением СВЧ-нагрева. Они показали, что применение электромагнитного сверхвысокочастотного поля увеличивает степень экстракции. Основными преимуществами сверхчастотного нагрева являются тепловой разогрев «изнутри», высокий термический коэффициент полезного действия, равномерность нагрева и бесконтактный подвод тепла.

Экстрагентами могут служить растворы кислот и щелочей, а также вода, спирты, эфиры, органические растворители и т. д. Для экстракции растительных биологически активных веществ используют водно-спиртовой раствор, т. к. этиловый спирт обладает высокой экстрагирующей способностью по отношению к растительным полифенольным соединениям и является недорогим пищевым компонентом [18, 19].

На основании анализа предлагаемых способов экстракции биологически активных веществ из растительного сырья выбран способ экстракции водно-спиртовым раствором с применением обработки в электромагнитном поле сверхвысоких частот (СВЧ). Режимы экстракции определены экспериментальным путем на основании исследования показателя суммарного содержания полифенольных соединений (ПФ) в экстракте.

В ходе проведения экспериментальных исследований порошок из плодов шиповника Даурского заливали водно-спиртовым раствором концентрацией 40 % в соотношении 1:5. Соотношение выбрано на основе анализа литературных данных, которые рекомендуют для экстракции растительного сырья соотношение сырья и экстрагента от 1:1 до 1:10.

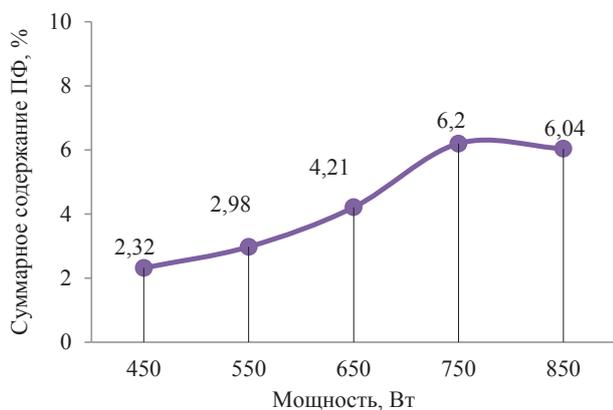


Рисунок 1. Влияние мощности СВЧ-поля на эффективность экстракции полифенольных соединений

Figure 1. Effect of microwave power on the efficiency of extraction of polyphenolic compounds

Для подбора параметров СВЧ-экстракции были проведены эксперименты и изучено значение суммарного содержания полифенольных соединений в процессе изменения мощности электромагнитного СВЧ поля (рис. 1), а также продолжительности (рис. 2).

На рисунке 1 представлены данные по влиянию мощности СВЧ-поля на степень извлечения полифенолов плодов шиповника Даурского при одинаковой продолжительности (4 мин). Полученные данные свидетельствуют о том, что мощность электромагнитного поля влияет на степень извлечения полифенольных комплексов. При повышении мощности до 750–850 Вт извлекаемость составила почти 60 %. Электромагнитное поле оказывает влияние на ориентацию диполей растворителя с последующим выделением тепловой энергии, что способствует выходу компонентов в среду растворителя.

Далее был проведен эксперимент по определению продолжительности процесса СВЧ-экстракции (рис. 2). Данные рисунка 2 показали, что продолжительность обработки порошка шиповника в растворителе при воздействии СВЧ-поля оказывает влияние на степень извлечения. Отмечено, что увеличение продолжительности процесса экстракции с 2 до 6 мин повышает эффективность процесса, затем степень извлечения остается на одном высоком уровне – примерно 90 %. В процессе извлечения меняется окраска экстрактов, т. к. экстрагированию подвергаются и красящие пигменты. В таблице 3 представлены данные измерения оптической плотности экстрактов плодов шиповника Даурского, полученные при разной продолжительности процесса в максимуме поглощения в диапазоне 420–540 нм.

Данные таблицы 3 доказали влияние продолжительности процесса экстракции на извлекаемость

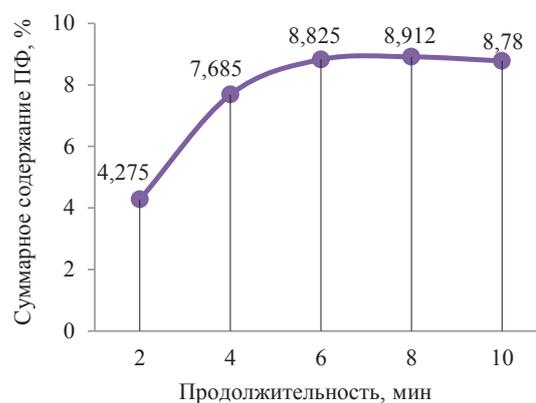


Рисунок 2. Влияние продолжительности обработки в СВЧ-поле на эффективность экстракции полифенольных соединений

Figure 2. Effect of microwave treatment time on the efficiency of extraction of polyphenolic compounds

Таблица 3. Величина оптической плотности в максимуме поглощения исследуемых образцов

Table 3. Value of optical density at the maximum absorption of the samples

Исследуемый объект	Продолжительность экстракции в СВЧ-поле, мин	Оптическая плотность D, ед. в максимуме поглощения
Водно-спиртовой экстракт плодов шиповника Даурского	2	0,31
	4	0,34
	6	0,42
	8	0,47
	10	0,48

полифенольных комплексов, среди которых присутствуют окрашивающие антоцианы, бетацианы, каротиноиды и др. вещества. Наибольшей оптической плотностью в промежутке 420–540 нм обладают экстракты, полученные через 8 и 10 мин экстрагирования в СВЧ-поле.

Исходя из полученных экспериментальных исследований по подбору режимов экстракции полифенольных комплексов, были приняты следующие параметры: мощность 750–800 Вт, продолжительность процесса 6–7 мин. Технологическая схема приготовления водно-спиртового экстракта шиповника Даурского представлена на рисунке 3.

В таблице 4 представлена качественная характеристика полученного экстракта. Он имеет красно-коричневый оттенок, обусловленный антоцианами, бетацианами и другими красящими веществами, приятные вкус и запах. В полученном экстракте было определено суммарное содержание антиоксидантов, которое составило в абсолютном выражении 131,4 мг/г, в относительном – 95 % от

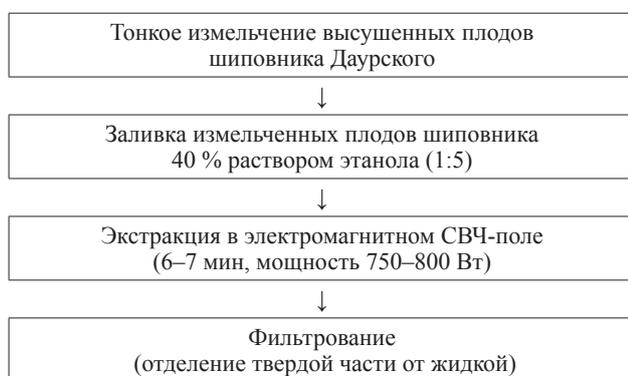


Рисунок 3. Технология производства экстракта из плодов шиповника Даурского

Figure 3. Daurian rosehip extraction technology

Таблица 4. Качественная оценка экстракта

Table 4. Qualitative assessment of the extract

Наименование показателей	Значение
Прозрачность	Жидкость прозрачная, без осадка
Вкус	Сладковато-кислый, без горечи
Цвет	Коричневый или красно-коричневый
Аромат	Приятный, сладковатый
pH	3,20 ± 0,12
Содержание ПФ, %	9,82 ± 0,41
ССА, мг/г	131,40 ± 0,03

их содержания в порошке, полифенольных соединений – 9,82 или 93,16 % соответственно.

На следующем этапе проведены эксперименты по созданию обогащенного белково-липидного комплекса, который традиционно используется в фаршевых мясных и рыбных изделиях. В отличие от белково-жировых эмульсий белково-липидный комплекс имеет более густую гелеобразную консистенцию. В качестве гелеобразующего компонента выбран препарат Скинпрот А-105, который содержит водорастворимые белки, способные формировать гель, и сохраняющий свойства после тепловой обработки.

В качестве липидной составляющей была использована жировая смесь, состоящая из топленого говяжьего жира, подсолнечного и соевого масел в определенной пропорции, которая обеспечивает высокую пищевую ценность жирового компонента. Исследования по обоснованию выбора жировой смеси представлены в работе [21].

Для определения состава белково-липидного комплекса было изучено влияние количества вносимого белкового препарата (4–10 %) и жирового компонента (40–43 %) на показатель предельного напряжения сдвига полученной системы. Пределы вносимого белкового препарата приняты из данных авторов [22], которые выявили, что критическая концентрация для формирования гели у белковых препаратов составляет от 5,5 до 9 %. Количество вносимого жирового компонента выбрали, руководствуясь принятым в мясной отрасли соотношением белкового препарата, жира и воды (1:(4–7):(4–7)) для формирования необходимых функционально-технологических характеристик фаршевых изделий. Полученные данные представлены на рисунке 4.

Представленные на рисунке 4 данные свидетельствуют о том, что увеличение количества вводимого белкового препарата до 9 % способствует повышению значения предельного напряжения сдвига. Затем скорость увеличения значения ПНС снижается.

При сравнении данных исследуемого показателя,

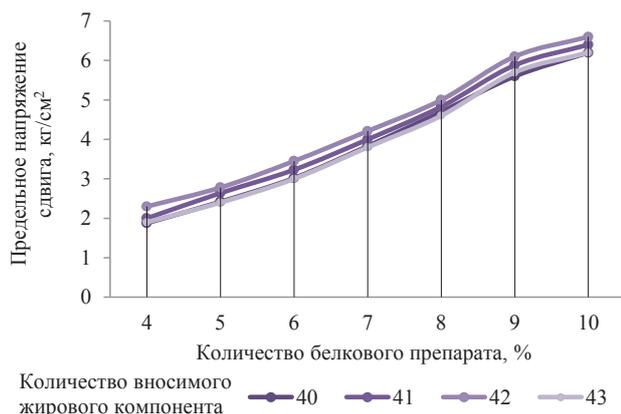


Рисунок 4. Влияние количества белкового препарата (4–10 %) и жирового компонента (40–43 %) на значение предельного напряжения сдвига в белково-липидном комплексе

Figure 4. Effect of the amount of the protein preparation (4–10%) and the fat component (40–43%) on the value of the limiting shear stress in the protein-lipid complex

в зависимости от количества введенного жирового компонента (разные кривые), отмечено, что наибольшим значение ПНС обладает белково-липидный комплекс, в состав которого введено 42 % жирового компонента. При увеличении до 43 % значение ПНС снижается.

В результате проведенных исследований получена рецептура белково-липидного комплекса, который обеспечивает гелеобразную консистенцию смеси: белковый препарат 9 %, жировой компонент 42 %, вода для гидратации 49 %.

На следующем этапе был проведен эксперимент по оптимизации дозы введения экстракта шиповника.

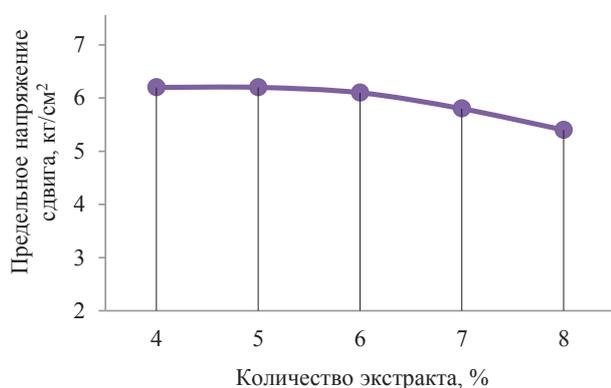


Рисунок 5. Влияние дозы экстракта на показатель предельного напряжения сдвига

Figure 5. Effect of the extract dose on the ultimate shear stress index

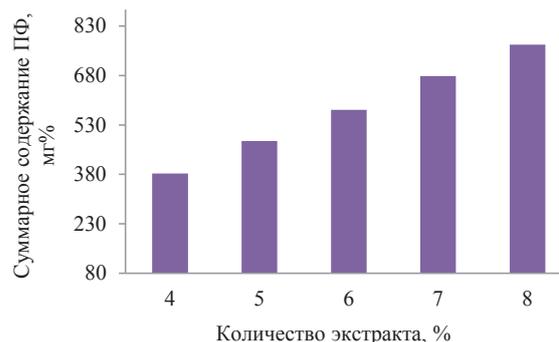


Рисунок 6. Суммарное содержание полифенольных соединений в белково-липидном комплексе в зависимости от уровня вводимого экстракта

Figure 6. Total content of polyphenolic compounds in the protein-lipid complex according to the extract volume

Было предусмотрено введение от 4 до 8 % экстракта за счет вводимой воды на стадии приготовления и тщательного перемешивания компонентов смеси. Полученная смесь была выдержана 3–4 ч. Также был изучен показатель предельного напряжения сдвига (рис. 5).

Представленные на рисунке 5 данные свидетельствуют о том, что увеличение дозы экстракта свыше 6 % приводит к заметному снижению значения ПНС. Экстракт шиповника, имеющий кислую среду, может снижать скорость процесса формирования трехмерной пространственной сетки белково-липидного комплекса.

Было изучено суммарное содержание полифенолов в белково-липидном комплексе (рис. 6). Данные показали, что содержание полифенольных комплексов сохраняется, относительно их содержания в экстракте, на 97–98 %. Это возможно за счет иммобилизации путем включения в белково-липидный комплекс, а также формирования жировой капсулы вокруг активных молекул.

Исходя из полученных результатов, принята доза введения экстракта шиповника в протеиново-липидный гель в количестве 6 %. Также получена рецептура белково-липидного комплекса, обогащенного компонентами шиповника Даурского: белковый препарат 9 %, экстракт шиповника 6 %, жировой компонент 42 %, вода для гидратации 43 %.

На заключительном этапе были проведены исследования по изучению свойств и состава белково-липидного комплекса после тепловой обработки в соответствии с методикой, представленной в работе [24]. В пробирки помещали белково-липидный комплекс, закрывали и нагревали на водяной бане до 85 °С в течение 30 мин. Затем образцы немедленно помещали в холодильник, выдерживали при 4 °С

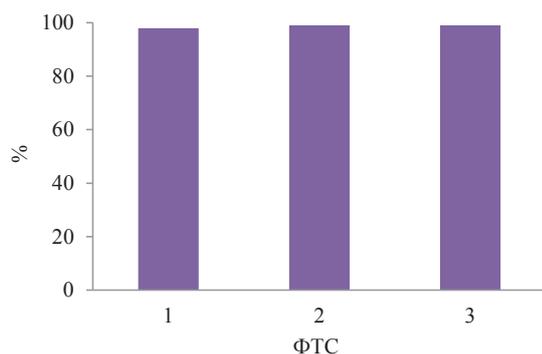


Рисунок 7. Функционально-технологические характеристики белково-липидном комплексе после тепловой обработки: 1 – ВУС; 2 – ЖУС; 3 – УС

Figure 7. Functional and technological characteristics of the protein-lipid complex after heat treatment: 1 – water holding capacity; 2 – fat-retaining capacity; 3 – emulsion stability

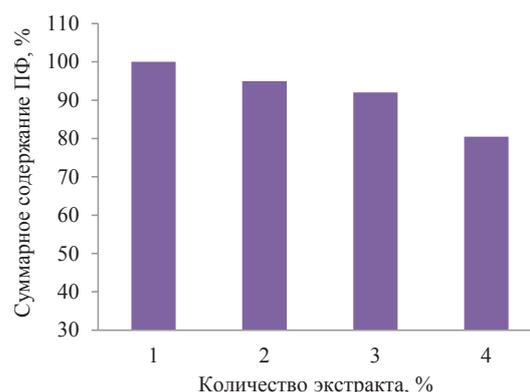


Рисунок 8. Суммарное содержание антиоксидантов: 1 – в порошке шиповника; 2 – в экстракте; 3 – в сырой белково-липидном комплексе; 4 – в белково-липидном комплексе после тепловой обработки

Figure 8. Total content of antioxidants: 1 – in rosehip powder; 2 – in extract; 3 – in crude protein-lipid complex; 4 – in protein-lipid complex after heat treatment

в течение 24 ч и исследовали функционально-технологические показатели (рис. 7) и степень сохранности антиоксидантов (рис. 8).

Данные рисунка 7 показали, что, после тепловой обработки, белково-липидный комплекс сохраняет высокие функционально-технологические характеристики (ФТС): водоудерживающая способность составила 98 %, жирудерживающая – 99 %, устойчивость эмульсии – 99 %.

На рисунке 8 представлено суммарное содержание антиоксидантов в порошке шиповника, в экстракте, в белково-липидном комплексе до и после тепловой обработки. Если принять ССА в порошке за 100 %, то видно, что при экстрагировании их уровень сохраняется на 95 %, при включении в белково-липидный комплекс – на 92 %, после тепловой обработки их уровень, по сравнению с содержанием в исходном сырье, снижается, но сохранность составляет 80,5 %.

Высокая сохраняемость биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами возможна за счет иммобилизации путем включения в белково-липидный комплекс, который можно использовать в рецептуре фаршевых мясных изделий.

На основании проведенных экспериментов разработана технология обогащенного белково-липидного комплекса (рис. 9).

Технология приготовления обогащенного белково-липидного комплекса не требует дополнительного оборудования и приборов. Предложенный способ включения антиоксидантов экстракта плодов шиповника в состав белково-липидного комплекса позволит повысить биодоступность биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами для организма человека.

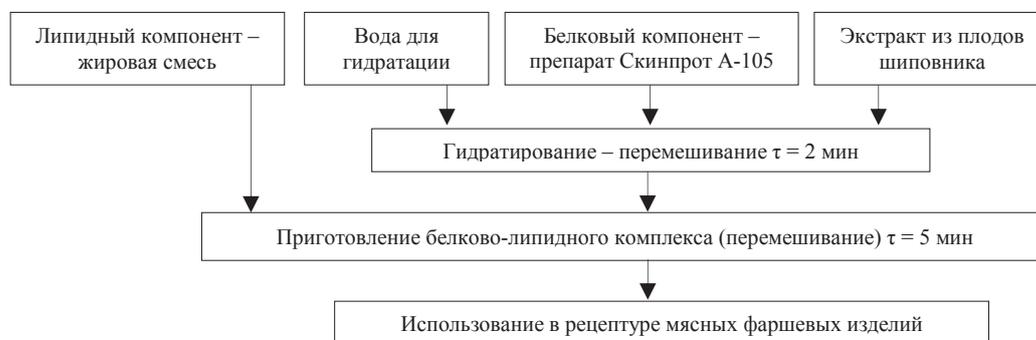


Рисунок 9. Технология приготовления белково-липидного комплекса, обогащенного биологически активными веществами плодов шиповника Даурского

Figure 9. Technology for a protein-lipid complex fortified with biologically active substances of Daurian rosehips

Выводы

В результате проведенных исследований изучен химический состав плодов шиповника Даурского, который показал высокое суммарное содержание антиоксидантов (138,34 мг/г), из которых 76 % составляют полифенольные соединения. Были проведены исследования по оптимизации режимов экстракции БАВ шиповника водно-спиртовым раствором в СВЧ-поле. На основании изучения показателей содержания полифенольных соединений и оптической плотности экстрактов приняты следующие параметры: мощность 750–800 Вт, продолжительность процесса 6–7 мин. Полученный экстракт имеет красно-коричневый оттенок, приятные вкус и запах и содержит антиоксидантов в количестве 131,4 мг/г.

В ходе экспериментальных исследований получена рецептура белково-липидного комплекса с внесением экстракта шиповника: белковый препарат 9 %, экстракт шиповника 6 %, жировой компонент 42 %, вода для гидратации 43 %. Выявлена высокая сохраняемость суммарного содержания антиоксидантов в белково-липидном комплексе после тепловой обработки (80,5 %) за счет их иммобилизации путем включения в белково-липидный комплекс. Разработана технология обогащенного белково-липидного комплекса, который рекомендован для внесения в рецептуру фаршевых мясных изделий.

Критерии авторства

Б. А. Баженова – разработка концепции

исследований, консультация в ходе эксперимента, описание результатов эксперимента, корректировка рукописи. А. Г. Бурханова – организация эксперимента, описание организации эксперимента и методов, проведение экспериментальных исследований, анализ полученных данных. Ю. Ю. Забалуева – аналитический обзор литературы, контроль проведения эксперимента, анализ полученных данных. Р. А. Добрецкий – организация эксперимента, проведение экспериментальных исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

B.A. Bazhenova developed the research concept, provided consultations, described the results, and proofread the manuscript. A.G. Burkhanova designed and performed the experiment, described its organization and methods, conducting experimental research, and analyzed of the obtained data. Yu.Yu. Zabalueva reviewed available scientific publications, supervised the experiment, and analyzed the obtained data. R.A. Dobretsky organized and performed the experiment.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Shah M. A., Bosco S. J., Mir S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products // Meat Science. 2014. Vol. 98. № 1. P. 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.020>.
2. Turgut S. S., Işıklı F., Soyer A. Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage // Meat Science. 2017. Vol. 129. P. 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.019>.
3. A method development for improving the stability of vegetable polyphenol complexes for semi-finished minced meat products with antioxidant effect / A. V. Gerasimov [et al.] // Theory and practice of meat processing. 2019. Vol. 4. № 4. P. 4–11. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2019-4-4>.
4. Дедерер И., Рюкерт М. Изготовление наноэмульсий с использованием ингредиентов антиоксидантного действия и их применение в мясопродуктах // Все о мясе. 2012. № 6. С. 10–13.
5. Жаринов А. И., Дыдыкин А. С. Современные тренды ассортимента мясопродуктов. Изделия, обогащенные железом, витаминами и антиоксидантами // Мясная индустрия. 2016. № 12. С. 6–9.
6. Korkmaz M., Dogan N. Y. Analysis of genetic relationships between wild roses (*Rosa L. Spp.*) growing in Turkey // Erwerbs-Obstbau. 2018. Vol. 60. № 4. P. 305–310. <https://doi.org/10.1007/s10341-018-0375-9>.
7. Application of multi pass high pressure homogenization to improve stability, physical and bioactive properties of rosehip (*Rosa canina L.*) nectar / F. T. Saricaoglu [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 282. P. 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.002>.
8. Козлова А. Б., Захарова Е. Б., Черноситова Т. Н. Оценка развития и продуктивности перспективных сортов шиповника в условиях Благовещенска // Дальневосточный аграрный вестник. 2018. Т. 48 № 4. С. 93–97. <https://doi.org/10.24411/1999-6837-2018-14086>.
9. Алексашина С. А., Макарова Н. В., Деменина Л. Г. Антиоксидантный потенциал плодов шиповника // Вопросы питания. 2019. Т. 88. № 3. С. 84–89. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10033>.
10. Зверев Я. Ф. Антитромбоцитарная активность флавоноидов // Вопросы питания. 2017. Т. 86. № 6. С. 6–20. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00001>.

11. Корнякова В. В., Бадтиева В. А., Баландин М. Ю. Использование биологически активных добавок с антиоксидантными свойствами при физическом утомлении и для повышения работоспособности в спорте // Вопросы питания. 2020. Т. 89. № 3. С. 86–96. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10032>.
12. Перспективы использования растительных полифенолов в качестве функциональных пищевых ингредиентов / В. К. Мазо [и др.] // Вопросы питания. 2018. Т. 87. № 6. С. 57–66. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10067>.
13. Комплекс полифенолов черники, сорбированных на гречневой муке, как функциональный пищевой ингредиент / Н. А. Петров [и др.] // Вопросы питания. 2019. Т. 88. № 6. С. 68–72. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10066>.
14. Зяйнитдинов Д. Р., Евтеев А. В., Банникова А. В. Исследование иммобилизации полифенолов овсяных отрубей в комплексные коацерваты сывороточного белка и мальтодекстрина // Техника и технология пищевых производств. 2020. Т. 50. № 3. С. 460–469. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-460-469>.
15. Большунова Е. А., Ламажапова Г. П., Жамсаранова С. Д. Исследование влияния липосомальной формы экстракта бадана толстолистного на формирование адаптационного потенциала организма // Вестник ВСГТУ. 2010. № 4. С. 83–88.
16. Пути повышения сохранности природных антиоксидантов в мясных изделиях / Б. А. Баженова [и др.] // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. № 1 (32). С. 84–94. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-1-84-94>.
17. Воздействие СВЧ-излучения на получение экстрактов из растительного сырья / Т. С. Копысова [и др.] // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. Т. 62. № 2. С. 62–70. https://doi.org/10.48012/1817-5457_2020_2_62.
18. Применение ЭМП СВЧ в технологии переработки растительного сырья и вторичных ресурсов / В. В. Лисовой [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016. № 118. С. 1350–1362.
19. Валеева А. Р., Макарова Н. В., Валиулина Д. Ф. Сравнительная характеристика влияния технологии экстракции на антиоксидантные свойства для плодов и цветков боярышника (*Crataegus*) // Химия растительного сырья. 2020. № 1. С. 157–166. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2020015168>.
20. Горбунова Н. В., Евтеева А. В., Банникова А. В. Разработка технологии получения инкапсулированных форм биологически ценных растительных экстрактов из ботвы свеклы *Beta Vulgaris cv* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. № 2 (29). С. 270–276. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-270-276>.
21. Способ производства вареных колбас: патент 2704269С1 Российская Федерация. № 2018119581 / Баженова Б. А. [и др.]; заявл. 28.05.2018; опубл. 25.10.2019, Бюл. № 30. 14 с.
22. Функционально-технологические свойства комплекса животных белков / Л. С. Кудряшов [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2017. Т. 5. № 2. С. 17–24. <https://doi.org/10.14529/food170203>.

References

1. Shah MA, Bosco SJ, Mir SA. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. Meat Science. 2014;98(1):21–33. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.020>.
2. Turgut SS, Işıklı F, Soyer A. Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. Meat Science. 2017;129:111–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.019>.
3. Gerasimov AV, Bazhenova BA, Zhamsaranova SD, Zabalueva YuYu, Zambulaeva ND, Burkhanova AD. A method development for improving the stability of vegetable polyphenol complexes for semi-finished minced meat products with antioxidant effect. Theory and practice of meat processing. 2019;4(4):4–11. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2019-4-4>.
4. Dederer I, Ruckert M. Nanoemulsions' manufacturing with antioxidant ingredients and their practical application in meat products. Vsyo o myase. 2012;(6):10–13. (In Russ.).
5. Zharinov AI, Dydykin AS. Sovremennye trendy assortimenta myasoproduktov. Izdeliya, obogashchennye zhelezom, vitaminami i antioksidantami [Modern trends in the assortment of meat products. Products fortified with iron, vitamins and antioxidants]. Meat Industry. 2016;(12):6–9. (In Russ.).
6. Korkmaz M, Dogan NY. Analysis of genetic relationships between wild roses (*Rosa L. Spp.*) growing in Turkey. Erwerbs-Obstbau. 2018;60(4):305–310. <https://doi.org/10.1007/s10341-018-0375-9>.
7. Saricaoglu FT, Atalar I, Yilmaz VA, Odabas HI, Gul O. Application of multi pass high pressure homogenization to improve stability, physical and bioactive properties of rosehip (*Rosa canina L.*) nectar. Food Chemistry. 2019;282:67–75. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.002>.
8. Kozlova AB, Zakharova EB, Chernositova TN. Evaluation of development and productivity of perspective wild roza varieties in the conditions of Blagoveshchensk. Agricultural Journal in the Far East Federal District. 2018;48(4):93–97. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/1999-6837-2018-14086>.

9. Aleksashina SA, Makarova NV, Demenina LG. Antioxidant potential of wild rose. Problems of Nutrition. 2019;88(3):84–89. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10033>.
10. Zverev YaF. Antiplatelet activity of flavonoids. Problems of Nutrition. 2017;86(6):6–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00001>.
11. Korniyakova VV, Badtieva VA, Balandin MYu. Exploiting dietary supplements with antioxidant properties for enhancing physical efficiency at the state of physical fatigue in sports. Problems of Nutrition. 2020;89(3):86–96. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10032>.
12. Mazo VK, Sidorova YuS, Sarkisyan VA, Kiseleva TL, Kochetkova AA. The prospective of using plant polyphenols as functional food ingredients. Problems of Nutrition. 2018;87(6):57–66. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10067>.
13. Petrov NA, Sidorova YuS, Perova IB, Kochetkova AA, Mazo VK. The complex of bilberry polyphenols, sorbed on the buckwheat flour as a functional food ingredient. Problems of Nutrition. 2019;88(6):68–72. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10066>.
14. Zyaitdinov DR, Ewteev AV, Bannikova AV. Immobilization of oat bran polyphenols in complex coacervates of whey protein and malthodextrin. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(3):460–469. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-460-469>.
15. Bolshunova EA, Lamazhapova GP, Zhamsaranova SD. Research of liposomal form of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch influence on formation of adaptation potential of the body. ESSUTM Bulletin. 2010;(4):83–88. (In Russ.).
16. Bazhenova BA, Zhamsaranova SD, Zambulaeva ND, Zabalueva YuYu, Gerasimov AV, Syngeyeva EV. Methods for improving the preservation of natural antioxidants in meat products. Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(1)(32):84–94. (In Russ.). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-1-84-94>.
17. Kopysova TS, Spiridonov AB, Anisimova KV, Vladimirov SV. The impact of microwave radiation on production of extracts from plant raw materials. The Bulletin of Izhevsk State Agricultural Academy. 2020;62(2):62–70. (In Russ.). https://doi.org/10.48012/1817-5457_2020_2_62.
18. Lisovoy VV, Pershakova TV, Kornen NN, Achmiz AD, Victorova EP. Application of EMF SHF in processing technologies for vegetable material and secondary resources. Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University. 2016;(118):1350–1362. (In Russ.).
19. Valeeva AR, Makarova NV, Valiulina DF. Comparative characteristics of the influence of technology of extraction on antioxidant properties for the fatty and flowers of the tender (*Crataegus*). Chemistry of plant raw material. 2020;(1):157–166. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2020015168>.
20. Gorbunova NV, Evteev AV, Bannikova AV. Development of a technology for obtaining encapsulated forms of biologically valuable plant extracts from beet leaves (*Beta Vulgaris* cv). Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(2)(29):270–276. (In Russ.). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-270-276>.
21. Bazhenova BA, Zabalueva YuYu, Burkhanova AG, Gerasimov AV, Tsyrendorzhieva SV. Cooked sausage production method. Russia patent RU 2704269C1. 2019.
22. Kudriashev LS, Kudriashova OA, Tikhonov SL, Tikhonova NV. Functional and technological properties of animal protein complex. Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology. 2017;5(2):17–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.14529/food170203>.

Перспективные расы дрожжей для молодых игристых вин с мускатным ароматом

И. П. Лутков¹, Д. В. Ермолин^{2,*}, Д. С. Задорожная², Н. Ю. Луткова¹

¹ Всероссийский национальный научно-исследовательский институт
виноградства и виноделия «Магарач» РАН^{ROR}, Ялта, Россия



² Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского^{ROR}, Симферополь, Россия

Дата поступления в редакцию: 17.02.2021

Дата принятия в печать: 17.03.2021



*e-mail: ermolindv@cfuv.ru

© И. П. Лутков, Д. В. Ермолин, Д. С. Задорожная, Н. Ю. Луткова, 2021

Аннотация.

Введение. С целью удовлетворения растущего спроса на мускатные игристые вина можно перенаправить часть винограда мускатных сортов, используемого для выработки ликерных вин, на производство игристых вин. Для сокращения цикла производства можно использовать технологию приготовления молодых игристых вин. Научно обоснованный выбор расы дрожжей позволит получить молодые игристые вина с чистым, ярким мускатным ароматом.

Объекты и методы исследования. Молодые игристые вина из винограда «Мускат белый», выработанные с использованием разных дрожжей. Применялись общепринятые в энохимии и модифицированные методы анализа.

Результаты и их обсуждение. Активное брожение сусла «Мускат белый» проходило на расах LALVIN QA-23 и Одесский черный-СД-13. Медленное брожение на расе Севастопольская 23 способствовало большему накоплению в этом образце связанных форм диоксида углерода (16 %). В нем содержалось наименьшее количество остаточных сахаров (2 г/дм³) и титруемых кислот (6 г/дм³) и наибольшее – полифенолов (103 мг/дм³) и аминного азота (91 мг/дм³). В образцах, выработанных на расах LALVIN QA-23 и Севастопольская 23, накапливалось большее количество свободных терпенов (1,16 и 1,13 мг/дм³ соответственно). Высокие дегустационные оценки получили образцы, выработанные на расах LALVIN QA-23 (9,03 балла) и Одесский черный-СД-13 (9,02 балла), немного ниже – на расе Севастопольская 23 (9,00 балла). Наиболее выраженный сортовой аромат определен в образце, полученном на расе LALVIN QA-23. Сложным ароматическим комплексом обладал образец, выработанный на расе Одесский черный-СД-13.

Выводы. Для приготовления молодых мускатных игристых вин бутылочным способом подходят расы дрожжей LALVIN QA-23 и Севастопольская 23. В них накапливается достаточное количество терпеновых спиртов. Образцы характеризуются чистым мускатным ароматом, слаженным вкусом и хорошими типичными свойствами. Данный способ производства игристых вин позволяет выпускать высококачественную продукцию в год урожая.

Ключевые слова. Дрожжи винные, брожение сусла, терпены, фенольные вещества, кислоты, пенные свойства, десорбция CO₂

Для цитирования: Перспективные расы дрожжей для молодых игристых вин с мускатным ароматом / И. П. Лутков [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 312–322. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-312-322>.

Original article

Available online at <http://fppt.ru/eng>

Perspective Yeast Races for Young Sparkling Wines with a Muscat Aroma

Igor P. Lutkov¹, Dmitry V. Yermolin^{2,*},
Daria S. Zadorozhnaya², Nataliya Yu. Lutkova¹

¹ All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” RAS^{ROR}, Yalta, Russia

² V.I. Vernadsky Crimean Federal University^{ROR}, Simferopol, Russia

Received: February 17, 2021

Accepted: March 17, 2021

*e-mail: ermolindv@cfuv.ru



Abstract.

Introduction. In order to solve the growing demand for Muscat sparkling wines, some of the Muscat grapes used for the production of liqueur wines should be used as a raw material for sparkling wines. The technology of preparing young sparkling wines has a shorter production cycle. Science-based selection of the yeast race makes it possible to obtain young sparkling wines with a clear and bright Muscat aroma.

Study objects and method. The research featured young sparkling wines from White Muscat grapes, produced using different yeasts races. The research involved both standard and modified methods of enochemical analysis.

Results and discussion. The LALVIN QA-23 and Odesskiy Cherniy-SD-13 yeast races demonstrated a more active fermentation of Muscat white wort. The Sevastopolskaya 23 sample had in a slower fermentation, which promoted a greater accumulation of bound forms of carbon dioxide (16%). It contained the smallest amount of residual sugars (2 g/dm³) and thriable acids (6 g/dm³) and the largest amount of polyphenols (103 mg/dm³) and amine nitrogen (91 mg/dm³). Two samples accumulated a sufficient amount of free terpenes: 1.16 mg/dm³ for LALVIN QA-23 and 1.13 mg/dm³ for Sevastopolskaya 23. The degustation scores were quite high: LALVIN QA-23 received 9.03 points and Odesskiy Cherniy-SD-13 – 9.02 points, while Sevastopolskaya 23 scored 9.00 points. The LALVIN QA-23 sample proved to have the most pronounced varietal aroma, whereas the Odesskiy Cherniy-SD-13 sample possessed a more complex aromatic complex.

Conclusion. The LALVIN QA-23 and Sevastopolskaya 23 yeast races were found suitable for bottle champagnization of young Muscat sparkling wines. They accumulated a sufficient amount of terpene alcohols. The samples had a clear Muscat aroma, harmonious taste, and good typical properties. The new method makes it possible to produce high quality sparkling wines in the harvest year.

Keywords. Wine yeast, must fermentation, terpenes, phenolic substances, acids, foam, CO₂ desorption

For citation: Lutkov IP, Yermolin DV, Zadorozhnaya DS, Lutkova NYu. Perspective Yeast Races for Young Sparkling Wines with a Muscat Aroma. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):312–322. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-312-322>.

Введение

На российском рынке алкогольной продукции представлен широкий ассортимент различных вин, в том числе игристых. Большим спросом у потребителя пользуются отечественные игристые вина из элитных сортов винограда, таких как «Шардоне», «Пино нуар», «Пино менье», «Мускат белый» и др. Мускатные игристые вина популярны благодаря своему неповторимому аромату и гармоничному вкусу.

Однако сложившийся дефицит отечественного сырья сдерживает обеспечение растущего спроса на качественные игристые вина. Связано это с тем, что возделывание винограда указанных сортов возможно только в ряде южных регионов РФ. Кроме того, данные сорта имеют невысокую урожайность и низкую устойчивость к болезням и заморозкам. Поэтому недостающее количество сырья вынужденно компенсируется поставками из-за рубежа. Принятый в 2019 г. Федеральный Закон «О виноградарстве и виноделии в РФ» призван ограничить ввоз импортных виноматериалов. В то же время для наращивания производства отечественного игристого вина нужно проводить закладку новых виноградников. Однако первый урожай с них можно будет получить лишь через несколько лет после посадки.

Еще одной причиной, не позволяющей быстро нарастить выпуск игристых вин, является длительный цикл их производства. При бутылочном способе

необходимо выдерживать кюве в бутылке не менее 9 месяцев. Для производства игристого вина акратофорным способом требуется специальное дорогостоящее оборудование для работы под давлением. Кроме того, в процессе хранения мускатных игристых вин в течение полугода при температурах от 18 до 25 °С происходит существенное снижение содержания терпеновых спиртов (в частности, линалоола), а также появляются окисленные формы терпеновых соединений [1].

Решение задачи увеличения выпуска указанной продукции видится в производстве молодых игристых вин бутылочным способом. Технологический процесс при таком способе длится менее 3-х месяцев, что позволяет выпускать продукцию уже в год урожая. Такая технология легко может быть реализована в условиях малых предприятий. Причем для обеспечения сырьем производителей мускатных игристых вин можно перенаправить часть винограда мускатных сортов, используемого для выработки ликерных вин, на производство игристых вин. Это можно сделать на Южном берегу Крыма (ЮБК), где значительные площади заняты виноградом сорта «Мускат белый». В связи с этим исследования возможности производства качественных молодых игристых вин в условиях ЮБК являются актуальными.

Одним из ключевых факторов получения продукции, способной удовлетворить самые строгие

запросы потребителя, являются правильно подобранные дрожжи. Для сохранения яркого мускатного аромата в игристых винах необходимо использовать расы дрожжей, способствующие увеличению содержания терпенов в готовой продукции, а также сокращать срок выдержки шампанизируемого вина в бутылке [2]. Основными требованиями к дрожжам, используемым в производстве игристых вин бутылочным способом, является их автолитическая способность и способность к флокуляции [3, 4]. Это важно для качественного проведения операций сведения дрожжевого осадка на пробку и дегоржажа. Дрожжи должны быть холодостойкими, устойчивыми к большому давлению CO_2 , высокой концентрации спирта, органических кислот и SO_2 . Для этого проводится процесс адаптации дрожжей и подкормки питательными веществами [5, 6]. Поскольку технология производства молодых игристых вин подразумевает использование при приготовлении тиражной смеси бродящего сусла, то дрожжам не нужна акклиматизация. Их автолитическая способность не является ключевым фактором, хотя способность образовывать плотный осадок важна для получения качественной продукции. Н. Г. Таран и др. в своей работе показали, что во время спиртового брожения сусла мускатных сортов винограда происходит снижение содержания свободных (на 30 %) и связанных (на 3 %) терпенов [7]. В то же время отдельные расы дрожжей могут увеличивать концентрацию терпенов [8, 9].

Цель исследования – подбор оптимальных рас дрожжей для производства молодых мускатных игристых вин бутылочным способом.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись молодые игристые вина из винограда сорта «Мускат белый», выращенного на ЮБК в 2020 г., выработанные с использованием разных дрожжей. Содержание

терпеновых спиртов в мускатных сортах в ходе созревания увеличивается [9]. Виноград собирали при массовой концентрации: сахаров – 220 г/дм³ (определяли с помощью ареометра); титруемых кислот – 6,2 г/дм³; pH – 3,4. Содержание терпеновых спиртов в сусле составило: свободных – 0,69 мг/дм³, связанных – 0,80 мг/дм³.

При переработке винограда получали сусло по следующей схеме: дробление винограда на валковой дробилке с гребнеотделением → отделение сусласамотека на стекателе и прессование (общий выход сусла не более 65 %) → осветление сусла отстаиванием при температуре 12–14 °С в течение 14–16 ч → снятие с осадка, обработка холодом, фильтрация. Дальнейшая технологическая схема предусматривала брожение осветленного сусла при температуре не выше 18 °С → снятие с дрожжевого осадка при концентрации сахаров 22–24 г/дм³ → приготовление тиражной смеси с использованием имеющихся в объеме живых дрожжевых клеток первичного брожения (не менее 1 млн клеток/см³) и бентонита (0,2 г/дм³) → розлив тиражной смеси в шампанскую бутылку, укупорку, укладку в штабели → брожение при температуре 12–14 °С → ремюаж, охлаждение до температуры минус 3–4 °С, замораживание осадка в горлышке бутылки, дегоржаж, доливку этим же вином, укупорку → контрольную выдержку → мойку бутылок с внешней стороны → оформление.

В работе использовали три расы винных дрожжей. 2 расы из Коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач» и активные сухие дрожжи LALVIN QA-23 (Дан стар Фермент АГ, Швейцария) (табл. 1), в том числе S-чувствительные и с киллер-фактором, который способствует доминированию данной расы при брожении [10, 11].

В игристых винах проводили определение физико-химических показателей [12]:

– массовую концентрацию титруемых кислот путем титрования пробы щелочью;

Таблица 1. Характеристика дрожжей

Table 1. Yeast profiles

№ по каталогу	Название	Вид дрожжей (по систематике В. И Кудрявцева.)	Фенотип	Свойства
–	LALVIN QA-23	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Kreger-van Rij N.J.W., 1984)	киллер (К)	Конкурентоспособная при сбраживании нестерильного виноградного сусла, спиртоустойчивая (до 16 %), средняя лаг-фаза, фруктозофильная, низкая потребность в азоте и кислороде, низкий синтез летучих кислот и сероводорода
I-525	Севастопольская 23	<i>Saccharomyces oviformis</i> Osterwalder, 1924 син. <i>Sacch. cerevisiae</i> (Kreger-van Rij N.J.W., 1984)	чувствительная (S)	Глюкозофильная, не образует H_2S , устойчивая к низкой температуре брожения и к высоким концентрациям SO_2 и спирта
I-652	Одесский черный-СД-13	<i>Saccharomyces oviformis</i> Osterwalder, 1924 син. <i>Sacch. cerevisiae</i> (Kreger-van Rij N.J.W., 1984)	чувствительная (S)	Способствует образованию алифатических спиртов, сложных эфиров и лактонов, синтезирует много β -фенилэтанола, усиливает пряные оттенки в аромате

- массовую концентрацию летучих кислот методом дробной перегонки;
- массовую концентрацию сахаров методом Бертрана;
- массовую концентрацию терпенов путем дистилляции свободных терпеновых спиртов в условиях нейтральной среды и связанных терпенов в условиях кислой среды, а также их концентрацию колориметрическим методом по реакции взаимодействия с ванилином;
- массовую концентрацию фенольных веществ колориметрическим методом по реакции Фолина-Чокальтеу;
- массовую концентрацию аминного азота методом формольного титрования;
- массовую концентрацию альдегидов методом йодометрического титрования;
- динамическую вязкость с помощью вискозиметра;
- рН с помощью рН-метра;
- Eh потенциометрическим методом;
- желтизны спектрофотометрическим методом;
- максимальный объем и время разрушения пены с помощью разработанного институтом «Магарач» метода определения пенистых свойств (обеспечивающего такую же точность, как и при использовании прибора Mosalux [13]) путем внесения в мерный цилиндр (емкостью 1 дм³) 200 см³ дегазированной пробы вина. Ее с помощью портативного компрессора и распылителя, опущенного на дно мерного цилиндра, барботировали воздухом. Объем образующейся пены определяли визуально по градуировке цилиндра, а время разрушения пены с помощью секундомера;
- концентрацию остаточных сахаров, этилового спирта, органических кислот и глицерина методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC 20AD (Япония) со спектрофотометрическим детектором с использованием колонки Supelcogel C610H (Supelco®, Sigma-Aldrich, США). Сорбент: сульфитированный дивинил-полистирол (размер колонки 300×7,8, зернение сорбента менее 10,0 мкм). Элюент: водный раствор ортофосфорной кислоты (1 г/дм³);
- общее содержание диоксида углерода в игристых винах волюметрическим методом. Согласно ему выделившийся из вина под действием ультразвука СО₂ вытеснял затворную жидкость из градуированной емкости. Ее объем соответствовал объему диоксида углерода, содержавшегося в бутылке с игристым вином;
- массовую долю связанных форм СО₂ по разности между измеренным содержанием СО₂ и растворимостью СО₂ при определенном давлении и концентрации этанола;

Игристые свойства устанавливали путем измерения скорости десорбции СО₂ из пробы вина при сбросе давления до атмосферного.

Полученные данные обрабатывались методами математической статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel.

Органолептическая оценка игристых вин проводилась дегустационной комиссией согласно ГОСТ 32051-2013. Выбор дескрипторов и расчет вклада различных дескрипторов в ароматический комплекс и вкус осуществляли согласно ISO 5492:2008, ISO 11035:1994 и [14]. Органолептическую оценку проводили через 70 суток после проведения закладки тиража по 10-балльной системе (минимально допустимая оценка – 8,80 баллов).

Результаты и их обсуждение

Сначала оценивали динамику брожения суслу на разных дрожжах (рис. 1).

Скорость брожения на расах LALVIN QA-23 и Одесский черный-СД-13 была близкой. Сбраживание сахаров этими расами проходило быстрее, чем расой Севастопольская 23.

После прохождения процесса шампанизации в полученных молодых игристых винах проводили определение физико-химических показателей. Результаты представлены в таблицах 2–7.

Меньшее содержание остаточных сахаров, а также большее этанола и аминного азота определено в образце, выработанном на расе Севастопольская 23, хотя брожение протекало медленнее, чем в остальных образцах. Больше остаточных сахаров (за счет фруктозы) обнаружено в образце, полученном с использованием расы Одесский черный-СД-13. Тем не менее все они по содержанию сахаров попадали в категорию «экстра брют». В то же время раса дрожжей АСД LALVIN QA-23 способствовала большему накоплению глицерина в вине. Во всех образцах определены хорошие пенистые свойства (более 300 см³), невысокое значение ОВ-потенциала (менее 200 мВ), низкое содержание летучих кислот (менее 0,2 г/дм³) и альдегидов (менее 30 мг/дм³). Это свидетельствует об отсутствии окисленности.

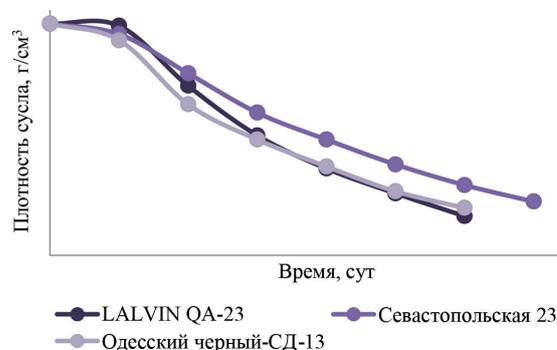


Рисунок 1. Динамика сбраживания сахаров в сусле различными расами дрожжей

Figure 1. Fermentation of sugars in wort by different yeast races

Таблица 2. Физико-химические показатели опытных игристых вин

Table 2. Physical and chemical properties of experimental sparkling wines

№ п/п	Наименование образцов	Объемная доля этилового спирта, %	Массовая концентрация							Величина	
			г/дм ³			мг/дм ³				рН	Eh, мВ
			титруемых кислот	летучих кислот	сахаров	аминного азота	альдеги- дов	терпенов свободных	терпенов связанных		
1	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей АСД LALVIN QA-23 (YSEO)	13,4	6,20	0,2	4,0	84,0	20,1	1,16	0,21	3,25	198
2	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Севастопольская 23 (I-525)	13,5	6,00	0,1	2,0	91,0	12,8	1,13	0,15	3,32	194
3	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Одесский черный-СД-13 (I-652)	13,2	6,15	0,1	5,5	66,5	9,7	0,13	0,22	3,26	198

рН – значение водородного показателя, Eh – значение окислительно-восстановительного потенциала.

pH – hydrogen index, Eh – redox potential.

Таблица 3. Физико-химические показатели и пенные свойства опытных игристых вин

Table 3. Physical, chemical, and foamy properties of experimental sparkling wines

№ п/п	Наименование игристого вина	Массовая концентрация, мг/дм ³					Показатель желтизны	Глицерин, г/дм ³	Динамическая вязкость, мм ² /с	Пенные свойства	
		суммы фе- нольных веществ	моно- мерных форм фе- нольных веществ	поли- мерных форм фе- нольных веществ	V_{\max} см ³	$t_{\text{раз}}$ с					
1	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей АСД LALVIN QA-23 (YSEO)	335	269	66	10,8	8,92	1,725	340	13		
2	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Севастопольская 23 (I-525)	367	264	103	13,2	7,58	1,748	390	15		
3	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Одесский черный-СД-13 (I-652)	346	269	76	12,4	7,72	1,748	350	14		

V_{\max} – максимальный объем пены, $t_{\text{раз}}$ – время разрушения пены.

V_{\max} – maximum foam volume, $t_{\text{раз}}$ – foam destruction time.

По классификации Г. Г. Агабальянца неокисленными считаются игристые вина с содержанием ацетальдегида (основного альдегида вина) менее 30 мг/дм³. Исключение операции послетиражной выдержки способствовало сохранению в молодых игристых винах низкого значения ОВ-потенциала. Меньшее содержание титруемых кислот и более высокий показатель рН были в образце, выработанном на расе Севастопольская 23, за счет низкого содержания винной и яблочной кислот, хотя янтарной кислоты в

нем было немного больше, чем в остальных образцах. Соотношение винной и яблочной кислот во всех образцах было около единицы, но с небольшим преобладанием яблочной кислоты.

Концентрация мономерных форм фенольных веществ во всех образцах была близкой между собой. В то же время содержание полифенолов преобладало в образце, сброженном на расе Севастопольская 23. Это связано с особенностями протекания процесса брожения и меньшей сорбцией

Таблица 4. Массовая концентрация органических кислот в опытных игристых винах

Table 4. Mass concentration of organic acids in experimental sparkling wines

№ п/п	Наименование игристого вина	Массовая концентрация, мг/дм ³									Соотношение винной и яблочной кислот
		лимонной	винной	яблочной	янтарной	молочной	уксусной	глюкозы	фруктозы	сахарозы	
1	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей АСД LALVIN QA-23 (YSEO)	0,25	2,14	2,50	1,30	0,30	0,08	1,48	1,97	0,55	0,856
2	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Севастопольская 23 (I-525)	0,24	2,05	2,19	1,37	0,26	0,04	0,75	0,95	0,29	0,936
3	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Одесский черный-СД-13 (I-652)	0,23	2,16	2,50	1,26	0,43	0,04	1,55	3,45	0,50	0,864

полифенолов дрожжевой массой при ремюаже (что согласуется с данными Л. В. Гнетко и др.) и напрямую отразилось на показателе желтизны [15]. Коэффициент корреляции (κ) между показателем желтизны и массовой концентрацией полифенолов равнялся 0,9. По показателю динамической вязкости образцы были близки между собой. Лучшие пенистые свойства определены в образце, выработанном на расе Севастопольская 23, что коррелирует с содержанием полифенолов ($\kappa = 0,99$) и массовой концентрацией аминного азота ($\kappa = 0,57$). Это можно объяснить тем, что в качестве веществ, стабилизирующих образующуюся на поверхности вина пену, выступают находящиеся в нем в виде мицелл или макромолекул белки, полипептиды, полифенолы и белково-фенольные комплексы [15, 16].

На следующем этапе работы проводили определение содержания различных форм диоксида углерода и показателей игристых свойств (табл. 5 и рис. 2).

Высокое избыточное давление и суммарное содержание диоксида углерода в бутылке было определено в образце, выработанном на расе Севастопольская 23. Это связано с полным сбраживанием сахаров данной расой по сравнению с остальными образцами. В этом же образце определены высокие значения массовой доли связанных форм диоксида углерода и коэффициента игристых свойств, а также меньшая скорость десорбции CO_2 из пробы вина. Скорость десорбции CO_2 из пробы вина имела обратную зависимость от массовой доли связанных форм CO_2 ($\kappa = -0,84$). Коэффициент игристых свойств напрямую был связан с массовой долей связанных

Таблица 5. Типичные свойства опытных игристых вин

Table 5. Typical properties of experimental sparkling wines

№ п/п	Наименование игристого вина	Давление CO_2 , кПа	Суммарное содержание CO_2 в бутылке, г	Содержание в бутылке растворенного CO_2 , г	Содержание CO_2 в газовой камере бутылки, г	Содержание связанных форм CO_2 в бутылке, г	Содержание связанных форм CO_2 в бутылке, %	Скорость десорбции CO_2 (1–300 мин), мг/мин	Угол наклона кривой (1–300 мин), °	Коэффициент игристых свойств, $\text{мин} \times 10^{-3}$
1	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей АСД LALVIN QA-23 (YSEO)	720	9,376	7,833	0,209	1,334	14,228	4,164	0,2386	0,669
2	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Севастопольская 23 (I-525)	870	10,977	8,958	0,248	1,771	16,137	2,247	0,1288	1,152
3	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброта «Мускат белый», раса дрожжей Одесский черный-СД-13 (I-652)	800	9,834	8,538	0,187	1,108	11,270	4,341	0,2487	0,535

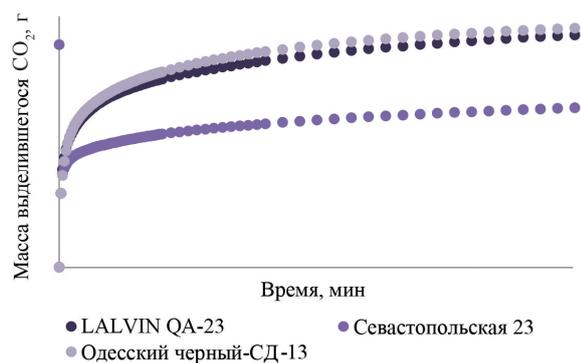


Рисунок 2. Динамика десорбции диоксида углерода из проб игристых вин

Figure 2. Desorption of carbon dioxide from sparkling wine samples

форм CO_2 ($\kappa = 0,90$). Медленный процесс брожения в процессе шампанизации способствует большему накоплению связанных форм диоксида углерода. Это согласуется с теоретическими представлениями Г. Г. Агабальянца (1948 г.) и А. А. Мержаниана (1979 г.). Также накоплению и сохранению связанных форм CO_2 способствуют вещества, содержащие аминокислоты [17]. Во всех образцах

игристых вин накапливалось достаточное количество связанных форм CO_2 (1,108–1,771 г). Это характерно для качественных игристых вин бутылочного способа производства [18].

Результаты дегустационной оценки молодых игристых вин представлены в таблице 6 и на рисунках 3–8.

Визуальная оценка прозрачности, цвета и типичных свойств игристых вин существенных различий не показала. Все образцы были прозрачными благодаря качественно проведенным ремюажу и дегоржажу. Это было связано с хорошей способностью использованных рас дрожжей образовывать плотный осадок после брожения в бутылке. Основные различия наблюдались в букете. В каждом образце присутствовали узнаваемые сортовые особенности ароматического комплекса, но разной степени интенсивности. Это и повлияло на дегустационную оценку. Образец, выработанный на расе LALVIN QA-23, имел интенсивный сортовой аромат с цитронными оттенками (рис. 3), которые формируются за счет терпеновых соединений (линалоол, терпениол и др.) [8, 19–23]. Образец, сброженный на расе Севастопольская 23, при интенсивном мускатном аромате имел легкие травянистые оттенки (рис. 4). Это связано с большим содержанием в нем фенольных веществ. В то же время в образце, полученном на расе Одесский черный-СД-13, при низком содержании терпенов присутствует

Таблица 6. Органолептическая характеристика опытных образцов молодых игристых вин

Table 6. Sensory properties of young sparkling wines

№ п/п	Наименование игристого вина	Органолептическая характеристика	Дегустационная оценка, балл
1	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброда «Мускат белый», раса дрожжей АСД LALVIN QA-23 (YSEO)	Пенообразование и «игра» хорошие, с образованием «островков» и «четок». Насыщенность CO_2 хорошая. Прозрачный. Цвет светло-соломенный. Букет чистый, яркий, сортовой, мускатного направления, с легкими цитронными оттенками. Вкус полный, гармоничный, освежающий. Послевкусие продолжительное.	9,03
2	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброда «Мускат белый», раса дрожжей Севастопольская 23 (I-525)	Пенообразование и «игра» хорошие, с образованием «островков» и «четок». Насыщенность CO_2 хорошая. Прозрачный. Цвет светло-соломенный. Букет яркий, сортовой, мускатного направления, с легкими травянистыми оттенками. Вкус полный, гармоничный, освежающий. Послевкусие продолжительное.	9,00
3	Вино игристое белое молодое из сусла-недоброда «Мускат белый», раса дрожжей Одесский черный-СД-13 (I-652)	Пенообразование и «игра» хорошие, с образованием «островков» и «четок». Насыщенность CO_2 хорошая. Прозрачный. Цвет светло-соломенный. Букет чистый, умеренный, сортовой, с легкими мускатным ароматом и оттенками акации. Вкус полный, гармоничный, освежающий. Послевкусие продолжительное.	9,02



Рисунок 3. Ароматический профиль молодого игристого вина, приготовленного на расе LALVIN QA-23

Figure 3. Aromatic profile of the LALVIN QA-23 sample

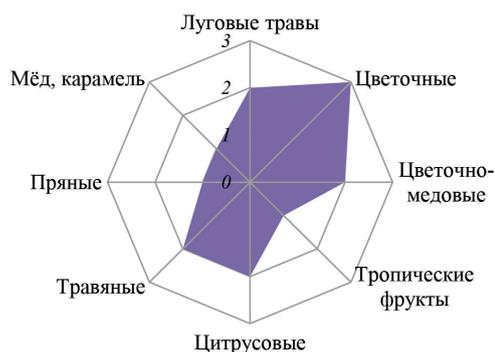


Рисунок 4. Ароматический профиль молодого игристого вина, приготовленного на расе Севастопольская 23

Figure 4. Aromatic profile of the Sevastopolskaya 23 sample

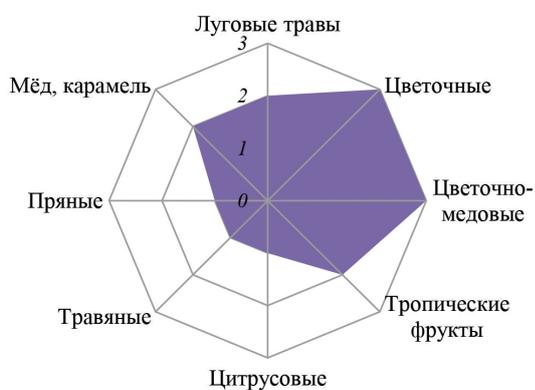


Рисунок 5. Ароматический профиль молодого игристого вина, приготовленного на расе Одесский черный-СД-13

Figure 5. Aromatic profile of the Odesskiy Cherniy-SD-13 sample

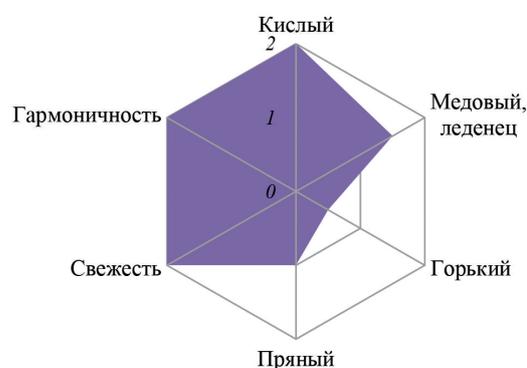


Рисунок 6. Вкусовой профиль молодого игристого вина, приготовленного на расе LALVIN QA-23

Figure 6. Flavor profile of the LALVIN QA-23 sample

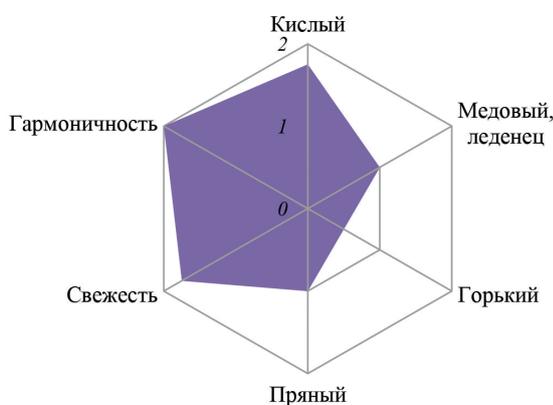


Рисунок 7. Вкусовой профиль молодого игристого вина, приготовленного на расе Севастопольская 23

Figure 7. Flavor profile of the Sevastopolskaya 23 sample

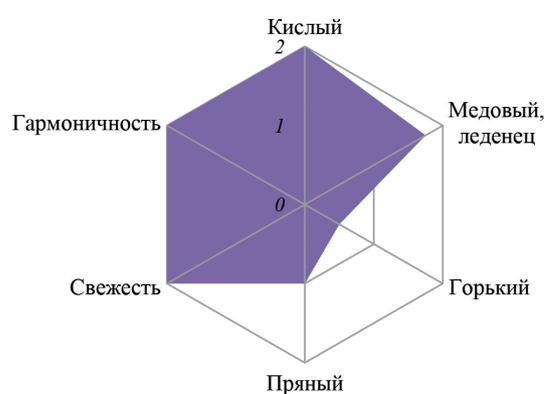


Рисунок 8. Вкусовой профиль молодого игристого вина, приготовленного на расе Одесский черный-СД-13

Figure 8. Flavor profile of the Odesskiy Cherniy-SD-13 sample

сортной аромат. Данная раса не синтезирует терпеновые соединения, но дополняет основную сортную доминанту аромата различными оттенками (рис. 5), а именно фруктовыми. Их формирование обусловлено сложными эфирами, образующимися при ферментативных процессах в ходе брожения [24, 25].

Вкусовые отличия были незначительными и связаны с небольшими различиями в кислотности, содержании остаточных сахаров и глицерина (рис. 6–8).

Выводы

На качество молодых мускатных игристых вин существенное влияние оказывает раса применяемых дрожжей. Для приготовления молодых мускатных игристых вин перспективными являются расы LALVIN QA-23 и Севастопольская 23. Эти расы способствуют накоплению свободных терпеновых спиртов в готовой продукции (1,16 и 1,13 мг/дм³ соответственно) и являются оптимальными по органолептическим показателям для приготовления вин из винограда «Мускат белый» в условиях Южного берега Крыма. Расы дрожжей LALVIN QA-23 и Севастопольская 23 позволяют получать образцы с чистым сортным ароматом, сбалансированным вкусом (дегустационная оценка 9,02–9,03 балла) и хорошими типичными свойствами (максимальный объем пены превысил 300 см³, а содержание связанных форм CO₂ составило 1,108–1,771 г).

Использованная технология позволяет получать высококачественные молодые игристые вина в год урожая винограда и легко может быть применима на малых предприятиях без использования сложного технологического оборудования. Внедрение данной технологии будет способствовать увеличению общего объема выпуска мускатных игристых вин.

Исследования данного направления планируется продолжить.

Критерии авторства

И. П. Лутков – планирование экспериментов, формулирование цели и проведение исследований, подготовка статьи. Н. Ю. Луткова – получение аналитических данных. Д. В. Ермолин – редактирование статьи и формулирование выводов. Д. С. – Задорожная подготовка материалов исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Выражаем благодарность Сергею Задорожному, Игорю Шпилю, Елене Марчук-Тымуш, Евгению Сластье.

Contribution

I.P. Lutkov designed the experiments, set up goals, conducted the research, and wrote the manuscript. N.Yu. Lutkova obtained the analytical data. D.V. Yermolin proofread the article and formulated the conclusions. D.S. Zadorozhnaya prepared the research materials.

Conflict of interest

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

Acknowledgements

The research team would like to express their deepest gratitude to Sergei Zadorozhnyi, Igor Shpil, Elena Marchuk-Tymush, and Evgeny Slastye.

Список литературы

1. Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plots comparison / M. Bordiga [et al.] // Food Chemistry. 2013. Vol. 140. № 1–2. P. 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.051>.
2. Макаров А. С., Лутков И. П., Луткова Н. Ю. Влияния сахаросодержащих компонентов, используемых при производстве мускатных игристых вин, на содержание в них терпеновых спиртов // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2021. Т. 67. № 1. С. 358–374. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-1-67-358-374>.
3. New trends in sparkling wine production: Yeast rational selection / P. Di Gianvito [et al.] // Alcoholic beverages. Volume 7: The science of beverages / A. M. Grumezescu, A. M. Holban editors. Woodhead Publishing, 2019. P. 347–386. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815269-0.00011-8>.
4. Starter cultures for sparkling wine / C. Garofalo [et al.] // Fermentation. 2016. Vol. 2. № 4. <https://doi.org/10.3390/fermentation2040021>.
5. New insights into the physiological state of *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol acclimation for producing sparkling wines / A. Borrull [et al.] // Food Microbiology. 2016. Vol. 54. P. 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.11.001>.
6. Nitrogen modulation of yeast fitness and viability during sparkling wine production / M. Martí-Raga [et al.] // Food Microbiology. 2016. Vol. 54. P. 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.009>.
7. Динамика терпенов в вине «Мускат белый» при спиртовом брожении сусле / Н. Г. Таран [и др.] // Виноделие и виноградарство. 2014. № 3. С. 16–18.

8. Влияние штамма дрожжей на накопление терпенов в виноградном сусле / И. В. Пескова [и др.] // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2017. № 4. С. 46–49.
9. Изучение летучего ароматического комплекса различных сортов винограда группы Мускат в Республике Молдова / Н. Г. Таран [и др.] // Виноградарство и виноделие. 2012. Т. 49. С. 183–187.
10. Using *Torulaspora delbrueckii* killer yeasts in the elaboration of base wine and traditional sparkling wine / R. Velázquez [et al.] // Journal of Food Microbiology. 2019. Vol. 289. P. 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.010>.
11. Киллер-токсины дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: синтез, механизмы действия и практическое использование / Е. В. Самбук [и др.] // Экологическая генетика. 2019. Т. 17. № 3. С. 59–73. <https://doi.org/10.17816/ecogen17359-73>.
12. Гержикова В. Г. Методы теххимического контроля в виноделии. Симферополь: Таврида, 2009. 304 с.
13. Chemical, physical, and sensory effects of the use of bentonite at different stages of the production of traditional sparkling wines / C. Ubeda [et al.] // Foods. 2021. Vol. 10. № 2. <https://doi.org/10.3390/foods10020390>.
14. Arroyo B. L., Roberts R. P. How specific wine tasting descriptors are? Procedia – Social and Behavioral Sciences. 2015. Vol. 198. P. 287–299. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.07.447>.
15. Влияние рас дрожжей на состав высокомолекулярной фракции и физико-химические свойства игристых вин / Л. В. Гнетько [и др.] // Новые технологии. 2019. Т. 47. № 1. С. 29–37. <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10103>.
16. Chemical compounds and mechanisms involved in the formation and stabilization of foam in sparkling wines / B. Kemp [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019. Vol. 59. № 13. P. 2072–2094. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1437535>.
17. Биотехнологические свойства нового штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-3980 / С. Ц. Котенко [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2016. Т. 192. № 4. С. 45–50.
18. Малахов А. А., Набережных И. А. Регулирование качества игристых вин структурно разрушенным автолизатом дрожжей // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2010. Т. 316. № 4. С. 57–59.
19. Characterization of the volatile profile of Brazilian moscatel sparkling wines through solid phase microextraction and gas chromatography / K. P. Nicolli [et al.] // Journal of the Brazilian Chemical Society. 2015. Vol. 26. № 7. P. 1411–1430. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150110>.
20. Ткаченко О. Б., Тринкаль О. В. Химия ароматов вина // Пищевая наука и технология. 2015. Т. 9. № 1. С. 42. <https://doi.org/10.15673/2073-8684.30/2015.38426>.
21. Chemical composition and sensory evaluation of wines produced with different Moscato varieties / Â. R. Marcon [et al.] // BIO Web of Conferences. 2019. Vol. 12. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191202033>.
22. Influence of two different cryoextraction procedures on the quality of wine produced from muscat grapes / A. Ruiz-Rodríguez [et al.] // Foods. 2020. Vol. 9. № 11. <https://doi.org/10.3390/foods9111529>.
23. Influence of different commercial yeasts on volatile fraction of sparkling wines / V. V. Cotea [et al.] // Foods. 2021. Vol. 10. № 2. <https://doi.org/10.3390/foods10020247>.
24. Effect of production phase on bottle-fermented sparkling wine quality / B. Kemp [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2015. Vol. 63. № 1. P. 19–38. <https://doi.org/10.1021/jf504268u>.
25. The effect of carbonic maceration during winemaking on the color, aroma and sensory properties of “Muscat Hamburg” Wine / Y.-S. Zhang [et al.] // Molecules. 2019. Vol. 24. № 17. <https://doi.org/10.3390/molecules24173120>.

References

1. Bordiga M, Rinaldi M, Locatelli M, Piana G, Travaglia F, Coisson JD, et al. Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plots comparison. Food Chemistry. 2013;140(1–2):57–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.051>.
2. Makarov AS, Lutkov IP, Lutkova NYu. The influence of sugar-containing components using in the production muscat sparkling wines, the content of terpene alcohols. Fruit growing and viticulture of South Russia. 2021;67(1):358–374. (In Russ.). <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-1-67-358-374>.
3. Di Gianvito P, Arfelli G, Suzzi G, Tofalo R. New trends in sparkling wine production: Yeast rational selection. In: Grumezescu AM, Holban AM, editors. Alcoholic beverages. Volume 7: The science of beverages. Woodhead Publishing; 2019. pp. 347–386. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815269-0.00011-8>.
4. Garofalo C, Arena MP, Laddomada B, Cappello MS, Bleve G, Grieco F, et al. Starter cultures for sparkling wine. Fermentation. 2016;2(4). <https://doi.org/10.3390/fermentation2040021>.

5. Borrull A, López-Martínez G, Miró-Abella E, Salvadó Z, Poblet M, Cordero-Otero R, et al. New insights into the physiological state of *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol acclimation for producing sparkling wines. *Food Microbiology*. 2016;54:20–29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.11.001>.
6. Martí-Raga M, Marullo P, Beltran G, Mas A. Nitrogen modulation of yeast fitness and viability during sparkling wine production. *Food Microbiology*. 2016;54:106–114. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.009>.
7. Taran NG, Taran MN, Ponomaryova IN, Soldatenko EV, Luka VI. Terpenes dynamics in wine “White Muscat” during alcoholic fermentation of wort. *Vinodelie i vinogradarstvo [Winemaking and viticulture]*. 2014;(3):16–18. (In Russ.).
8. Peskova IV, Ostroukhova EV, Lutkova NYu, Uluantsev SO. The impact of the yeast strain and fermentation conditions on the terpen accumulation in the grape must. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2017;(4):46–49. (In Russ.).
9. Taran NG, Ponomareva IN, Taran MN, Luka VI. Izuchenie letuchego aromatischeeskogo kompleksa razlichnykh sortov vinograda gruppy Muskat v Respublike Moldova [A study of the volatile aromatic complex of Muscat grape varieties in the Moldova Republic]. *Viticulture and winemaking*. 2012;49:183–187. (In Russ.).
10. Velázquez R, Zamora E, Álvarez ML, Ramírez M. Using *Torulasporea delbrueckii* killer yeasts in the elaboration of base wine and traditional sparkling wine. *Journal of Food Microbiology*. 2019;289:134–144. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.010>.
11. Sambuk EV, Muzaev DM, Romyantsev AM, Padkina MV. *Saccharomyces cerevisiae* killer toxins: synthesis, mechanisms of action and practical use. *Ecological Genetics*. 2019;17(3):59–73. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/ecogen17359-73>.
12. Gerzhikova VG. Metody tekhnokhimicheskogo kontrolya v vinodelii [Technochemical control methods in winemaking]. Simferopol': Tavrida; 2009. 304 p. (In Russ.).
13. Ubeda C, Lambert-Royo MI, Cortiella MG, Barrio-Galán RD, Peña-Neira Á. Chemical, physical, and sensory effects of the use of bentonite at different stages of the production of traditional sparkling wines. *Foods*. 2021;10(2). <https://doi.org/10.3390/foods10020390>.
14. Arroyo BL, Roberts RP. How specific wine tasting descriptors are? *Procedia – Social and Behavioral Sciences*. 2015;198:287–299. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.07.447>.
15. Gnetko LV, Zolotarev IO, Arutyunova GYu, Khachaturov VN. The effect of yeast race on the composition of a high-molecular fraction and physical and chemical properties of sparkling wines. *Novye tehnologii (Majkop)*. 2019;47(1):29–37. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10103>.
16. Kemp B, Condé B, Jégou S, Howell K, Vasserot Y, Marchal R. Chemical compounds and mechanisms involved in the formation and stabilization of foam in sparkling wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(13):2072–2094. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1437535>.
17. Kotenko STs, Islammagomedova EA, Khalilova EA, Abakarova AA. Biotechnological properties of new strain of yeast *Saccharomyces cerevisiae* Y-3980. *Bulletin of Higher Educational Institutions. North Caucasus Region. Natural Sciences*. 2016;192(4):45–50. (In Russ.).
18. Malakhov AA, Naberegnykh IA. Regulation the quality of sparkling wines with structurally destroyed autolysis of yeast. *News of Institutes of Higher Education. Food Technology*. 2010;316(4):57–59. (In Russ.).
19. Nicolli KP, Welke JE, Closs M, Caramão EB, Costa G, Manfroi V, et al. Characterization of the volatile profile of Brazilian moscatel sparkling wines through solid phase microextraction and gas chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2015;26(7):1411–1430. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150110>.
20. Tkachenko OB, Trinkal' OV. The chemistry of wine aromas. *Journal of Food Science and Technology*. 2015;9(1):42–50. (In Russ.). <https://doi.org/10.15673/2073-8684.30/2015.38426>.
21. Marcon ÂR, Schwarz LV, Dutra SV, Delamare APL, Gottardi F, Parpinello GP, et al. Chemical composition and sensory evaluation of wines produced with different Moscato varieties. *BIO Web of Conferences*. 2019;12. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191202033>.
22. Ruiz-Rodríguez A, Durán-Guerrero E, Natera R, Palma M, Barroso CG. Influence of two different cryoextraction procedures on the quality of wine produced from muscat grapes. *Foods*. 2020;9(11). <https://doi.org/10.3390/foods9111529>.
23. Cotea VV, Focea MC, Luchian CE, Colibaba LC, Scutaruşu EC, Marius N, et al. Influence of different commercial yeasts on volatile fraction of sparkling wines. *Foods*. 2021;10(2). <https://doi.org/10.3390/foods10020247>.
24. Kemp B, Alexandre H, Robillard B, Marchal R. Effect of production phase on bottle-fermented sparkling wine quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015;63(1):19–38. <https://doi.org/10.1021/jf504268u>.
25. Zhang Y-S, Du G, Gao Y-T, Wang L-W, Meng D, Li B-J, et al. The effect of carbonic maceration during winemaking on the color, aroma and sensory properties of “*Muscat Hamburg*” Wine. *Molecules*. 2019;24(17). <https://doi.org/10.3390/molecules24173120>.

Оценка функциональных свойств и показателей безопасности зернового хлеба с амарантовой мукой



Н. Н. Алехина*^{ORCID}, Е. И. Пономарева^{ORCID}, И. М. Жаркова^{ORCID},
А. В. Гребенщиков^{ORCID}

Воронежский государственный университет инженерных технологий^{ORCID}, Воронеж, Россия

Дата поступления в редакцию: 06.03.2021

Дата принятия в печать: 08.04.2021



*e-mail: nadinat@yandex.ru

© Н. Н. Алехина, Е. И. Пономарева, И. М. Жаркова, А. В. Гребенщиков, 2021

Аннотация.

Введение. Для борьбы с алиментарно-зависимыми заболеваниями разработаны различные рецептуры хлеба из пророщенного зерна, в том числе с амарантовой мукой. Для обеспечения выпуска безопасных и полезных для здоровья человека продуктов важно определение функциональных свойств и осуществление санитарно-гигиенической экспертизы. Целью исследования явилась оценка функциональных свойств и показателей безопасности хлеба из пророщенного зерна пшеницы с амарантовой мукой.

Объекты и методы исследования. В зерновом хлебе через сутки после выпекания определяли антиоксидантную активность амперометрическим методом. Гликемический индекс – из отношения площади под гликемической кривой для образца хлеба к площади под гликемической кривой для чистой глюкозы, выраженное в процентах. Перевариваемость белков мякиша устанавливали методом *in vivo* (на инфузориях *Paramecium caudatum*). Содержание фитина – колориметрическим методом. Показатели безопасности определяли в соответствии с ТР ТС 021/2011. Содержание связанной влаги определяли в течение трех суток хранения по изменению концентрации сахарозы на рефрактометре. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов определяли по ГОСТ 10444.15-94.

Результаты и их обсуждение. Внесение амарантовой муки незначительно влияет на антиоксидантную активность зернового хлеба. Однако способствует снижению его гликемического индекса на 8,3 % и увеличению микробиологической чистоты в 1,4 раза, повышает перевариваемость белков мякиша изделия на 3,0 %, уменьшает содержание фитина на 7,0 %, замедляет процесс его черствения на 0,5 суток. По показателям безопасности полученный образец хлеба с добавлением амарантовой муки соответствует требованиям ТР ТС 021/2011.

Выводы. Проведенные исследования влияния амарантовой муки на функциональные свойства и оценка показателей безопасности зернового хлеба указывают на целесообразность ее применения в технологии изделий из пророщенного зерна пшеницы.

Ключевые слова. Пророщенное зерно, амарантовая мука, антиоксидантная активность, гликемический индекс, перевариваемость, фитин, показатели безопасности, хлеб

Для цитирования: Оценка функциональных свойств и показателей безопасности зернового хлеба с амарантовой мукой / Н. Н. Алехина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 323–332. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-323-332>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Assessment of Functional Properties and Safety Indicators of Amaranth Flour Grain Bread

Nadezhda N. Alekhina*^{ORCID}, Elena I. Ponomareva^{ORCID},
Irina M. Zharkova^{ORCID}, Andrej V. Grebenshchikov^{ORCID}

Voronezh State University of Engineering Technologies^{ORCID}, Voronezh, Russia

Received: March 06, 2021

Accepted: April 08, 2021



*e-mail: nadinat@yandex.ru

© N.N. Alekhina, E.I. Ponomareva, I.M. Zharkova, A.V. Grebenshchikov, 2021

Abstract.

Introduction. Various formulations of sprouted grain breads, including those with amaranth flour, were developed to combat food-related diseases. Healthy food industry requires thorough assessment procedures and hygienic practices. The research objective was to assess the functional properties and safety indicators of amaranth bread made from sprouted wheat grain.

Study objects and methods. One day old grain bread was tested for antioxidant activity using amperometric method. Its glycemic index was determined according to the ratio of the area under the glycemic curve per bread sample to the area under the glycemic curve for pure glucose, expressed as a percentage. Crumb proteins digestibility was measured in vivo using ciliates *Paramecium caudatum*. Phytin content was measured by the colorimetric method, while safety indicators were compared to the Technical Regulations of the Customs Union No. 021/2011. Bound moisture content was determined with a refractometer after three days of storage according to the change in sucrose concentration. The number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (NMAFAnM) was described based on State Standard 10444.15-94.

Results and discussion. The amaranth flour slightly affected the antioxidant activity of the grain bread. It decreased the glycemic index by 8.3% and increased the microbiological purity by 1.4 times, raised the crumb proteins digestibility by 3.0%, reduced the phytin content by 7.0%, and slowed down the staleness process by 12 h. In terms of safety indicators, the obtained sample of amaranth grain bread met the TR CU 021/2011 requirements “On food safety”. The decrease in the glycemic index values could be explained by the lower activity of amylolytic enzymes in amaranth flour compared to sprouted wheat. The low digestibility of carbohydrates resulted from their effect on starch. The increase in digestibility and the decrease in phytin content were caused by the lower amount of dietary fiber. The high content of bound moisture explains the longer shelf life. Amaranth flour had lower microbiological contamination compared to wheat, which decreased the NMAFAnM.

Conclusion. Amaranth flour had a positive effect on the functional properties of grain bread safety indicators, which makes it possible to include it into sprouted wheat grain products.

Keywords. Sprouted grains, amaranth flour, antioxidant activity, glycemic index, digestibility, phytin, safety indicators, bread

For citation: Alekhina NN, Ponomareva EI, Zharkova IM, Grebenshchikov AV. Assessment of Functional Properties and Safety Indicators of Amaranth Flour Grain Bread. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):323–332. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-323-332>.

Введение

Одна из важных задач государственной политики направлена на обеспечение сохранения здоровья населения страны. Наиболее значимым фактором, оказывающим воздействие на состояние здоровья человека, является питание. Функциональные свойства продуктов питания зависят от их пищевой ценности, качества и физиологического воздействия на организм человека. В основе создания лечебного и профилактического питания должны находиться следующие положения:

- включение в рацион пищевых веществ, улучшающих физиологические функции в организме человека;
- повышение сопротивляемости организма воздействию вредных веществ;
- обеспечение ускоренного выведения токсических веществ из организма.

Для профилактики вредного воздействия токсических соединений большое значение имеет содержание в рационе питания человека белка и микронутриентов: аминокислот, витаминов и минеральных веществ [1–3]. Изменение климатических условий, неблагоприятная экологическая обстановка и малоподвижный образ жизни требуют корректировки пищевого статуса населения. Следует отметить, что выработка функциональных продуктов питания и проблема их безопасности являются в последние годы наиболее актуальными [4].

В постановлении президиума РАН «Об актуальных проблемах оптимизации питания населения России:

роль науки» приоритетной задачей названо понижение уровня смертности населения и снижение социально-значимых неинфекционных болезней [5].

Преобладание в пищевом рационе продуктов с низким содержанием антиоксидантов ослабляет иммунитет. Это ведет к росту патологических процессов и преждевременному старению. Антиоксиданты способны обезвреживать свободные радикалы и, благодаря неспаренному электрону молекулы последних, легко взаимодействуют с веществами, обладающими антиоксидантными свойствами, становясь полностью безопасными. Много антиоксидантов содержится в функциональных пищевых ингредиентах из зерновых культур и продуктах из них. При частом употреблении они оказывают положительный эффект на обменные процессы в организме человека. Эндогенный синтез антиоксидантов в организме человека зависит от их поступления с пищей [6–8]. Кроме того, концентрация глюкозы зависит от потребляемых продуктов. Чтобы оценить их влияние на уровень глюкозы в крови, ввели понятие «гликемический индекс», т. е. с какой скоростью адсорбируются углеводы изделий в организме человека.

С каждым годом количество людей с диагнозом сахарный диабет возрастает [9]. Если анализировать темпы роста числа заболевших в России, то можно сказать, что цифры удваиваются каждые 15 лет. Сахарный диабет сопровождается изменением

обмена веществ, что может привести к ожирению и заболеваниям сердечно-сосудистой системы организма человека [10].

В качестве профилактических мер для борьбы с алиментарно-зависимыми заболеваниями разработаны хлебобулочные изделия лечебной направленности [11]. Одно из перспективных направлений производства новых видов изделий – добавление пророщенных злаковых зерен [12]. Диетологи отмечают их полезные свойства, направленные на нормализацию вещественного обмена, улучшение работы ЖКТ, состояния нервной системы и т. д.

Положительные стороны производства хлеба из пророщенного зерна состоят в:

- сохранении в хлебе семенной оболочки и алейронового слоя, которые богаты БАВ, но удаляются при сортовых помолах;
- исключении интенсивных механических воздействий при размоле зерна на мельзаводе, что снижает энергозатраты при его подготовке;
- сохранении зародыша неповрежденным из-за чего сохраняются БАВ и увеличивается их концентрация в результате прорастания зерна [13].

Применение пророщенного зерна позволяет снизить в хлебе количество фитиновой кислоты и ее солей. Эта кислота, характеризующаяся сильными хелатирующими свойствами, обладает способностью связывать важные для человека нутриенты (фосфор, магний, кальций, железо, цинк) и мешает их усвоению. Основное назначение кальция в организме – обеспечение правильного развития скелета и прочности костей. Магний снижает возбуждение нейронов, напряжение в мышце сердца, улучшает работоспособность. Фосфор формирует костную ткань, участвует в обмене веществ. Железо устраняет железодефицитную анемию. Цинк участвует в углеводном обмене и процессе дыхания. Фитаты также связываются с белками. Из-за этого меняется конформация белковых молекул, что влияет на их ферментативную активность, растворимость и усвояемость. При недостатке белка в питании замедляется рост и развитие у детей. У взрослых происходит глубокое изменение в печени, нарушается деятельность желез внутренней секреции, ухудшается усвоение питательных веществ, возникают проблемы с сердечной деятельностью, ухудшается память и работоспособность. Фитиновая кислота мешает воздействию пепсина и трипсина, которые нужны для переваривания пищи. Если количество фитиновой кислоты и ее солей в питании повышено, то это ведет к минеральной недостаточности и к проблемам сердечно-сосудистой системы, пищеварения, расстройству костеобразования [14–16].

Пищевая ценность хлеба – это не только полезные макро- и микронутриенты, но и его способность к усвоению. Ее определяют такие показатели, как рецептура и качество изделий, способность ферментов

пищеварения расщеплять субстраты при фермент-субстратном взаимодействии с образованием одного или нескольких конечных продуктов. Достичь улучшения показателей качества изделия, влияющих на его пищевую ценность, можно путем разных технологических мероприятий и применения добавок. Для оценки перевариваемости белков в лабораторных условиях применяют разные методы: химические, ферментативные (путем использования ферментов пищеварения *in vitro*), биологические (проведение опытов на животных или с применением популяции *Paramecium caudatum (in vivo)*). При этом метод, основанный на анализе роста популяции инфузорий, стал очень популярен в последнее время. Он прост, эффективен, не требует большого количества материалов для анализа. Кроме того, данный метод менее затратен по сравнению с содержанием лабораторных животных.

Химический состав хлеба из пророщенного зерна пшеницы имеет свои преимущества в сравнении с традиционным хлебом. Однако у него отмечается небольшое количество белка и дефицит лизина. Здесь можно говорить об амаранте и амарантовой муке (ТУ 9293-004-77872064-2011) [17, 18]. Большее количество незаменимых аминокислот (лизин, тирозин, фенилаланин и изолейцин) в белке амаранта увеличивает его биологическую ценность на $16,5 \pm 1,5$ % по сравнению с белком пшеницы. Кроме того, в амаранте содержится сквален. Он регулирует липидный и стероидный обмен (предшественник ряда гормонов, холестерина и витамина D), может понижать уровень холестерина в сыворотке крови и печени, повышать количество в тканях атомарного кислорода, который противодействует на молекулярном уровне свободным радикалам. С этим связана его высокая антиоксидантная активность. Кафедрой технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «ВГУИТ» была разработана рецептура зернового хлеба «Злаковик» с применением муки амарантовой.

Качество изделия зависит от показателей безопасности. Номенклатура показателей качества зерна и изготавливаемых из него изделий должна удовлетворять требованиям ТР ТС 021/2011. Показатели следующие: количество токсичных элементов, микотоксинов, пестицидов, радионуклидов и обсемененность микроорганизмами. Наличие указанных показателей в продуктах питания изменяет иммунную активность организма. Это приводит к иммунодефициту и серьезным нарушениям функционального состояния организма человека. Пищевое сырье загрязняется такими элементами, как свинец, кадмий, мышьяк и ртуть, из-за плохой экологической обстановки. К элементам, оказывающим значительное воздействие на ферменты даже в небольших дозах, относятся свинец и кадмий

(суперэкоксиканты). Они поступают в зерно из почвы, которая аккумулирует токсичные элементы. При этом последствия загрязнения ими почвы устраняются достаточно трудно. Токсикологическая опасность мышьяка и ртути обусловлена их взаимодействием с сульфгидрильными группами белков, что приводит к изменению их свойств. Они также способствуют инактивации некоторых ферментов. Когда зерно набухает в питьевой воде, то при росте его влажности в диапазоне от 15,0 до 35,0 % содержание пестицидов снижается в 3–6 раз [19]. Повышенное количество влаги и биодоступные пищевые вещества способствуют созданию условий, наиболее благоприятствующих развитию микроорганизмов. Патогенные бактерии производят эндо- и экзотоксины. Непатогенные микроорганизмы развиваются самопроизвольно в продуктах питания, что приводит к их порче и значительному материальному ущербу. Микотоксины, выделяемые микроскопическими грибами, имеют кумулированное действие и поражают нервную систему, органы ЖКТ [20, 21]. Для оценки качества изделий с точки зрения гигиены питания наиболее широко распространен показатель, который учитывает основные группы микроорганизмов (бактерии, плесневые грибы, дрожжи). Это количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ).

Сведений о влиянии амарантовой муки на функциональные свойства зернового хлеба и показатели его безопасности недостаточно.

Целью исследования явилась оценка функциональных свойств и показателей безопасности хлеба из пророщенного зерна пшеницы с амарантовой мукой.

Объекты и методы исследования

Для опыта отбирали два образца хлеба: 1 – «Колосок» (контроль, ТУ 9114-036-02068108-2005) из пророщенной пшеницы; 2 – «Злаковик» (ТУ 10.71.11-462-02068108-2018) с добавлением 6 % амарантовой муки первого сорта (ООО «Русская Олива», Россия), которую вносили взамен части пророщенного зерна пшеницы. Пшеницу 3-го класса (ГОСТ 9353-2016), предварительно очищенную от примесей, промывали и подвергали набуханию в воде из разводной сети температурой $19,0 \pm 1,0$ °С в течение суток. Воду меняли 4–5 раз. Затем зерно проращивали в течение 0,5 суток. Измельчение зерна производили путем двукратного пропускания через матрицу с отверстиями диаметром 0,002 м. Тесто с массовой долей влаги 47,0 % готовили ускоренным способом с применением подкислителей: молочной сыворотки и аскорбиновой кислоты. Через 24 ч после выпечки в готовых изделиях оценивали функциональные свойства по антиоксидантной активности, гликемическому индексу, перевариваемости белков мякиша и содержанию фитина. В течение 72 ч в процессе хранения исследовали количество связанной влаги, КМАФАнМ

(в хлебе «Злаковик» также находили содержание токсичных элементов, пестицидов, микотоксинов и радионуклидов). В зернопродуктах и хлебобулочных изделиях суммарное содержание антиоксидантов в пересчете на кверцетин оценивали амперометрическим методом на жидкостном хроматографе «ЦветЯуза-01-АА» (НПО «Химавтоматика», Россия).

Гликемический индекс находили по методологии, описанной в [22]. В эксперименте были задействованы 20 добровольцев (обучающиеся и преподаватели вуза) от 19 до 39 лет. Противопоказаниями являются сахарный диабет, метаболическая декомпенсация, беременность, инсулинопотребность, эндокринная патология, обострения хронических заболеваний ЖКТ и другие острые заболевания, когнитивные нарушения, индекс массы тела более 25 кг/м². Испытуемых проинформировали об эксперименте и правилах поведения в ходе опыта. Было собрано письменное информированное согласие. После съедания заданной порции продукта (хлеб, чистая глюкоза), содержащей 50 г углеводов, находили уровень глюкозы в крови, используя глюкометр «Accu Chek Go» (Roche, Германия). Гликемический индекс выводили из отношения площади под гликемической кривой для образца хлеба к площади под гликемической кривой для чистой глюкозы, выраженное в процентах.

Перевариваемость белков мякиша хлеба оценивали по биотическому потенциалу (БП) популяции *Paramecium caudatum* и стандартизованной относительной биологической ценности (СОБЦ). СОБЦ – показатель, по которому судят о перевариваемости белков изделия. Также указанные показатели определяли на этапах, когда БП популяции *P. caudatum* был максимальным [23].

Образцы изделий отбирались так, чтобы количество белка в среде культивирования *P. caudatum* было 4 кг/м³. От указанной концентрации белка проводили последовательные разведения. Исследуемые образцы хлеба изучались в концентрациях 0,17, 0,34 и 0,68 кг/м³, соответствующих расчетному количеству белков 1, 2 и 4 кг/м³.

Оценивали перевариваемость образцов хлеба по белку яйца (альбумин, стандарт), который был взят в концентрациях 1, 2, 4 кг/м³. В среду для культивирования популяции *P. caudatum* дополнительно не добавляли минеральные вещества и витамины. В качестве растворителя использовали дистиллированную воду. Продолжительность инкубации *P. caudatum* составляла 4 суток.

Биотический потенциал популяции (БП) вычисляли:

$$\text{БП} = \frac{N_t}{2000} \div t, \quad (1)$$

где N_t – количество организмов *P. caudatum*, которые культивируются в определенное время инкубации в среде на основе белка яйца (хлеба); t – продолжительность инкубации (от 1 до 4 суток).

Стандартизованная относительная биологическая ценность продукта СОБЦ, %:

$$\text{СОБЦ} = \frac{N_{ot}}{N_c} \cdot 100 \quad (2)$$

где N_{ot} – количество организмов *P. caudatum*, которые выросли в определенное время инкубации в среде на основе образцов хлеба; N_c – количество организмов *P. caudatum*, которые выросли в то же время инкубации в среде на основе белка яйца (стандарт).

Методика определения фитина основана на извлечении его хлороводородной кислотой с дальнейшим осаждением хлорным железом. После озололения фосфор фитина находили по Фиске-Суббароу колориметрическим методом на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ (Экохим, Россия) при длине волны 625 нм. Далее масса полученного фосфора умножалась на 1,55. Так находилось количество фитина в пересчете на фитиновую кислоту.

Изменение содержания связанной влаги и КМАФАНМ находили в течение трех суток хранения хлебобулочных изделий, которые были упакованы в полиэтиленовый пакет. Метод нахождения количества связанной влаги основан на определении на рефрактометре изменения концентрации сахарозы при смешивании ее с изучаемым продуктом. КМАФАНМ исследовали по ГОСТ 10444.15-94.

В хлебе «Злаковик», в соответствии с ТР ТС 021/2011, определяли содержание следующих токсичных элементов: свинца – по ГОСТ 26932-86; мышьяка – по ГОСТ 26930-86; кадмия – по ГОСТ 26933-86; ртути – по ГОСТ 26927-86; пестицидов: гексахлорциклогексана (α -, β -, γ -изомеры); ДДТ и его метаболитов по методикам из [24]; микотоксинов: афлатоксина В₁ – по МУ 4082-86; дезоксиниваленола – по ГОСТ Р 51116-97; Т-2 токсина – по МУ 3184-84; зеараленона – по ГОСТ 31691-2012; радионуклидов: цезия-137 и стронция-90 – по МУК 2.6.1.1194-03.

Статистически обрабатывали данные в среде «Microsoft Excel 2010» (Microsoft Corporation, США). Критический уровень значимости (P) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Результаты экспериментальных данных представлены

Таблица 1. Антиоксидантная активность зернопродуктов и образцов хлеба ($P < 0,05$)

Table 1. Antioxidant activity of grain products and bread samples ($P < 0.05$)

Наименование образцов	Суммарное содержание антиоксидантов, мг/100 г СВ
Пророщенное зерно пшеницы	24,40 ± 1,22
Мука амарантовая первого сорта	20,00 ± 1,00
Хлеб «Колосок»	2,43 ± 0,12
Хлеб «Злаковик»	2,40 ± 0,12

в виде $M \pm m$, где M – средний показатель значений, m – среднее квадратичное отклонение.

Результаты и их обсуждение

Выявлено, что по содержанию антиоксидантов опытный образец незначительно уступал контрольному. В хлебе «Колосок» их было на 0,03 мг/100 г больше, чем в хлебе «Злаковик» (табл. 1). Меньшая антиоксидантная активность опытного образца объясняется наличием в его рецептуре амарантовой муки, содержащей на 18 % меньше антиоксидантов по сравнению с пророщенной пшеницей. Ранее установлено, что в пророщенной зерновке образуются мощные антиоксиданты (биофлаваноиды, витамин Е) и высвобождается цинк из связанного состояния при воздействии на фитин эндогенной фитазы зерна. Известно, что данный микроэлемент входит в состав фермента супероксиддисмутазы, обладающего антиоксидантным действием [16, 25].

В ходе эксперимента уровень глюкозы в крови через 0,5 ч после употребления образца 1 был 5,8 ммоль/л, образца 2 – 5,6 ммоль/л (рис. 1). Через 2 ч исследуемый показатель для контрольной и опытной пробы был одинаковым – 5,0 ммоль/л.

Гликемический индекс образца 1 был выше на 8,3 %, чем у образца 2, т. е. высокий гликемический индекс наблюдался в контрольном образце (рис. 2). Это связано с тем, что контрольная проба изготавливалась на основе пророщенной пшеницы, которая отличается активным ферментативным комплексом, по сравнению с амарантовой мукой, входящей в состав опытного образца. При этом под действием амилолитических ферментов крахмал пророщенного зерна пшеницы гидролизует в большей степени, что способствует большему повышению уровня сахара в крови.

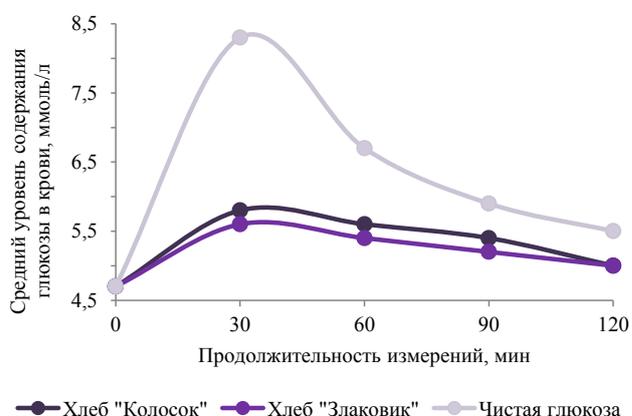


Рисунок 1. Изменение содержания глюкозы в крови после употребления продуктов

Figure 1. Change in blood glucose after eating the test samples

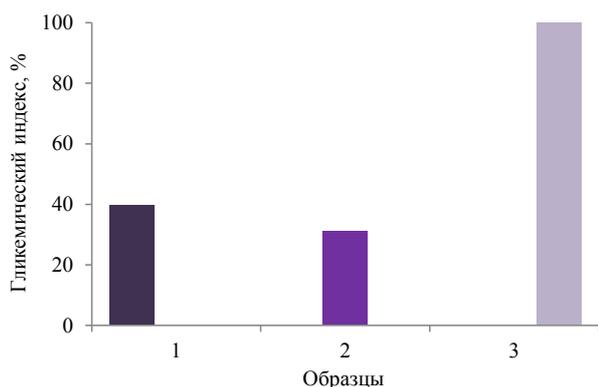


Рисунок 2. Гликемический индекс продуктов: 1 – хлеб «Колосок»; 2 – хлеб «Злаковик»; 3 – чистая глюкоза

Figure 2. Glycemic index of products: 1 – Kolosok bread; 2 – Zlakovik bread; 3 – pure glucose

Значения гликемического индекса для хлеба «Колосок» и «Злаковик» низкие по классификации ВОЗ, т. к. входят в диапазон 0–55.

При наблюдении за популяциями *Paramecium caudatum*, которые развивались в средах, содержащих 1, 2 и 4 кг/м³ протеинов, было выявлено отсутствие биоцидного действия на них. При подсчете количества *P. caudatum*, которые культивировались в средах на основе исследуемых образцов хлеба, по сравнению с инфузориями, которые развивались в среде на основе белка яйца, была выявлена их меньшая генеративная функция при данных концентрациях (табл. 2).

БП *P. caudatum*, которые культивировались на субстрате из образцов хлеба во всех трех концентрациях, был значительно ниже, чем на субстрате с белком яйца на протяжении всего периода их жизни.

Таблица 2. Количество популяции и биотический потенциал *Paramecium caudatum*, культивируемой в среде на основе белка яйца и образцов хлеба ($P < 0,05$)

Table 2. Population size and biotic potential of *Paramecium caudatum* cultured in a medium of egg protein and bread samples ($P < 0.05$)

Количество белка, кг/м ³	Количество популяции и биотический потенциал при продолжительности инкубации в течение			
	одних суток	двух суток	трех суток	четырёх суток
В среде на основе белка яйца				
1,0	21900 ± 1009* 0,460 ± 0,004**	28900 ± 1110* 0,300 ± 0,006**	38100 ± 1050* 0,260 ± 0,006**	37550 ± 1050* 0,200 ± 0,005**
2,0	27700 ± 1060* 0,580 ± 0,005**	38650 ± 1009* 0,400 ± 0,005**	44100 ± 1140* 0,310 ± 0,011**	41300 ± 1120* 0,220 ± 0,006**
4,0	29600 ± 1109* 0,620 ± 0,006**	60250 ± 1070* 0,630 ± 0,006**	56300 ± 1290* 0,390 ± 0,004**	69400 ± 1350* 0,360 ± 0,005**
В среде на основе образца 1 (хлеб «Колосок»)				
1,0	6789 ± 1050* 0,140 ± 0,007**	13583 ± 1009* 0,140 ± 0,010**	16383 ± 1060* 0,110 ± 0,012**	15020 ± 1050* 0,080 ± 0,007**
2,0	9418 ± 1070* 0,200 ± 0,012**	19325 ± 1009* 0,200 ± 0,011**	19404 ± 1050* 0,130 ± 0,020**	17346 ± 1110* 0,090 ± 0,014**
4,0	10360 ± 1140* 0,220 ± 0,008**	30728 ± 1060* 0,320 ± 0,009**	27587 ± 1070* 0,190 ± 0,021**	29842 ± 1060* 0,160 ± 0,005**
В среде на основе образца 2 (хлеб «Злаковик»)				
1,0	8900 ± 1110* 0,190 ± 0,005**	14166 ± 1050* 0,150 ± 0,007**	15052 ± 1050* 0,100 ± 0,009**	15068 ± 1070* 0,080 ± 0,009**
2,0	12977 ± 1050* 0,270 ± 0,004**	19945 ± 1110* 0,210 ± 0,006**	19895 ± 1110* 0,140 ± 0,011**	17996 ± 1140* 0,090 ± 0,005**
4,0	14896 ± 1060* 0,310 ± 0,005**	32523 ± 1110* 0,340 ± 0,004**	26107 ± 1060* 0,180 ± 0,005**	29236 ± 1110* 0,150 ± 0,005**
Образец 1 в % к белку яйца				
1,0	31	47	43	40
2,0	34	50	44	42
4,0	35	51	49	43
Образец 2 в % к белку яйца				
1,0	41	49	40	40
2,0	47	52	45	44
4,0	50	54	46	42

* В числителе значения по количеству популяции;

** В знаменателе значения по биотическому потенциалу.

* The numerator contains values by the number of the population;

** The denominator is the biotic potential value.

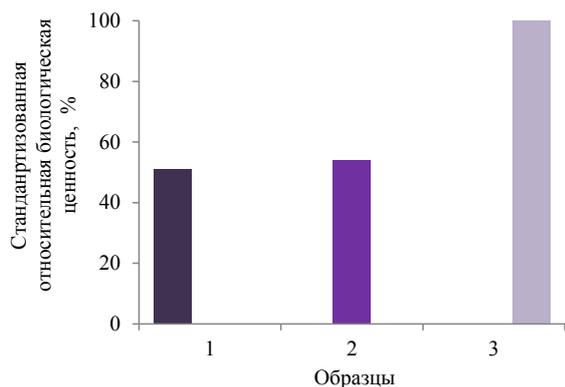


Рисунок 3. Стандартизованная относительная биологическая ценность образцов: 1 – хлеб «Колосок»; 2 – хлеб «Злаковик»; 3 – яичный белок

Figure 3. Standardized relative biological value of samples: 1 – Kolosok bread; 2 – Zlakovik bread; 3 – egg white

СОБЦ образцов хлеба вычисляли через двое суток инкубирования при уровне белка в среде культивирования 4 кг/м^3 , т. к. в этот период БП хлеба «Колосок» был максимальным – $0,320 \pm 0,009$, БП хлеба «Злаковик» – $0,340 \pm 0,004$.

Установлено, что СОБЦ хлеба «Колосок» на 3 % меньше, чем у хлеба «Злаковик». Следовательно, перевариваемость белков мякиша хлеба опытного образца выше, чем у контрольного (рис. 3).

Перевариваемость белков мякиша образца 2 возросла из-за внесения муки амарантовой взамен части пророщенной пшеницы. Это обусловлено меньшим размером частиц и количеством пищевых волокон в муке амарантовой ($6,0 \text{ г/100 г}$ муки) по сравнению с пророщенной пшеницей ($8,5 \text{ г/100 г}$ зерна). Это свидетельствует о большей усвояемости белковых веществ опытного образца изделия.

Установлено, что наименьшее количество фитина наблюдалось в хлебе «Злаковик» ($0,27 \text{ г/100 г СВ}$),

Таблица 3. Изменение количества связанной влаги при хранении образцов хлеба ($P < 0,05$)

Table 3. Bound moisture during storage of bread samples ($P < 0.05$)

Продолжительность хранения, ч	Количество связанной влаги, г/1 г СВ	
	«Колосок»	«Злаковик»
0	$1,15 \pm 0,06$	$1,21 \pm 0,06$
12	$1,08 \pm 0,05$	$1,15 \pm 0,06$
24	$1,01 \pm 0,05$	$1,08 \pm 0,05$
36	$0,97 \pm 0,05$	$1,04 \pm 0,05$
48	$0,93 \pm 0,05$	$1,00 \pm 0,05$
60	$0,89 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,05$
72	$0,82 \pm 0,04$	$0,89 \pm 0,04$

Таблица 4. Микробиологические показатели образцов хлеба ($P < 0,05$)

Table 4. Microbiological indicators of bread samples ($P < 0.05$)

Продолжительность хранения, ч	КМАФАнМ, КОЕ/г	
	«Колосок»	«Злаковик»
24	$0,5 \times 10^3$	$0,3 \times 10^3$
48	$1,1 \times 10^3$	$0,9 \times 10^3$
72	$1,9 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$

наибольшее – в хлебе «Колосок» ($0,29 \text{ г/100 г СВ}$). Это обусловлено большим содержанием в пророщенной пшенице пищевых волокон, в которых находится наибольшая часть фитина зерновки, по сравнению с мукой амарантовой, взамен части которой ее вносили при замесе теста.

У образцов со временем уменьшалось количество связанной влаги, что говорит о протекании процесса черствения (табл. 3). В хлебе «Злаковик» массовая доля связанной влаги через 3 суток составила $0,89 \text{ г/г СВ}$. Количество связанной влаги ($0,89 \text{ г/г СВ}$) в хлебе «Колосок» отмечалось через 2,5 суток хранения, т. е. образец хлеба с амарантовой мукой сохраняет свежесть на 0,5 суток дольше.

КМАФАнМ в образцах хлеба возрастало в течение 72 ч их хранения (табл. 4). Через 3 суток хранения хлеб «Злаковик» ($1,5 \times 10^3 \text{ КОЕ/г}$) обладал большей микробиологической чистотой в сравнении с хлебом

Таблица 5. Показатели безопасности в зерновом хлебе ($P < 0,05$)

Table 5. Safety indicators in grain bread ($P < 0.05$)

Наименование показателя	Содержание, мг/кг (Бк/кг*)	
	в хлебе «Злаковик» менее	по ТР ТС 021/2011 не более
Токсичные элементы:		
свинец	0,06	0,35
мышьяк	0,083	0,150
кадмий	0,02	0,07
ртуть	0,001	0,015
Пестициды:		
гексахлорциклогексан (α -, β -, γ -изомеры)	0,00008	0,5
ДДТ и его метаболиты	0,002	0,200
Микотоксины:		
афлатоксин B_1	0,0025	0,0050
дезоксиниваленол	0,2	0,7
T-2 токсин	0,05	0,10
зеараленон	0,1	0,2
Радионуклиды:		
цезий-137	2*	40*
стронций-90	20*	20*

«Колосок» ($1,9 \times 10^3$ КОЕ/г). Это связано с меньшей микробиологической обсемененностью амарантовой муки ($2,0 \times 10^5$ КОЕ/г) в сравнении с пророщенной пшеницей ($7,0 \times 10^5$ КОЕ/г).

Установлено, что содержание токсичных элементов, пестицидов, микотоксинов и радионуклидов в хлебе «Злаковик» находится в допустимых пределах (табл. 5). Поэтому хлеб «Злаковик» отвечает требованиям безопасности ТР ТС 021/2011. На него получена декларация о соответствии ЕАЭС N RU Д-РУ. АГ82.В.02799/18.

Выводы

В результате эксперимента установлено, что амарантовая мука незначительно влияет на антиоксидантную активность зернового хлеба, способствует снижению его гликемического индекса на 8,3 % и увеличению микробиологической чистоты в 1,4 раза, повышает перевариваемость белков мякиша изделия на 3,0 %, уменьшает содержание в нем фитина на 7,0 %, замедляет процесс черствения на 0,5 суток. По показателям безопасности хлеб «Злаковик» соответствует требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

Проведенные исследования влияния амарантовой муки на функциональные свойства и оценка

показателей безопасности зернового хлеба указывают на целесообразность ее применения в технологии изделий из пророщенного зерна. Зерновой хлеб на основе пророщенной пшеницы и амарантовой муки может быть рекомендован людям в профилактических целях (снижение риска сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний, остеопороза).

Критерии авторства

Вклад в выполненную работу: Н. Н. Алехина – 40 %, Е. И. Пономарева – 20 %, И. М. Жаркова – 20 %, А. В. Гребенщиков – 20 %.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

N.N. Alekhina was responsible for 40% of the research, E.I. Ponomareva – 20%, I.M. Zharkova – 20%, and A.V. Grebenshchikov – 20%.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Improvement of glucose and lipid metabolism via mung bean protein consumption: clinical trials of GLUCODIA™ isolated mung bean protein in the USA and Canada / M. Kohno [et al.] // Journal of Nutritional Science. 2018. Vol. 7. <https://doi.org/10.1017/jns.2017.68>.
2. Optimisation modelling to improve the diets of first nations individuals / L. Johnson-Down [et al.] // Journal of Nutritional Science. 2019. Vol. 8. <https://doi.org/10.1017/jns.2019.30>.
3. Micronutrient supplementation and fortification interventions on health and development outcomes among children under-five in low-and middleincome countries: a systematic review and meta-analysis / E. Tam [et al.] // Nutrients. 2020. Vol. 12. № 2. <https://doi.org/10.3390/nu12020289>.
4. Birch C. S., Bonwick G. A. Ensuring the future of functional foods // International Journal of Food Science and Technology. 2019. Vol. 54. № 5. P. 1467–1485. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14060>.
5. Постановление Президиума РАН № 178 от 27.11.2018 г. «Об актуальных проблемах оптимизации питания населения России: роль науки». М., 2018. 8 с.
6. Нилова Л. П., Пилипенко Т. В. Оценка антиоксидантных свойств обогащенных хлебобулочных изделий в эксперименте на лабораторных животных // Вопросы питания. 2016. Т. 85. № 6. С. 39–47.
7. Amarowicz R., Pegg R. B. Natural antioxidants of plant origin // Advances in food and nutrition research. Vol. 90 / I. C. F. R. Ferreira, L. Barros editors. Elsevier, 2019. P. 1–81. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011>.
8. Hidalgo F. J., Zamora R. Food processing antioxidants // Advances in food and nutrition research. Vol. 81 / F. Toldrá editor. Elsevier, 2017. P. 31–64. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.002>.
9. Шарофова М. У., Сагдиева Ш. С., Юсуфи С. Д. Сахарный диабет: современное состояние вопроса (часть 1) // Вестник Авиценны. 2019. Т. 21. № 3. С. 502–512.
10. Obesity indicators that best predict type 2 diabetes in an indian population: insights from the Kerala Diabetes Prevention Program / N. Kapoor [et al.] // Journal of Nutritional Science. 2020. Vol. 9. <https://doi.org/10.1017/jns.2020.8>.
11. New aspects of application of microalgae Dunaliella Salina in the formula of the enriched bread / T. N. Tertychnaya [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020. Vol. 422. № 1. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/422/1/012021>.
12. Grain bread with buckwheat bran flour for a healthy diet / N. N. Alekhina [et al.] // Journal of Engineering and Applied Sciences. 2016. Vol. 11. № 12. P. 2623–2627.

13. Sprouted grains: A comprehensive review / P. Benincasa [et al.] // *Nutrients*. 2019. Vol. 11. № 2. <https://doi.org/10.3390/nu11020421>.
14. Popova A., Mihaylova D. Antinutrients in plant-based foods: A review // *The Open Biotechnology Journal*. 2019. Vol. 13. № 1. P. 68–76. <https://doi.org/10.2174/1874070701913010068>.
15. Samtiya V., Aluko R. E., Dhewa T. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview // *Food Production, Processing and Nutrition*. 2020. Vol. 2. № 6. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>.
16. Assessment of the bioavailability of minerals and antioxidant activity of grain bread in the *in vivo* experiment / N. N. Alekhina [et al.] // *Russian Open Medical Journal*. 2018. Vol. 7. № 4. <https://doi.org/10.15275/rusomj.2018.0409>.
17. Gebreil S. Y., Ali M. I. K., Mousa E. A. M. Utilization of amaranth flour in preparation of high nutritional value bakery products // *Food and Nutrition Sciences*. 2020. Vol. 11. № 5. P. 336–354. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.115025>.
18. Amaranth as a bread enriching ingredient / N. M. Derkanosova [et al.] // *Foods and Raw Materials*. 2020. Vol. 8. № 2. P. 223–231. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-223-231>.
19. Урбанчик Е. Н., Касьянова Л. А. Продукты питания из пророщенного зерна // *Хлебопек*. 2004. № 5. С. 22–23.
20. Andrade P. D., Caldas E. D. Aflatoxins in cereals: worldwide occurrence and dietary risk assessment // *World Mycotoxin Journal*. 2015. Vol. 8. № 4. P. 415–431. <https://doi.org/10.3920/WMJ2014.1847>.
21. Aspects of environmental safety improving of whole grain bakery products / E. Khmeleva [et al.] // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020. Vol. 421. № 3. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/421/3/032062>.
22. Carbohydrates in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome: Food and Agriculture Organization, 1998. 140 p.
23. Черемных Е. Г., Кулешин А. В., Кулешина О. Н. Биотестирование пищевых добавок на инфузориях // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности*. 2011. № 3. С. 5–12.
24. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах, внешней среде. Т. 2 / М. А. Клисенко [и др.]. М.: Агропромиздат, 1992. 413 с.
25. Masisi K., Beta T, Moghadasian M. H. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on *in vitro* and *in vivo* studies // *Food Chemistry*. 2016. Vol. 196. P. 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.021>.

References

1. Kohno M, Sugano H, Shigihara Y, Shiraishi Y, Motoyama T. Improvement of glucose and lipid metabolism via mung bean protein consumption: clinical trials of GLUCODIA™ isolated mung bean protein in the USA and Canada. *Journal of Nutritional Science*. 2018;7. <https://doi.org/10.1017/jns.2017.68>.
2. Johnson-Down L, Willows N, Kenny T-A, Ing A, Fediuk K, Sadik T, et al. Optimisation modelling to improve the diets of first nations individuals. *Journal of Nutritional Science*. 2019;8. <https://doi.org/10.1017/jns.2019.30>.
3. Tam E, Keats EC, Rind F, Das JK, Bhutta ZA. Micronutrient supplementation and fortification interventions on health and development outcomes among children under-five in low-and middleincome countries: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2020;12(2). <https://doi.org/10.3390/nu12020289>.
4. Birch CS, Bonwick GA. Ensuring the future of functional foods. *International Journal of Food Science and Technology*. 2019;54(5):1467–1485. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14060>.
5. Postanovlenie Prezidiuma RAN № 178 ot 27.11.2018 g. “Ob aktual’nykh problemakh optimizatsii pitaniya naseleniya Rossii: rol’ nauki” [Resolution No. 178 of November 27, 2018 of the Presidium of the Russian Academy of Sciences “On topical problems of optimizing the nutrition of the population of Russia: the role of science”]. Moscow, 2018. 8 p.
6. Nilova LP, Pilipenko TV. Evaluation of antioxidant properties of enriched bakery products in experiment on laboratory animals. *Problems of Nutrition*. 2016;85(6):39–47. (In Russ.).
7. Amarowicz R, Pegg RB. Natural antioxidants of plant origin. In: Ferreira ICFR, Barros L, editors. *Advances in food and nutrition research*. Vol. 90. Elsevier; 2019. pp. 1–81. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011>.
8. Hidalgo FJ, Zamora R. Food processing antioxidants. In: Toldrá F, editor. *Advances in food and nutrition research*. Vol. 81. Elsevier; 2017. pp. 31–64. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.002>.
9. Sharofova MYu, Sagdieva ShS, Yusufi SD. Diabetes mellitus: the modern state of the issue (part 1). *Avicenna Bulletin*. 2019;21(3):502–512. (In Russ.).
10. Kapoor N, Lotfaliany M, Sathish T, Thankappan KR, Thomas N, Furler J, et al. Obesity indicators that best predict type 2 diabetes in an indian population: insights from the Kerala Diabetes Prevention Program. *Journal of Nutritional Science*. 2020;9. <https://doi.org/10.1017/jns.2020.8>.
11. Tertychnaya TN, Manzhesov VI, Andrianov EA, Yakovleva SF. New aspects of application of microalgae *Dunaliella Salina* in the formula of the enriched bread. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020;422(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/422/1/012021>.

12. Alekhina NN, Ponomareva EI, Lukina SI, Smirnykh AA. Grain bread with buckwheat bran flour for a healthy diet. *Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2016;11(12):2623–2627.
13. Benincasa P, Falcinelli B, Lutts S, Stagnari F, Galieni A. Sprouted grains: A comprehensive review. *Nutrients*. 2019;11(2). <https://doi.org/10.3390/nu11020421>.
14. Popova A, Mihaylova D. Antinutrients in plant-based foods: A review. *The Open Biotechnology Journal*. 2019;13(1):68–76. <https://doi.org/10.2174/1874070701913010068>.
15. Samtiya V, Aluko RE, Dhewa T. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2020;2(6). <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>.
16. Alekhina NN, Ponomareva EI, Zharkova IM, Grebenshchikov AV. Assessment of the bioavailability of minerals and antioxidant activity of grain bread in the *in vivo* experiment. *Russian Open Medical Journal*. 2018;7(4). <https://doi.org/10.15275/rusomj.2018.0409>.
17. Gebreil SY, Ali MIK, Mousa EAM. Utilization of amaranth flour in preparation of high nutritional value bakery products. *Food and Nutrition Sciences*. 2020;11(5):336–354. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.115025>.
18. Derkanosova NM, Stakhurlova AA, Pshenichnaya IA, Ponomareva IN, Peregonchaya OV, Sokolova SA. Amaranth as a bread enriching ingredient. *Foods and Raw Materials*. 2020;8(2):223–231. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-223-231>.
19. Urbanchik EN, Kas'yanova LA. Produkty pitaniya iz proroshchennogo zerna [Food products from sprouted grain]. *Khlebopek [Baker]*. 2004;(5):22–23. (In Russ.).
20. Andrade PD, Caldas ED. Aflatoxins in cereals: worldwide occurrence and dietary risk assessment. *World Mycotoxin Journal*. 2015;8(4):415–431. <https://doi.org/10.3920/WMJ2014.1847>.
21. Khmeleva E, Berezina N, Khmelev A, Kunitsyna T, Makarova N. Aspects of environmental safety improving of whole grain bakery products. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020;421(3). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/421/3/032062>.
22. Carbohydrates in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome: Food and Agriculture Organization; 1998. 140 p.
23. Cheremnykh EG, Kuleshin AV, Kuleshina ON. Screening of foods additives on infusoria. *RUDN Journal of Ecology and Life Safety*. 2011;(3):5–12. (In Russ.).
24. Klisenko MA, Kalinina AA, Novikova KF, Khokhol'kova GA. Metody opredeleniya mikrokolichestv pestitsidov v produktakh pitaniya, kormakh i vneshney srede. Tom 2 [Determination of micro-amounts of pesticides in food, feed, and environment. Vol. 2]. Moscow: Agropromizdat; 1992. 413 p. (In Russ.).
25. Masisi K, Beta T, Moghadasian MH. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on *in vitro* and *in vivo* studies. *Food Chemistry*. 2016;196:90–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.021>.

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-333-348
УДК 606(635.65+636.085)

Обзорная статья
http://fptt.ru/

Пищевые и кормовые белковые препараты из гороха и нута: производство, свойства, применение

В. В. Колпакова^{1,*}, Д. С. Куликов¹, Р. В. Уланова², Л. В. Чумикина²



¹ Всероссийский научно-исследовательский институт крахмалопродуктов, Красково, Россия

² ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук , Москва, Россия

Дата поступления в редакцию: 21.01.2021

Дата принятия в печать: 09.03.2021



*e-mail: val-kolpakova@rambler.ru

© В. В. Колпакова, Д. С. Куликов, Р. В. Уланова, Л. В. Чумикина, 2021

Аннотация.

Введение. Для ликвидации дефицита белка в рационе человека и животных в качестве альтернативы полимерам животного происхождения разрабатываются современные технологии получения белковых препаратов из различного вида растительного сырья. Актуальность решения проблемы вызывает необходимость выполнения анализа сырьевой базы распространенных видов зернобобовых культур (гороха и нута), технологических схем производства различных белковых препаратов, свойств и перспектив применения их в пищевых продуктах.

Объекты и методы исследования. Результаты экспериментальных исследований, сравнение информации в области современных тенденций развития производства, свойств, безопасности, применения пищевых и кормовых белковых препаратов из гороха и нута. Используются методы поиска, отбора, сортировки, систематизации данных, анализа литературных источников рецензируемых научных журналов, их значимости, достоверности и методы оформления библиографического списка литературы.

Результаты и их обсуждение. Анализ состояния выращивания зернобобовых культур в стране свидетельствует о том, что на имеющейся отечественной сырьевой базе перспективно организовывать производство пищевых и кормовых белковых препаратов из зерна гороха и нута с максимальным сохранением биологической ценности, состава и свойств. Зерно гороха и нута, имея высокую биологическую ценность, содержит клетчатку, минеральные вещества, витамины, антиоксиданты и т. д., которые удаляются в процессе переработки сырья. Для утилизации вторичных продуктов производства белковых продуктов целесообразно использовать биосинтетические процессы их трансформации с различными видами грибных и/или бактериальных энзимов, физических и/или физико-химических способов воздействий для получения кормовых или пищевых продуктов с соответствующим выходом. Для получения сбалансированного рациона человека и животных в состав белковых препаратов перспективно включение минеральных веществ, витаминов, жирных кислот, антиоксидантов и т. д. в количествах, удовлетворяющих требованиям функциональных продуктов питания.

Ключевые слова. Зернобобовые культуры, белковые препараты, производство, функциональные свойства, применение, вторичные продукты переработки

Для цитирования: Пищевые и кормовые белковые препараты из гороха и нута: производство, свойства, применение / В. В. Колпакова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 333–348. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-333-348.

Review article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Food and Feed Protein Preparations from Peas and Chickpeas: Production, Properties, Application

Valentina V. Kolpakova^{1,*}, Denis S. Kulikov¹,
Rusalia V. Ulanova², Ludmila V. Chumikina²

¹ All-Russian Research Institute for Starch Products, Kraskovo, Russia

² Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences , Moscow, Russia

Received: January 21, 2021

Accepted: March 09, 2021



Abstract.

Introduction. New legume-based protein preparations are an excellent alternative to polymers of animal origin and can eliminate the protein deficiency in the diet of humans and animals. In this respect, the raw material base of common leguminous crops has to be thoroughly analyzed in order to develop new technological schemes for novel protein formulations.

Study objects and methods. The present research compared modern trends in the production, properties, and safety of food and feed protein preparations based on peas and chickpeas. It involved such standard methods as data systematization and analysis of literary sources.

Results and discussion. The leguminous agriculture in Russia is stable enough to produce food and feed protein preparations from peas and chickpeas with the maximum preservation of biological value, composition, and properties. Peas and chickpeas have a high biological value and are rich in polypeptides, fiber, minerals, vitamins, antioxidants, etc., which are lost during processing. By-products of protein production can be processed using biosynthetic transformation with various types of fungal and/or bacterial enzymes, as well as physical and/or physicochemical methods, to obtain feed or food products with an appropriate yield. A synthesis with enzymes or microorganisms can result in functional foods and feeds fortified with minerals, vitamins, fatty acids, and antioxidants.

Keywords. Legumes, protein preparations, production methods, functional properties, application, by-products

For citation: Kolpakova VV, Kulikov DS, Ulanova RV, Chumikina LV. Food and Feed Protein Preparations from Peas and Chickpeas: Production, Properties, Application. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):333–348. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-333-348>.

Введение

Современные тенденции производства пищи свидетельствуют о том, что цены на животные продукты будут повышаться, а промышленность будет испытывать потребность в новых качественных источниках белка. Число голодающих в мире возрастает. В настоящий момент оно достигло трети всего населения Земли, а часть населения испытывает дефицит полноценного белка [1]. Озабоченность по поводу высокого уровня холестерина в пище, аллергии, высоких цен на продукты питания и негативного воздействия производства некоторых пищевых продуктов на окружающую среду привели к повышению интереса к альтернативным источникам белка [2]. Одним из решений устранения указанных недостатков является получение белковых препаратов из растительного сырья [3].

Бобовые культуры с древних времен используются в рационе людей, включая не употребляющих по тем или иным причинам мясо [2]. Особый интерес вызывает одна из традиционных зернобобовых культур для европейских стран, включая Россию, – горох. Его использование позволяет создавать технологии белковых концентратов, муки, изолятов и побочных продуктов [4]. В последнее время интерес возрос и к другой зернобобовой культуре – нуту. В условиях повторяющейся засухи и глобального потепления данная культура, стойкая к жаркому климату, является отличным дополнением к гороху [5, 6]. Введение бобовых культур в севооборот не является новой концепцией. Бобовые культуры, такие как горох и нут, введены в зерновой севооборот в конце 3000 года до нашей эры [8]. Бобовые играют уникальную

роль в системах органического земледелия благодаря своей глубокой корневой системе и способности фиксировать азот и синтезировать белок.

Актуальность решения проблемы обеспечения населения белком диктует проведение анализа сырьевой базы указанных видов зернобобовых культур, технологических схем производства из них белковых препаратов различных форм, назначений и перспектив применения последних в пищевых продуктах различного состава и свойств.

Целью данной работы стал анализ производства зерна гороха и нута в стране, его качества, включая биологическую ценность, особенностей технологий производства, функциональных свойств, применения белковых продуктов из гороха и нута и возможностей утилизации вторичных продуктов переработки современными биосинтетическими способами.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования стали результаты экспериментальных исследований, сравнение информации в области современных тенденций развития производства, свойств, безопасности, применения пищевых и кормовых белковых препаратов из гороха и нута.

В работе использованы методы поиска, отбора, сортировки, систематизации данных, анализа литературных источников рецензируемых научных журналов, их значимости, достоверности и методы оформления библиографического списка литературы.

Результаты и их обсуждение

Состояние производства зерна гороха и нута в

Российской Федерации. Горох и нут – зернобобовые культуры, имеющие различное продовольственное и кормовое значение. По данным на 2018 г. в РФ собрано 2303 тыс. тонн гороха, что на 30 % меньше предыдущего года. Однако, по сравнению с 2013 г., валовые сборы гороха увеличились на 71 % (рис. 1). Несмотря на падение роста валовых сборов в 2018 г., по России наблюдается рост производства гороха [8, 9]. Посевные площади гороха в 2018 г. находились на уровне 1434,7 тыс. га. За год площади выросли на 8,1 %, за 5 лет – на 29,3 %, за 10 лет – на 119,7 % (на 781,8 тыс. га). Это свидетельствует об их стабильном росте. Крупнейшими по размеру площадей в 2018 г. являлись следующие регионы (тыс. га): Ставропольский край – 200,0, Алтайский край – 92,3, Краснодарский край – 83,1, Ростовская область – 134,7, Омская область – 86,0, что составило 13,9, 6,4, 5,8, 9,4 и 6,0 % от общего количества земель соответственно. Средняя урожайность гороха (ц/га) в 2018 г. составила 16,6, в 2017 г. – 25,3, в 2013 г. – 14,0, в 2008 г. – 19,8, в 2001 г. – 19,7. Анализ среднегодовых показателей урожайности позволяет определить вклад использования передовых технологий в изменение условий выращивания гороха. Среднегодовая урожайность гороха в России в 1991–2000 гг. достигла 11,5 ц/га, в 2001–2010 гг. она возросла до 16,7 ц/га, в 2011–2018 гг. увеличилась до 18,1 ц/га, т. е. наблюдается стабильный рост урожайности гороха. Наибольшая среднегодовая урожайность гороха в 2018 г. отмечена в Орловской (30,8 ц/га), Тамбовской (21,3 ц/га) и Новосибирской (19,2 ц/га) областях, Краснодарском (21,1 ц/га) и Алтайском краях (17,8 ц/га), а также Республике Башкортостан (16,3 ц/га) [8].

Производство нута в 2018 г. в России находилось на уровне 620,4 тыс. тонн, т. е. увеличился урожай, по сравнению с 2017 и 2013 гг., на 48,2 и 22 % соответственно (рис. 1). После падения в 2015 г.

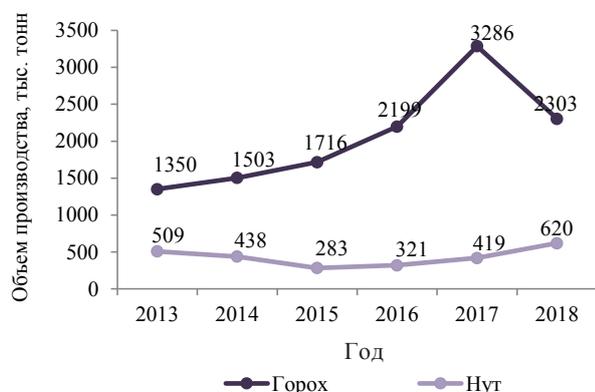


Рисунок 1. Динамика производства гороха и нута в России

Figure 1. Production of peas and chickpeas in Russia

валовой сбор нута постепенно увеличивался в последние годы. Посевные площади нута в 2018 г. составили 851,2 тыс. га. За год они возросли на 71,6 % (на 355,2 тыс. га), за 5 лет – на 26,5 % (на 178,1 тыс. га). Несмотря на некоторые колебания в сторону уменьшения, посевные площади нута имеют тенденцию к росту. Крупнейшими регионами по размеру площадей нута в 2018 г. стали следующие области (тыс. га): Саратовская – 266,6, Волгоградская – 191,3, Оренбургская – 114,6, Самарская – 88,5 и Ростовская – 74,1. Это составило 31,3, 22,5, 13,5, 10,4 и 8,7 % от общей площади посевов нута в России соответственно. Средняя урожайность нута в России в 2018 г. составила 7,6 ц/га убранной площади, что на 17,4 % (на 1,6 ц/га) меньше, чем в 2017 г. По отношению к уровню пятилетней давности урожайность нута снизилась на 3,4 % (на 0,3 ц/га). Это свидетельствует о проблемах в выращивании нута, включая особенности почвенно-климатических условий. Среднегодовая урожайность нута в 2011–2018 гг. находилась на отметках в 8,4 ц/га. Среди регионов наибольшая среднегодовая урожайность нута в 2018 г. отмечена в Воронежской (13,1 ц/га), Белгородской (11,7 ц/га) и Самарской (10,5 ц/га) областях, а также Краснодарском крае (10,4 ц/га) [10]. В Астраханской области разработаны способы внекорневой подкормки нута и фасоли микробиологическими препаратами и стимуляторами роста с урожайностью зерна на уровне 1,8–3,3 т/га. Обоснованы элементы ресурсосберегающей технологии возделывания зернобобовых культур в условиях орошения, обеспечивающие получение высокопродуктивной продукции [6].

Таким образом, опубликованные данные свидетельствуют о наличии сырьевой базы зернобобовых культур в России (2,9–3,7 млн тонн в год) для организации отечественного производства белковых препаратов различных форм, состава и назначений.

Химический состав и медико-социальные аспекты применения белковых препаратов из зерна гороха и нута. Химический состав гороха следующий (в % на сухое вещество): белок – 19,2–26,1, зола – 2,73–3,35, жир – 1,63–8,19, крахмал – 46,4–54,3, сахара – 2,7–5,1 [11, 12]. Нут, по данным различных авторов (в % на СВ), имеет следующий состав: белок – 18–30, зольные элементы – 2,0–5,0, жир – 4,1–8,0, крахмал – 42,0–59,0, клетчатка – 3–5. Колебания содержания веществ зависят от сорта и условий возделывания. Например, для российских сортов «Волжанин» и «Волжанин 50» массовая доля белка составляла (в % на СВ) 24,32–24,54, золы – 2,77–2,91, жира – 4,89–5,89, углеводов – 67,02–67,66 [13]. Зернобобовые культуры обладают большим потенциалом в плане ликвидации голода и сглаживания недостатков белка, который является источником дефицитных незаменимых аминокислот. В отличие от белка зерновых культур белок зернобобовых растений

Таблица 1. Массовая доля незаменимых аминокислот (НАК) в гороховом, нутовом, эталонном белках (г/100 г) и скор НАК, %

Table 1. Mass fraction of essential amino acids in peas, chickpeas, and reference proteins (g/100 g); the rate of essential amino acids, %

НАК	Эталонный белок [14] (1974 г.)	Гороховый белок [16]	Нутовый белок [17]	Скор НАК белка, % (1974 г.)		Эталонный белок [15] (2013 г.)	Скор НАК белка, % (2013 г.)	
				горохового [16]	нутового [17]		горохового [12]	нутового [12]
Trp	1,0	0,94	0,94	94	94	6,6	212	185
Thr	4,0	3,59	3,95	89	98	2,5	160	139
Phe	4,0	3,33	4,14	83	103	3,0	166	120
Leu	7,0	6,58	6,58	94	94	6,1	144	112
Lys	5,5	6,84	7,62	124	138	4,8	145	100
Met+Cys	3,5	2,58	3,12	73	89	2,3	109	100
Phe+Tyr	6,0	7,35	7,58	122	126	4,1	183	196
Val	5,0	3,89	4,06	77	81	4,0	110	86
His	–	–	–	–	–	1,6	144	121

содержит повышенное количество незаменимых аминокислот (НАК) (треонина, изолейцина, лейцина, валина, фенилаланина, лизина, триптофана) [5]. Среди них важную роль играет лизин, который участвует в различных биохимических процессах в организме животных и человека. В гороховом белке лизина содержится около 7 г в 100 г продукта, а в нутовом белке – более 7 г в 100 г (табл. 1). Это делает нут привлекательным сырьем для производства белковых препаратов. Биологическая ценность белков нута иногда превышает ценность гороха. Дефицитными НАК принято считать серосодержащие аминокислоты и валин, если учитывать состав эталонного белка, опубликованного в документах ФАО/ВОЗ в 1974 г., и практически их отсутствие, если использовать данные рекомендаций по составу эталонного белка, предложенные в 2011 г. и опубликованные в 2013 г. [14, 15].

Фракционный состав белка гороха, в зависимости от сорта, колеблется в следующих пределах: альбумины – 8,0–21,5 %, глобулины – 58,6–76,6 %, глютелины – 10,0–19,8 % [16]. Проламины (спирторастворимые) и склеропротеины (нерастворимые) фракции белков находятся в зерне гороха в незначительных количествах [2]. Белки нута, как и белки гороха, представлены альбуминами и глобулинами, массовая доля которых достигает 97 % [17]. По сравнению с другими растительными белками белки из бобовых культур являются гипоаллергенными [18]. Для их выделения предпочитают использование растворов солей (0,5–3,0 моль·л⁻¹).

Наряду с белками, обладающими питательной ценностью, в состав зернобобовых культур входят антиалиментарные вещества – ингибиторы протеаз и лектины. Они понижают питательную ценность и безопасность белковых продуктов [18]. Ингибиторы протеаз подавляют деятельность ферментов желудочно-кишечного тракта, таких как трипсин, химотрипсин,

ферменты плазмы крови. Лектины способны вызывать агглютинацию (склеивание) эритроцитов крови, клеток и бактерий. Агглютинация происходит путем связывания лектинов с углеводными компонентами клеток. Поэтому в технологии производства белковых продуктов из зернобобовых культур требуется использование приемов, соблюдающих санитарно-гигиенические требования по снижению активности антипитательных веществ в готовой продукции. Активность ингибиторов протеаз достигается обработкой паром, вымачиванием, кипячением или другими методами. Условия инактивации лектинов являются более мягкими, чем ингибиторов протеаз, – нагревание при 80 °С.

Зернобобовые культуры (горох, нут) являются источником не только биологически ценных белков, но липидов и углеводов. Они содержат пищевые волокна (клетчатку, гемицеллюлозы, лигнин и др.), холин – компонент лецитина, действующий как нейромедиатор, витамины E, B₁, B₆, A, PP, B₂ и др., а также кальций, калий, магний, железо, цинк, другие макро- и микроэлементы [4, 19]. Медико-социальные аспекты использования белков бобовых культур в пище заключаются в том, что они способствуют улучшению кровоснабжения и рекомендуются для людей, страдающих гипертонией, а также снижают риск сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [20]. Лизин, содержащийся в большом количестве в бобовых культурах, используется при выработке коллагена, необходимого для соединительной ткани организма, и карнитина, играющего важную роль в «сжигании» жира [4]. В данных культурах присутствуют антиоксиданты, которые могут входить в состав некоторых концентратов, влияя на иммунитет организма, делая его сильнее, и выводить из организма токсины, защищая мозг от старения [19, 20].

В фармацевтической промышленности широко используют целый ряд зернобобовых

культур в качестве сырья для получения лечебно-профилактических препаратов направленного действия. Фармакологическими свойствами обладают фитостероиды, лектины гороха и нута, ингибиторы протеиназ и другие биологически активные вещества, которые можно выделить до процесса получения белковых препаратов. Установлено, что семена зернобобовых культур, прежде всего белки гороха и нута, «поглощают» желчные кислоты, холестерин, а ингибиторы протеиназ гороха действуют угнетающе на пролиферацию раковых клеток в культуре *in vitro* [21]. С другой стороны, присутствие ингибиторов в белковых препаратах регламентируется из-за их отрицательного воздействия повышенных количеств на работу желудочно-кишечного тракта.

Экстракты и низкомолекулярные фракции фенолов и танинов из зерна гороха и нута обладают антиоксидантной активностью. Содержащиеся в зерне флавоноиды обладают желчегонным, гипогликемическим, гипоазотермическим, антивирусным действием и противоопухолевой активностью. Ситостерины образуют нерастворимые комплексы, снижающие риск развития сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Сапонины обладают тонизирующим эффектом, положительно влияя на метаболизм липидов, улучшая половую функцию, сперматогенезис, повышая иммунитет и понижая давление крови [22, 23]. Присутствие таких соединений в белковых препаратах должно контролироваться, как и ингибиторов протеиназ, но отдельное их выделение иногда предусматривается при комплексной переработке зерна наряду с производством белковых препаратов.

Соблюдение всех требований к особенностям химического и биохимического состава зерна гороха и нута является обязательным условием развития новых технологий производства белковых препаратов при переработке зернобобовых культур, способствующих расширению ассортимента кормовых и пищевых продуктов как массового, так и функционального, специального или диетического назначения. Одновременно решаются проблемы безопасности и возможности получения различных видов отдельных ингредиентов как биологически активных добавок [4].

Технологические особенности производства белковых продуктов из гороха и нута. Процессы производства белковых продуктов, которые применяют для получения таких белоксодержащих продуктов, как мука, изоляты и концентраты, могут быть классифицированы на «сухие» и «жидкостные» [24]. «Сухие» процессы включают помолы и воздушную сепарацию, предназначенную для разделения частиц зерен бобовых культур по размеру и плотности на две фракции: легкую – белковую, тяжелую – крахмальную. После фракционирования муки методом воздушной сепарации тяжелую

(крахмальную) фракцию повторно сепарируют и получают вторую белковую и более «очищенную» крахмальную фракцию. Эффективность отделения белка от крахмала определяется его процентным содержанием в обеих фракциях от общего содержания белка в муке [2]. Сухие методы имеют преимущество по сравнению с жидкостными методами экстракции. При них сохраняется естественная функциональность белков, на получение требуется меньшее количество энергии и не используется вода. Сухие процессы производства белковой муки или концентратов отличаются относительно низким выходом белков (40–75 %) [25]. Н. Р. Андреев с соавторами пневмокласификацией разделили гороховую муку на белковую фракцию с массовой долей белка 60–40 % и выходом 8,5–9,5 % и на крахмальную фракцию с массовой долей полисахарида 68,5–71,1 % и выходом 90,5–91,5 % [26].

Жидкостные методы обеспечивают получение концентратов с массовой долей белков от 70 до 90 % и изолятов с концентрацией белка выше 90 %. Экстракция белков зависит от химической природы реактива, pH и ионной силы раствора, температуры, размера частиц, отношения растворителя к массе белков и/или к массе сырья. Методы извлечения белков разрабатываются так, чтобы максимально обеспечить их выход без ущерба для функциональности и биологической ценности [2, 19, 27, 28].

Жидкостные методы экстракции белков подразделяются на кислотные, щелочные, солевые, фильтрационные и ферментативные. Одним из первых видов экстракций зарегистрирована кислотная (1820 г.). Для коммерциализации процессов с различными видами кислотной экстракции потребовалось несколько десятилетий. Сегодня данный метод предусматривает использование соляной или серной кислоты, но для получения гидролизованых белков как усилителей вкуса. Небольшую часть препаратов, после основной экстракции белков, с использованием кислот получают в биотехнологических процессах после применения ферментных препаратов или для частичного или полного удаления соли [2, 26]. Некоторые производители удаляют соль нанофильтрацией или с помощью ионообменных смол. При кислотном гидролизе часть незаменимых аминокислот (триптофан, метионин, цистин и цистеин) разрушается, а глутамин и аспарагин могут превращаться в глутаминовую и аспарагиновую кислоты соответственно. Кислотная обработка способна гидролизовать белки на отдельные аминокислоты или пептиды, но с меньшей молекулярной массой.

В процессе щелочного выделения белков муку или другие продукты размолотого зерна обрабатывают растворами гидроксидов металлов с pH 9–11. Затем сепарацией отделяют нерастворимые вещества, осаждают белки в изоэлектрической точке при pH

4,2 и центрифугируют [27]. При щелочной экстракции некоторые ученые предварительно солюбилизируют белки нагреванием с последующим добавлением щелочных агентов (гидроксидов кальция, натрия, калия) и поддержанием температуры до желаемого значения (27–55 °С). Экстракцию или гидролиз продолжают в течение нескольких часов до заданной степени, продукт выпаривают, пастеризуют и сушат распылением [29]. Тем не менее в пищевой промышленности часто используются концентраты, полученные щелочной экстракцией, с содержанием белка более 70 % [2]. Изоляты содержат 90–95 % белков с общим их выходом 60–80 %. При щелочной экстракции или гидролизе некоторые аминокислоты (серин, треонин) могут разрушаться из-за рацемизации аминокислот, приводящей к снижению усвояемости белка. Поскольку, наряду с высоким выходом и качеством, важным фактором для производителей является максимальное сохранение состава и функциональности, то сегодня совершенствование процессов экстракции и улучшения свойств продолжается в направлении замены растворов щелочи другими агентами и приемами [19].

К приемам совершенствования технологий относится солевая экстракция, при которой белки глобулинов отделяют от альбуминов в виде осадка. Обычно в процедуре экстракции белки изначально растворяют в водном растворе 0,3–0,5 моль/дм³ NaCl при нейтральном pH, потом осаждают. Процесс осаждения белка проводят либо разбавлением водой для понижения ионной силы, либо удалением соли диализом [2]. При этом белковые продукты, полученные из зерна нута и гороха с помощью щелочной экстракции, могут иметь более высокую массовую долю белка (85,4 и 88,8 % соответственно), по сравнению с теми, которые получены солевой экстракцией (81,6 и 81,1 % соответственно) [30].

Фильтрация на мембранах с давлением в качестве движущей силы разделения также является методом разделения и выделения белков, представляющим собой их фракционирование. Фильтрацию подразделяют на микро- и ультрафильтрацию. Микрофильтрацию используют для отделения частиц или макромолекул размером более 0,1 мкм, а ультрафильтрацией удаляют частицы в диапазоне 0,001–0,02 мкм. Для повышения количества извлеченного белка часто используют оба метода после щелочной или кислотной экстракции [31]. Выделенные белковые препараты отличаются высокими функциональными свойствами и меньшим количеством антипитательных веществ, по сравнению с теми, которые выделены осаждением в изоэлектрической точке. По данным A. Singhal и др., метод ультрафильтрации обеспечивал высокую массовую долю белка в итоговом продукте 83,9 % против 81,7 % у белкового продукта, полученного в изоэлектрической точке [2].

Одним из современных процессов экстракции белков является ферментация без термической обработки и воздействия кислот или щелочи. Использование бактериальных или грибных протеаз имеет большое значение, поскольку они, инициируя незначительный частичный распад белков, облегчают отделение полипептидов с разной молекулярной массой от остальных компонентов, таких как клетчатка и гемицеллюлозы. Также ферментация способствует уменьшению содержания антипитательных веществ в белковых продуктах и улучшению поглощения минералов путем образования органических кислот, которые образуют с ними растворимые комплексы, делая минералы недоступными для взаимодействия с фитатами [29].

Для получения гидролизованных белков используют ферменты, произведенные из животных, растений и микробных источников. Достижения в методах гидролиза белков чаще получают с протеазами. При этом условия гидролиза мягкие, а ферменты более специфичные. Это позволяет производителям точно контролировать степень гидролиза и адаптировать продукцию для конечных потребителей. Гидролиз белков может быть достигнут с помощью одной ферментативной стадии или ряда последовательных стадий с использованием нескольких ферментов разного принципа действия. Выбор фермента зависит от природы белков и требований пользователя. Например, если белки имеют высокое содержание гидрофобных аминокислот, то фермент должен расщеплять остатки гидрофобных аминокислот. Если белки содержат большое количество гидрофильных аминокислот, то фермент должен активно расщеплять связи, образованные гидрофильными аминокислотами [29].

В течение многих лет бобовые культуры, без разделения на белковые компоненты, использовались для приготовления полезных питательных блюд в сочетании с другими источниками пищи или ингредиентами. Горох и продукты его переработки, смешанные с регионально выращенными зерновыми, сегодня имеют огромное значение для удовлетворения потребностей в питании людей, использующих белково-углеводные диеты [32]. Однако процессы переработки композитного сырья выходят сегодня на новые уровни с использованием различной степени глубины его фракционирования и проектирования новых видов белковых формул и/или композитов. Задача таких композитов – сбалансировать аминокислотный состав рациона, обогатить пищу биологически активными веществами до значений, придающих ей свойства функциональности при сохранении или превышении показателей технологических свойств пищевых продуктов. В основе конструирования композитов лежат математические методы планирования и компьютерные программы, обеспечивающие сбалансированность

аминокислотного или жирнокислотного состава. Так, созданы белковые композиты с продуктами из пшеничных отрубей, аминокислотный состав которых дополнен составом аминокислот бобовых культур, липидный состав – биологически активными жирными кислотами, маслами и лецитином с целью его сбалансирования [33]. Композиты содержали 35–40 % белка, 30–35 % жиров, 40–45 % углеводов, 5–10 % лецитина, витамины Е и С. Изделия легкоусвояемые, удобохраняемые. При этом особенности различных форм связности групп липидов, электрофоретического состава и функциональных свойств белков послужили основой для использования композитов, созданных на основе белковых продуктов из зерновых и бобовых, в производстве хлебобулочных, мучных кондитерских и конфетных изделий для массового и функционального питания.

Другими направлениями использования зернобобовых культур является их совместное использование с вторичными продуктами переработки зерновых культур на крахмал или другие компоненты (экстракты, сыворотка, мезга, мука, отруби, мучка, крупка и т. д.) [34]. В то же время, например, биосинтетические ферментативные процессы между белками различной природы и качества для обеспечения комплементарности аминокислотного состава и направленного конструирования функционально-технологических свойств композитных продуктов пока еще недостаточно изучены. Однако они уже разрабатываются и используются [35, 36].

Таким образом, биотехнологические способы выделения белковых препаратов и конструирования на их основе различного состава композитов достаточно эффективны как с точки зрения сохранения аминокислотного состава, так и с точки зрения регулирования их функциональных свойств. В то же время сведений об использовании энзимов, кроме класса гидролаз и их подклассов (протеазы, карбогидразы, эстеразы), например, для получения высокого выхода белков, массовой доли их в препаратах и надлежащих функциональных свойств из зернобобовых культур, недостаточно. Поэтому дальнейшая разработка экономически эффективных технологических решений экстрагирования и конструирования белков из гороха и нута для внедрения их на отечественных предприятиях с различными видами энзимов, физическими, физико-химическими или иными методами является актуальной и необходимой. Приемы, направленные на снижение количества антипитательных факторов, тормозящих усвоение белков и вызывающих другие негативные процессы в организме, считаются обязательными для получения качественной и безопасной продукции.

Функциональные свойства и применение белковых препаратов из гороха и нута. Функциональные свойства белковых препаратов включают:

растворимость, жироэмульгирующую, водо- и жиродерживающую способности, пенообразование, стабильность пены, гелеобразование и т. д. Свойства определяют конкурентоспособность препаратов на рынке, поскольку они влияют на органолептические и физико-химические показатели продукции. Функциональные свойства концентратов и изолятов из бобовых культур различаются из-за особенностей свойств и структуры белков сырья, способов их экстракции и обработки [13, 18, 28, 32, 37].

Растворимость белка играет важную роль в различных пищевых системах, т. к. от нее зависят другие функциональные свойства (пенообразование, гелеобразование, эмульгирование). Высокая растворимость белка может быть полезна при производстве детского сухого и имитационного молока, которое требует быстрой растворимости. Например, имитационное молоко с изолятом белка чечевицы имело такое же качество, что и молоко, приготовленное из изолята соевого белка, но его качество ниже, чем молоко с изолятом белка гороха [38]. Исследование пяти различных бобовых культур (гороха, нута, фасоли, чечевицы, сои) показало высокую растворимость изолятов, полученных методом щелочной экстракции (85,9 %), по сравнению с теми, которые получали с помощью солевой экстракции (61,5 %). С другой стороны, при щелочной экстракции изолят белка фасоли имел самую низкую растворимость (61,4 %), изоляты сои – наибольшую (96,5 %), а изоляты гороха, чечевицы и нута занимали промежуточное положение по данному показателю (более 90,0 %) [2].

Водосвязывающая и жиросвязывающая способность – это свойства белков связываться с водой и жиром соответственно. Свойства имеют значение для обеспечения качества продукта, срока годности и органолептических характеристик (текстуры, приятного ощущения во рту и т. д.). Неспособность белка связывать воду может привести к хрупкости и сухости продукта [2]. Значения водосвязывающей способности для концентратов белка различных видов и сортов зернобобовых культур (горох, фасоль, чечевица, нут) находятся в диапазоне 0,6–4,9 г/г продукта. Это позволяет предположить, что вид культуры и способ ее обработки влияют на способность поглощать воду. Белки гороха и нута характеризуются повышенной водосвязывающей способностью и растворимостью [4, 28, 29].

Жиросвязывающая способность также зависит от вида, сорта и метода обработки зернобобовой культуры и находится в пределах 1,0–3,96 г/г продукта [2]. Способность связывать воду и жир важна для изготовления пищевых продуктов, таких как мясные продукты, макаронные изделия, печенье и т. д. Возможность добавления нутового белка, например, в говяжий фарш доказана в количестве 15 % без потерь органолептических свойств продукта благодаря

жироэмульгирующей и жиросвязывающей способности. Эмульсии термодинамически нестабильны и со временем разделяются на слои масла и жидкости из-за столкновения и слияния капель. Для получения стабильных эмульсий используются эмульгаторы. Белок как эмульгатор адсорбируется на границе раздела масло-вода с образованием вязкоупругой пленки, окружающей капли масла. Исследования, выполненные для гороха, нута, фасоли, сои и чечевицы, показали, что природа белков и метод их экстракции (щелочная, ультрафильтрационная) влияли на активность, стабильность и другие физико-химические свойства эмульсии [31]. Гороховые белки способны образовывать йогуртовые гели как без дополнительных ингредиентов, так и с их использованием (рапсовое масло, клетчатка). Подкисление делало густыми гели со слабым реологическим поведением. Добавление масла и/или клетчатки повышало концентрацию горохового белка в водной фазе и комплексный модуль сдвига, что положительно отражалось на качестве йогуртов [39].

Функциональные свойства белков могут быть улучшены с помощью модификаций, таких как ограниченный ферментативный гидролиз с использованием протеаз (трипсина, пепсина и др.). Реакция гидролиза приводит к частичному разрыву пептидных связей и раскручиванию белковых молекул, тем самым открывая больше гидрофобных и ионных групп для взаимодействия с каплями масла [2]. Свойства образования и стабильности эмульсии белков зернобобовых культур играют важную роль в формировании ряда таких продуктов питания, как колбасы, мясные аналоги, пирожные, супы и т. д. Наряду с другими ингредиентами (сухая пшеничная клейковина, рис, грибы, тофу и т. д.) белковые препараты из зернобобовых могут имитировать готовые мясные продукты (курицу, говядину, колбасу, бекон и т. д.). Рынок аналогов мяса большой и пользуется спросом среди вегетарианцев, веганов и людей, которые не едят мясные продукты из-за религиозных или культурных обычаев [2]. Наиболее перспективным для применения в мясных аналогах является гороховый белок, структурированный методом высоковлажной экструзии [40].

Пенообразование – способность белка образовывать пену, которая свойственна белковым препаратам. Подобно эмульсиям пены имеют две несмешивающиеся фазы (водную и газовую). Белки в растворе адсорбируются на границе раздела газ-жидкость, образуя вязкоупругую пленку, окружающую пузырьки газа, что помогает противостоять разрыву и слиянию пузырьков. Известны различные пищевые продукты, в которых в качестве стабилизатора используется белок зернобобовых (безе, взбитые десерты, зефир, пастила, муссы, бисквиты и др.) [41]. Доказано, что пенообразующие свойства изолята гороха выше, чем у сухого обезжиренного молока, пшеничной

муки, изолятов соевого белка [42]. Группа ученых при исследовании пенообразующей способности белковых продуктов гороха и нута, полученных методами ультрафильтрации и щелочной экстракции, обнаружила, что способность образовывать пену у образцов концентрата гороха не зависела от метода экстракции [2, 20, 37]. Однако концентрат нута, полученный методом щелочной экстракции, обладал высоким пенообразованием, но низкой стабильностью пены, по сравнению с гороховым концентратом.

В последнее время растет интерес к белку из гороха и нута в составе «новых» продуктов для обеспечения питательной ценности, низкой стоимости, хороших функциональных свойств и полезных эффектов для здоровья [2, 20, 37]. Белковые концентраты и изоляты из гороха применялись в производстве имитационного молока, творога, йогурта, мясных аналогов, колбас, а также специализированных мучных хлебобулочных и макаронных изделий, кексов, бисквитов, напитков, продуктов детского, спортивного питания, комплексных пищевых добавок и др. При этом использование белковых продуктов не оказывало негативного влияния на качественные характеристики готовой продукции [39, 43, 44]. Муку и белковые препараты, полученные из зерна нута и гороха, применяют в композициях с насекомыми, пшеничной и соевой мукой, продуктами животного происхождения в качестве высокобелкового ингредиента для приготовления мучных изделий, творога тофу, комбинированных мясных продуктов, а также модифицируют путем предварительного проращивания зерна для повышения биологической ценности продукта [2, 22, 45–49]. Совершенно новым направлением является создание микробных консорциумов, способных колонизировать продукты на основе гороховых белков и положительно влиять на высвобождение летучих соединений, имитируя различные виды ароматов или, наоборот, уменьшение постороннего сенсорного бобового аромата [50].

Микробиологическая трансформация вторичных продуктов переработки сырья в различные виды добавок. В современных условиях традиционной перерабатывающей промышленности разрабатываются новые технологии и приемы получения кормовых и пищевых продуктов. Одним из таких приемов является вовлечение в схему использования сырья метода биоконверсии вторичных продуктов переработки в пищевые, кормовые и другие виды добавок. Микроорганизмы на определенных составах питательной среды обладают высокой скоростью роста и способностью синтезировать спектр питательных соединений: белков, липидов, углеводов, каротиноидов, витаминов и т. д. [51, 52]. Биомасса микроорганизмов может использоваться в составе рационов сельскохозяйственных животных и птицы для повышения продуктивности, а в питании человека – для

получения новых источников белков. Основой для культивирования биомассы микроорганизмов служит разнообразное сырье и побочные продукты различных отраслей пищевой промышленности и сельского хозяйства. Так, препарат, полученный в процессе ферментации стеблей кукурузы сахаромикетами или консорциумом сахаромикетов *Lactobacillus plantarum* с *Lactobacillus casei*, оказывал положительное влияние на организм животных и окружающую среду [53, 54]. Дрожжи, вводимые в корма кур-бройлеров в количестве 0,8 %, также повышали эффективность использования корма [55]. Изучение микробиоты фекальных образцов на 21 и 42 день, проведенное с помощью полимеразной реакции (ПЦР), выявило положительное влияние добавки на микрофлору кур-бройлеров. Введение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в корма жвачных животных повышало усвояемость волокон и увеличивало популяцию целлюлолитических бактерий *Ruminococcus flavefaciens* рубца [56, 57]. Также доказано, что добавление в рацион крупного рогатого скота *S. cerevisiae* и/или *Aspergillus oryzae* повышало надои и жирность молока [58–61].

Известны кормовые добавки, полученные из трудно перевариваемого кофейного шлама, из спиртовой барды с пшеничными отрубями при совместном выращивании на них дрожжей *Saccharomyces diastaticus* и каротинообразующих дрожжей *Rhodospiridium species* с повышенным на 41 % содержанием незаменимых аминокислот [62, 63]. Получена кормовая добавка с каротиноидами и липидами выращиванием дрожжей *Rhodospiridium glutinis*, *Rhodospiridium mucilaginosum* и *Rhodospiridium gracilis* на среде, состоящей из депротеинизированных сточных вод переработки картофеля и отходов глицерина [64]. На жидких отходах, образующихся при ферментации патоки сахарного тростника и дистилляции спирта ликероводочных заводов с полной утилизацией моносахаридов, органических кислот, меланоидинов в белковые и липидные метаболиты, получена кормовая грибная биомасса с *Aspergillus niger* с выходом 35 г/дм³ [64]. В работе В. А. Karetkin и др. показано, что продукты переработки зерна пшеницы, при обработке их протеолитическими ферментными препаратами, могут быть использованы в качестве питательной среды при культивировании лактобактерий и бифидобактерий для функциональных продуктов питания [65].

Сведения относительно переработки вторичных продуктов, образующихся из зернобобовых культур, по данному направлению пока ограничены, несмотря на перспективность данного направления. Так, на основе побочного продукта, образующегося при экстракции горохового белка, с использованием мицелиальных грибов синтезирован пищевой микопротеиновый концентрат для «замены» мяса. Исследования проведены с пятью штаммами грибов (*A. oryzae*, *Fusarium venenatum*, *Monascus*

purpureus, *Neisseria intermedia*, *Rhizopus oryzae*) ферментацией при 35 ± 2 °С в течение 48 ч. Содержание белка в биомассе грибов достигало 43,13–59,74 %. Показано, что внедрение данного процесса в переработку гороха может обеспечить получение около 680 кг грибной биомассы с 38 % дополнительного белка на каждую 1 тонну побочного продукта [66, 67]. Доказана возможность биоконверсии вторичного продукта переработки зерна тритикале на крахмал (экстракта) с гороховой мукой с получением кормового концентрата с массовой долей (в % на СВ): белка – 55,8–75,1, углеводов – 18,9–32,83, жира – 3,56–13,56, золы – 2,05–8,27 [36]. Отобраны культуры микроорганизмов, способные активно развиваться на субстрате. Из них составлена симбиотическая закваска из нового штамма гриба *Geotrichum candidum* 977 и дрожжей *S. cerevisiae* 121, обеспечивающая рост биомассы на углевод- и азотсодержащей среде. Сыворотка, образующаяся после выделения концентрированных белков из композиции с гороховой мукой, являлась доброкачественной для питательных сред микробиологического синтеза с грибом *G. candidum* 977 и дрожжами *S. cerevisiae* 121.

Выводы

Данные анализа количества посевных площадей и урожайности бобовых культур в России свидетельствуют о наличии сырьевой базы зернобобовых культур (2,9–3,7 млн тонн в год). Это позволит организовывать с ее использованием отечественное производство белковых препаратов. Белки гороха и нута имеют высокую биологическую ценность, позволяющую обеспечивать комплементарность состава незаменимых аминокислот с аминокислотами белков зерновых культур при их совместном применении.

Для ликвидации дефицита белков в рационе человека в качестве альтернативы белкам животного происхождения разрабатываются различные технологии выделения белков из зернобобовых культур с использованием современных биотехнологических и физико-химических способов. К таким способам относятся процессы с ферментными препаратами, исключающие разрушение структуры и состава белковых фракций сырья и сохраняющие функциональные свойства, в отличие от процессов с кислотами и щелочами.

Зернобобовые культуры, наряду с белками, содержат такие полезные компоненты, как клетчатка, минеральные вещества, витамины и антиоксиданты, способные взаимодействовать с полипептидами, понижать их выход и входить в состав белковых препаратов, хоть и в незначительном количестве. Для получения сбалансированного рациона человека и животных в состав белковых препаратов перспективно включение минеральных веществ, витаминов, жирных

кислот, антиоксидантов и т. д. в количествах, удовлетворяющих требованиям функциональных продуктов питания. Например, с помощью синтеза с энзимами или микроорганизмами получать белковые композиты.

Наращивать производство пищевых и кормовых белковых концентратов из продуктов переработки зерна гороха и нута на белки и крахмал с максимальным сохранением их биологической ценности и утилизацией вторичных продуктов переработки (сыворотка, твердые остатки и т. д.) перспективно с различными видами грибных и/или бактериальных энзимов и микроорганизмов на имеющейся сырьевой базе.

Критерии авторства

В. В. Колпакова планировала, анализировала и описывала результаты публикаций. Д. С. Куликов осуществлял сбор литературных данных, написание

и оформление статьи. Р. В. Уланова и Л. В. Чумикина в равной степени участвовали в сборе литературных источников и обсуждении результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.V. Kolpakova designed the research and analyzed the available publications. D.S. Kulikov collected literary data and wrote the manuscript. R.V. Ulanova and L.V. Chumikina collected literary sources and discussed the results.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Driving commitment for nutrition within the UN Decade of Action on Nutrition. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. 12 p.
2. Pulse proteins: from processing to structure-function relationships / A. Singhal [et al.] // Grain legumes / A. Goyal editor. InTech, 2016. P. 55–78. <https://doi.org/10.5772/64020>.
3. Innovative foods / P. Eisner [et al.] // Biological transformation / R. Neugebauer editor. Berlin, Heidelberg: Springer Vieweg, 2019. P. 39–65. (In Ger.). https://doi.org/10.1007/978-3-662-58243-5_4.
4. Pruter T. Alternative crops for a traditional potato starch producer // 69th Starch Convention. Detmold, 2018. 35 p.
5. Зернобобовые культуры – важный фактор устойчивого экологически ориентированного сельского хозяйства / В. И. Зотиков [и др.] // Зернобобовые и крупяные культуры. 2016. Т. 17. № 1. С. 6–13.
6. Бондаренко А. Н. Влияние ростостимулирующих препаратов на продуктивность и экономическую эффективность нута в условиях светло-каштановых солонцеватых почв Астраханской области // Аграрная Россия. 2019. № 1. С. 24–26. <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2019-1-24-26>.
7. Singh A., Chahal H. S. Organic grain legumes in India: potential production strategies, perspective, and relevance // Legume crops – prospects, production and uses / M. Hasanuzzaman editor. IntechOpen, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93077>.
8. Зотиков В. И., Сидоренко В. С., Грядунова Н. В. Развитие производства зернобобовых культур в Российской Федерации // Зернобобовые и крупяные культуры. 2018. Т. 26. № 2. С. 4–10. <https://doi.org/10.24411/2309-348X-2018-10008>.
9. Посевные площади, валовые сборы и урожайность гороха в России. Итоги 2018 года. URL: <https://www.agro-al.ru/novosti-otrasli/Posevnye-ploshchadi-valovye-sbory-i-urozhaynost-gorokha-v-Rossii-Itogi-2018-goda> (дата обращения: 15.12.2020).
10. Посевные площади, валовые сборы и урожайность нута в России. Итоги 2018 года. URL: <https://ab-centre.ru/news/posevnye-ploshchadi-valovye-sbory-i-urozhaynost-nuta-v-rossii-itogi-2018-goda> (дата обращения: 15.12.2020).
11. Оценка перспективных сортообразцов гороха по качеству и взаимосвязь биохимических показателей с урожайностью и массой 1000 зерен / И. С. Браилова [и др.] // Зернобобовые и крупяные культуры. 2020. Т. 35. № 3. С. 20–25. <https://doi.org/10.24411/2309-348x-2020-11180>.
12. Зиядов Э. О., Орипов Д. М., Вафоева М. Б. Показатели качества сортов и сортообразцов гороха на богаре // Инновационная наука. 2019. № 10. С. 23–26.
13. Biotechnological process for producing protein products from chickpeas with a high biological value / D. Kulikov [et al.] // International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management. 2020. Vol. 2020. № 6.1. P. 175–181. <https://doi.org/10.5593/sgem2020/6.1/s25.023>.
14. Энергетические и белковые потребности: доклад Специального объединенного комитета экспертов ФАО/ВОЗ. М.: Медицина, 1974. 143 с.
15. Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. 79 p.

16. Хабибулина Н. В., Красноштанова А. А., Адучиева В. Д. Получение очищенной альбуминовой фракции гороховой муки методом ультраконцентрирования с использованием плоских мембран // *Argiogi*. Серия: Естественные и технические науки. 2016. № 1. С. 1–10.
17. Панкина И. А., Борисова Л. М. Исследование набухания и растворимости сухих веществ семян зернобобовых культур // *Научный журнал НИУ ИТМО*. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2016. № 2. С. 13–20.
18. Roy F., Boye J. I., Simpson B. K. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil // *Food Research International*. 2010. Vol. 43. № 2. P. 432–442. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002>.
19. Dhaliwal S. K., Salaria P., Kaushik P. Pea seed proteins: a nutritional and nutraceutical update // *Grain and seed proteins functionality* / J. C. Jimenez-Lopez editor. IntechOpen, 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.95323>.
20. Antioxidant properties, ACE/renin inhibitory activities of pigeon pea hydrolysates and effects on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats / A. I. Olagunju [et al.] // *Food Science and Nutrition*. 2018. Vol. 6. № 7. P. 1879–1889. <https://doi.org/10.1002/fsn3.740>.
21. Gorecka D., Korezak J., Flaczyk E. Adsorption of bile acids and cholesterol by dry grain legume seeds // *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2003. Vol. 12/53. № 1. P. 69–73.
22. Serventi L., Vittadini E., Vodovotz Y. Effect of chickpea protein concentrate on the loaf quality of composite soy-wheat bread // *LWT – Food Science and Technology*. 2018. Vol. 89. P. 400–402. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.012>.
23. Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates / C. Torres-Fuentes [et al.] // *Food Chemistry*. 2015. Vol. 180. P. 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.046>.
24. Tian S., Kyle W. S. A., Small D. M. Pilot scale isolation of proteins from field peas (*Pisum sativum* L.) for use as food ingredients // *International Journal of Food Science and Technology*. 1999. Vol. 34. № 1. P. 33–39. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1999.00236.x>.
25. Mondor M. Pea // *Pulses* / A. Manickavasagan, P. Thirunathan editors. Cham: Springer, 2020. P. 245–273. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41376-7_14.
26. Изучение процесса пневмокласификации гороховой муки на экспериментальной установке / Н. Р. Андреев [и др.] // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2017. № 11. С. 43–48.
27. Karaca A. C. Modification of legume proteins for improved functionality // *Grain and seed proteins functionality* / J. C. Jimenez-Lopez editor. IntechOpen, 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96274>.
28. Pasupuleti V. K., Braun S. State of the art manufacturing of protein hydrolysates // *Protein hydrolysates in biotechnology* / V. K. Pasupuleti, A. L. Demain editors. Dordrecht: Springer, 2010. P. 11–32. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2.
29. Karaca A. C., Low N., Nickerson M. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction // *Food Research International*. 2011. Vol. 44. № 9. P. 2742–2750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>.
30. Impact of impurities on carbon molecular sieve membranes for application in olefins units / M. Brayden [et al.] // *AIChE Ethylene Producers Conference Proceedings*. San Antonio, 2017. P. 454–465.
31. Boye J., Zare F., Pletch A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed // *Food Research International*. 2010. Vol. 43. № 2. P. 414–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>.
32. Белок из пшеничных отрубей VI. Проектирование сбалансированного состава пищевых композитов белково-жировой природы / В. В. Колпакова [и др.] // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2001. № 11. С. 42–47.
33. Зерновые композиты с комплементарным аминокислотным составом для пищевых и кормовых целей / В. В. Колпакова [и др.] // *Техника и технология пищевых производств*. 2019. Т. 49. № 2. С. 301–311. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-301-311>.
34. Composition on the basis of plantbased proteins with the use of transglutaminase / V. Kolpakova [et al.] // *18 International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM: Conference proceedings*. Albena, 2018. P. 119–125. <https://doi.org/10.5593/sgem2018/6.2/S25.016>.
35. Гайворонская И. С., Колпакова В. В. Белковые композиции из зерновых культур с повышенной биологической ценностью, синтезированные с ферментом транскляминазой // *Пищевая промышленность*. 2019. № 4. С. 28–29. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10013>.
36. Functional properties of chickpea protein isolates dried by refractance window drying / İ. Tontul [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 109. P. 1253–1259. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.135>.
37. Егорова Е. Ю. «Немолочное молоко»: обзор сырья и технологий // *Ползуновский вестник*. 2018. № 3. С. 25–34. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2018.03.005>.
38. Klost M., Drusch S. Structure formation and rheological properties of pea protein-based gels // *Food Hydrocolloids*. 2019. Vol. 94. P. 622–630. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.030>.
39. Osen R., Schweiggert-Weisz U. High-moisture extrusion: meat analogues // *Reference Module in Food Science*. 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03099-7>.

40. Economic effect of innovative flour-based functional foods production / V. G. Lobanov [et al.] // Foods and Raw Materials. 2018. Vol. 6. № 2. P. 474–482. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-474-482>.
41. Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality / A. C. Y. Lam [et al.] // Food Reviews International. 2018. Vol. 34. № 2. P. 126–147. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1242135>.
42. Rheological and microstructural characterization of batters and sponge cakes fortified with pea proteins / M. Assad-Bustillos [et al.] // Food Hydrocolloids. 2020. Vol. 101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105553>.
43. Bajaj P. R., Tang J., Sablani S. S. Pea protein isolates: Novel wall materials for microencapsulating flaxseed oil // Food and Bioprocess Technology. 2015. Vol. 8. № 12. P. 2418–2428. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1589-6>.
44. Казанцева И. Л., Кулеватова Т. Б., Злобина Л. Н. К вопросу применения муки из зерна нута в технологии мучных кондитерских изделий // Зернобобовые и крупяные культуры. 2018. Т. 25. № 1. С. 76–81.
45. Shrivastava C., Chakraborty S. Bread from wheat flour partially replaced by fermented chickpea flour: Optimizing the formulation and fuzzy analysis of sensory data // LWT – Food Science and Technology. 2018. Vol. 90. P. 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.019>.
46. Мирошник А. С., Горлов И. Ф., Сложенкина М. И. Разработка технологии мясного рубленого полуфабриката полифункциональной направленности // Хранение и переработка сельхозсырья. 2017. № 11. С. 26–29.
47. Use of insects and pea powder as alternative protein and mineral sources in extruded snacks / P. Garcia-Segovia [et al.] // European Food Research and Technology. 2020. Vol. 246. № 4. P. 703–712. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03441-y>.
48. Physical and sensory characterisation of noodles with added native and denatured pea protein isolate / M. S. M. Wee [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 294. P. 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.042>.
49. Design of microbial consortia for the fermentation of pea-protein-enriched emulsions / S. Ben-Harb [et al.] // International Journal of Food Microbiology. 2019. Vol. 293. P. 124–136. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.012>.
50. Application of de-lignified cellulose to enhance intracellular and extracellular lipid production from oleaginous yeast using acetic acid / J. C. Xu [et al.] // Bioresource Technology. 2019. Vol. 293. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122032>.
51. Valorization of crude glycerol, residue deriving from biodiesel- production process, with the use of wild-type new isolated Yarrowia lipolytica strains: Production of Metabolites with Pharmaceutical and Biotechnological Interest / D. Sarris [et al.] // Current Pharmaceutical Biotechnology. 2019. Vol. 20. № 10. P. 881–894. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190211145215>.
52. Production of carotenoids by *Rhodotorula toruloides* isolated from Brazilian tropical savannah / W. R. M. Machado [et al.] // International Food Research Journal. 2019. Vol. 26. № 4. P. 1259–1267.
53. Sweet corn stalk treated with *Saccharomyces cerevisiae* alone or in combination with *Lactobacillus plantarum*: Nutritional composition, fermentation traits and aerobic stability / X. L. Zhou [et al.] // Animals. 2019. Vol. 9. № 9. <https://doi.org/10.3390/ani9090598>.
54. Efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* NBRC 0203, *Lactobacillus plantarum* NBRC 3070 and *Lactobacillus casei* NBRC 3425 as a technological additive (silage additive) for all animal species / V. Bampidis [et al.] // EFSA Journal. 2019. Vol. 17. № 4. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5700>.
55. Effects of yeast cultures with different fermentation times on the growth performance, caecal microbial community and metabolite profile of broilers / Z. Sun [et al.] // Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2020. Vol. 104. № 1. P. 212–223. <https://doi.org/10.1111/jpn.13241>.
56. Effects of yeast culture on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microbiota / Y. G. Zhen [et al.] // South African Journal of Animal Science. 2019. Vol. 49. № 1. P. 99–108. <https://doi.org/10.4314/sajas.v49i1.12>.
57. Live yeast supplementation improves rumen fibre degradation in cattle grazing tropical pastures throughout the year / D. O. Sousa [et al.] // Animal Feed Science and Technology. 2018. Vol. 236. P. 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.015>.
58. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation on intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield in Nili-Ravi buffaloes / M. I. Anjum [et al.] // Iranian Journal of Veterinary Research. 2018. Vol. 19. № 2. P. 96–100. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2018.4852>.
59. Effect of indigenously isolated *Saccharomyces cerevisiae* probiotics on milk production, nutrient digestibility, blood chemistry and fecal microbiota in lactating dairy cows / G. Shakira [et al.] // Journal of Animal and Plant Sciences. 2018. Vol. 28. № 2. P. 407–420.
60. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* live cells and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the lactational performance of dairy cows / S. M. A. Sallam [et al.] // Animal Biotechnology. 2020. Vol. 31. № 6. P. 491–497. <https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1625783>.
61. Кофейный шлам как сырье для получения кормовой добавки / Е. В. Башашкина [и др.] // Успехи химии и химической технологии. 2008. Т. 22. № 13 (93). С. 38–40.
62. Получение биологически активных добавок на основе обогащенной дрожжевой биомассы / Е. М. Серба [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2018. № 2. С. 74–79.

63. Effect of exogenous stress factors on the biosynthesis of carotenoids and lipids by *Rhodotorula* yeast strains in media containing agroindustrial waste / A. M. Kot [et al.] // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2019. Vol. 35. № 10. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2732-8>.

64. Production of *Aspergillus niger* biomass on sugarcane distillery wastewater: physiological aspects and potential for biodiesel production / G. ChuppaTostain [et al.] // Fungal Biology and Biotechnology. 2018. Vol. 5. № 1. P. 6–8. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0045-6>.

65. Heterogeneous submerged fermentation of a probiotic in media based on wheat flour and by-products of wheat starch production / B. A. Karetkin [et al.] // International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management. 2017. Vol. 17. № 61. P. 711–718. <https://doi.org/10.5593/sgem2017/61/S25.093>.

66. Veganmycoprotein concentrate from peaprocessing industry byproduct using edible filamentous fungi / P. F. Souza Filho [et al.] // Fungal Biology and Biotechnology. 2018. Vol. 5. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0050-9>.

References

1. Driving commitment for nutrition within the UN Decade of Action on Nutrition. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2018. 12 p.

2. Singhal A, Karaca AC, Tyler R, Nickerson M. Pulse proteins: from processing to structure-function relationships. In: Goyal A, editor. Grain legumes. InTech; 2016. pp. 55–78. <https://doi.org/10.5772/64020>.

3. Eisner P, Weisz U, Osen R, Mittermaier S. Innovative foods. In: Neugebauer R, editor. Biological transformation. Berlin, Heidelberg: Springer Vieweg; 2019. pp. 39–65. (In Ger.). https://doi.org/10.1007/978-3-662-58243-5_4.

4. Pruter T. Alternative crops for a traditional potato starch producer. 69th Starch Convention; 2018; Detmold. Detmold; 2018. p. 35.

5. Zotikov VI, Naumkina TS, Sidorenko VS, Gryadunova NV, Naumkin VV. Pulses as an important factor of sustainable ecologically oriented agriculture. Legumes and Groat Crops. 2016;17(1):6–13. (In Russ.).

6. Bondarenko AN. Effect of growth-stimulating preparations on productivity and economic efficiency of chickpea under the conditions of light chestnut saline soils of the Astrakhan oblast'. Agrarian Russia. 2019;(1):24–26. (In Russ.). <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2019-1-24-26>.

7. Singh A, Chahal HS. Organic grain legumes in India: potential production strategies, perspective, and relevance. In: Hasanuzzaman M, editor. Legume crops – prospects, production and uses. IntechOpen; 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93077>.

8. Zotikov VI, Sidorenko VS, Gryadunova NV. Development of production of leguminous crops in the Russian Federation. Legumes and Groat Crops. 2018;26(2):4–10. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2309-348X-2018-10008>.

9. Posevnye ploschadi, valovye sbory i urozhaynost' gorokha v Rossii. Itogi 2018 goda [Acreage, gross harvest, and yield of peas in Russia in 2018] [Internet]. [cited 2020 Dec 15]. Available from: <https://www.agro-al.ru/novosti-otrasli/Posevnye-ploschadi-valovye-sbory-i-urozhaynost-gorokha-v-Rossii-Itogi-2018-goda>.

10. Posevnye ploschadi, valovye sbory i urozhaynost' nuta v Rossii. Itogi 2018 goda [Acreage, gross harvest, and yield of chickpeas in Russia in 2018] [Internet]. [cited 2020 Dec 15]. Available from: <https://ab-centre.ru/news/posevnye-ploschadi-valovye-sbory-i-urozhaynost-nuta-v-rossii-itogi-2018-goda>.

11. Brailova IS, Filatova IA, Yuryeva NI, Belousova YuV. Evaluation of perspective pea varieties by quality and relationship of biochemical indicators with yield and weight of 1000 grains. Legumes and Groat Crops. 2020;35(3):20–25. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2309-348x-2020-11180>.

12. Ziyadov EhO, Oripov DM, Vafoeva MB. Pokazateli kachestva sortov i sortoobraztsov gorokha na bogare [Quality indicators of varieties and cultivars of peas on bogara]. Innovation Science. 2019;(10):23–26. (In Russ.).

13. Kulikov D, Kolpakova V, Slozhenkina M, Ulanova R, Chumikina L. Biotechnological process for producing protein products from chickpeas with a high biological value. International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management. 2020;2020(6.1):175–181. <https://doi.org/10.5593/sgem2020/6.1/s25.023>.

14. Ehnergeticheskie i belkovye potrebnosti: доклад Spetsial'nogo ob"edinennogo komiteta ehkspertov FAO/VOZ [Energy and Protein Requirements: Report of the FAO/WHO Ad Hoc Joint Expert Committee]. Moscow: Meditsina; 1974. 143 p. (In Russ.).

15. Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2013. 79 p.

16. Khabibulina NV, Krasnostanova AA, Aduchieva VD. Obtaining of purified albumin fraction from pea flour using flat membranes ultrafiltration. Apriori. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki [Apriori. Series: Natural and Technical Sciences]. 2016;(1):1–10. (In Russ.).

17. Pankina IA, Borisova LM. Grain legumes' swelling and solubility of their dry solids. Scientific Journal NRU ITMO. Processes and Food Production Equipment. 2016;(2):13–20. (In Russ.).

18. Roy F, Boye JI, Simpson BK. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. Food Research International. 2010;43(2):432–442. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002>.

19. Dhaliwal SK, Salaria P, Kaushik P. Pea seed proteins: a nutritional and nutraceutical update. In: Jimenez-Lopez JC, editor. *Grain and seed proteins functionality*. IntechOpen; 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.95323>.
20. Olagunju AI, Omoba OS, Enujiugha VN, Alashi AM, Aluko RE. Antioxidant properties, ACE/renin inhibitory activities of pigeon pea hydrolysates and effects on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Food Science and Nutrition*. 2018;6(7):1879–1889. <https://doi.org/10.1002/fsn3.740>.
21. Gorecka D, Korezak J, Flaczyk E. Adsorption of bile acids and cholesterol by dry grain legume seeds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2003;12/53(1):69–73.
22. Serventi L, Vittadini E, Vodovotz Y. Effect of chickpea protein concentrate on the loaf quality of composite soy-wheat bread. *LWT – Food Science and Technology*. 2018;89:400–402. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.012>.
23. Torres-Fuentes C, Contreras MDM, Recio I, Alaiz M, Vioque J. Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates. *Food Chemistry*. 2015;180:194–202. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.046>.
24. Tian S, Kyle WSA, Small DM. Pilot scale isolation of proteins from field peas (*Pisum sativum* L.) for use as food ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*. 1999;34(1):33–39. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1999.00236.x>.
25. Mondor M. Pea. In: Manickavasagan A, Thirunathan P, editors. *Pulses*. Cham: Springer; 2020. pp. 245–273. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41376-7_14.
26. Andreev NR, Kovalyonok VA, Nosovskay LP, Adikaeva LV, Goldstein VG. The study of the process of air classification of pea flour in a pilot plant. *Storage and Processing of Farm Products*. 2017;(11):43–48. (In Russ.).
27. Karaca AC. Modification of legume proteins for improved functionality. In: Jimenez-Lopez JC, editor. *Grain and seed proteins functionality*. IntechOpen; 2021. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96274>.
28. Pasupuleti VK, Braun S. State of the art manufacturing of protein hydrolysates. In: Pasupuleti VK, Demain AL, editors. *Protein hydrolysates in biotechnology*. Dordrecht: Springer; 2010. pp. 11–32. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2.
29. Karaca AC, Low N, Nickerson M. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*. 2011;44(9):2742–2750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>.
30. Brayden M, Xu L, Barbay G, Koros WJ. Impact of impurities on carbon molecular sieve membranes for application in olefins units. *AIChE Ethylene Producers Conference Proceedings*; 2017; San Antonio. San Antonio: American Institute of Chemical Engineers; 2017. p. 454–465.
31. Boye J, Zare F, Pletch A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*. 2010;43(2):414–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>.
32. Kolpakova VV, Martynova IV, Severinenko SM, Nechaev AP, Berman YuK, Belok iz pshenichnykh otrubey VI. Proektirovanie sbalansirovannogo sostava pishchevykh kompozitov belkovo-zhirovoy prirody [Wheat bran VI protein. Designing a balanced composition of protein-fat food composites]. *Storage and Processing of Farm Products*. 2001;(11):42–47. (In Russ.).
33. Kolpakova VV, Ulanova RV, Kulikov DS, Gulakova VA, Kadieva AT. Grain composites with a complementary amino acid composition in food and fodder. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(2):301–311. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-301-311>.
34. Kolpakova V, Gaivoronskaya E, Gulakova V, Sardzhveladze A. Composition on the basis of plantbased proteins with the use of transglutaminase. *18 International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM: Conference proceedings*; 2018; Albena. Albena: STEF92 Technology; 2018. p. 119–125. <https://doi.org/10.5593/sgem2018/6.2/S25.016>.
35. Gaivoronskaya IS, Kolpakova VV. Creation of multicomponent protein compositions with increased biological value with the use of transglutaminase. *Food Industry*. 2019;(4):28–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10013>.
36. Tontul İ, Kasimoglu Z, Asik S, Atbakan T, Topuz A. Functional properties of chickpea protein isolates dried by refractance window drying. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;109:1253–1259. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.135>.
37. Egorova EYu. “Nemolochnoe moloko”: obzor syr’ya i tekhnologiy [“Non-dairy milk”: an overview of raw materials and technologies]. *Polzunovskiy Vestnik*. 2018;(3):25–34. (In Russ.). <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2018.03.005>.
38. Klost M, Drusch S. Structure formation and rheological properties of pea protein-based gels. *Food Hydrocolloids*. 2019;94:622–630. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.030>.
39. Osen R, Schweiggert-Weisz U. High-moisture extrusion: meat analogues. *Reference Module in Food Science*. 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03099-7>.
40. Lobanov VG, Slepokurova YuI, Zharkova IM, Koleva TN, Roslyakov YuF, Krasteva AP. Economic effect of innovative flour-based functional foods production. *Foods and Raw Materials*. 2018;6(2):474–482. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-474-482>.
41. Lam ACY, Can Karaca A, Tyler RT, Nickerson MT. Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Reviews International*. 2018;34(2):126–147. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1242135>.

42. Assad-Bustillos M, Jonchère C, Garnier C, Réguerre AL, Della Valle G. Rheological and microstructural characterization of batters and sponge cakes fortified with pea proteins. *Food Hydrocolloids*. 2020;101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105553>.
43. Bajaj PR, Tang J, Sablani SS. Pea protein isolates: Novel wall materials for microencapsulating flaxseed oil. *Food and Bioprocess Technology*. 2015;8(12):2418–2428. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1589-6>.
44. Kazantseva IL, Kulevatova TB, Zlobina LN. About of chickpea flour application in flour confectionery technology. *Legumes and Groat Crops*. 2018;25(1):76–81. (In Russ.).
45. Shrivastava C, Chakraborty S. Bread from wheat flour partially replaced by fermented chickpea flour: Optimizing the formulation and fuzzy analysis of sensory data. *LWT – Food Science and Technology*. 2018;90:215–223. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.019>.
46. Miroshnik AS, Gorlov IF, Stozhenkina MI. Development of technology of functional chopped meat semi-finished product. *Storage and Processing of Farm Products*. 2017;(11):26–29. (In Russ.).
47. Garcia-Segovia P, Igual M, Noguerol AT, Martínez-Monzó J. Use of insects and pea powder as alternative protein and mineral sources in extruded snacks. *European Food Research and Technology*. 2020;246(4):703–712. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03441-y>.
48. Wee MSM, Loud DE, Tan VWK, Forde CG. Physical and sensory characterisation of noodles with added native and denatured pea protein isolate. *Food Chemistry*. 2019;294:152–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.042>.
49. Ben-Harb S, Saint-Eve A, Panouillé M, Souchon I, Bonnarme P, Dugat-Bony E, et al. Design of microbial consortia for the fermentation of pea-protein-enriched emulsions. *International Journal of Food Microbiology*. 2019;293:124–136. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.012>.
50. Xu JC, Zhang M, He T, Luo H, Peng K, Huang X, et al. Application of de-lignified cellulose to enhance intracellular and extracellular lipid production from oleaginous yeast using acetic acid. *Bioresource Technology*. 2019;293. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122032>.
51. Sarris D, Sampani Z, Rapti A, Papanikolaou S. Valorization of crude glycerol, residue deriving from biodiesel- production process, with the use of wild-type new isolated *Yarrowia lipolytica* strains: Production of Metabolites with Pharmaceutical and Biotechnological Interest. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2019;20(10):881–894. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190211145215>.
52. Machado WRM, Silva LG, Vanzela ESL, Del Bianchi VL. Production of carotenoids by *Rhodotorula toruloides* isolated from Brazilian tropical savannah. *International Food Research Journal*. 2019;26(4):1259–1267.
53. Zhou XL, Ouyang Z, Zhang X, Wei Y, Tang S, Ma Z, et al. Sweet corn stalk treated with *Saccharomyces cerevisiae* alone or in combination with *Lactobacillus plantarum*: Nutritional composition, fermentation traits and aerobic stability. *Animals*. 2019;9(9). <https://doi.org/10.3390/ani9090598>.
54. Bampidis V, Azimonti G, de Lourdes Bastos M, Christensen H, Dusemund B, Kouba M, et al. Efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* NBRC 0203, *Lactobacillus plantarum* NBRC 3070 and *Lactobacillus casei* NBRC 3425 as a technological additive (silage additive) for all animal species. *EFSA Journal*. 2019;17(4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5700>.
55. Sun Z, Wang T, Aschalew ND, Zhao W, Chen X, Zhang X-F, et al. Effects of yeast cultures with different fermentation times on the growth performance, caecal microbial community and metabolite profile of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2020;104(1):212–223. <https://doi.org/10.1111/jpn.13241>.
56. Zhen YG, Zhao W, Chen X, Li LJ, Lee HG, Zhang XF, et al. Effects of yeast culture on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microbiota. *South African Journal of Animal Science*. 2019;49(1):99–108. <https://doi.org/10.4314/sajas.v49i1.12>.
57. Sousa DO, Oliveira CA, Velasquez AV, Souza JM, Chevaux E, Mari LJ, et al. Live yeast supplementation improves rumen fibre degradation in cattle grazing tropical pastures throughout the year. *Animal Feed Science and Technology*. 2018;236:149–158. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.015>.
58. Anjum MI, Javaid S, Ansar MS, Ghaffar A. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation on intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield in Nili-Ravi buffaloes. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2018;19(2):96–100. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2018.4852>.
59. Shakira G, Qubtia M, Ahmed I, Hasan F, Anjum MI, Imran M. Effect of indigenously isolated *Saccharomyces cerevisiae* probiotics on milk production, nutrient digestibility, blood chemistry and fecal microbiota in lactating dairy cows. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 2018;28(2):407–420.
60. Sallam SMA, Abdelmalek MLR, Kholif AE, Zahran SM, Ahmed MH, Zeweil HS, et al. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* live cells and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the lactational performance of dairy cows. *Animal Biotechnology*. 2020;31(6):491–497. <https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1625783>.
61. Bashashkina EV, Pashinina EA, Pashinin AE, Suyasov NA. Kofeynyy shlam kak syr'e dlya polucheniya kormovoy dobavki [Coffee sludge as a raw material for a feed additive]. *Uspekhi khimii i khimicheskoy tekhnologii* [Advances in chemistry and chemical technology]. 2008;22(13)(93):38–40. (In Russ.).
62. Serba EM, Sokolova EN, Fursova NA, Volkova GS, Borshheva YuA, Kurbatova EI, et al. Obtaining biologically active additives based on enriched yeast biomass. *Storage and Processing of Farm Products*. 2018;(2):74–79. (In Russ.).

63. Kot AM, Błażej S, Kieliszek M, Gientka I, Bryś J, Reczek L, et al. Effect of exogenous stress factors on the biosynthesis of carotenoids and lipids by *Rhodotorula* yeast strains in media containing agroindustrial waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019;35(10). <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2732-8>.
64. ChuppaTostain G, Hoarau J, Watson M, Adelar L, Sing ASC, Caro Y, et al. Production of *Aspergillus niger* biomass on sugarcane distillery wastewater: physiological aspects and potential for biodiesel production. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2018;5(1):6–8. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0045-6>.
65. Karetkin BA, Panfilov VI, Panfilova EV, Khromova NY, Shakir IV. Heterogeneous submerged fermentation of a probiotic in media based on wheat flour and by-products of wheat starch production. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management*. 2017;17(61):711–718. <https://doi.org/10.5593/sgem2017/61/S25.093>.
66. Souza Filho PF, Nair RB, Andersson D, Lennartsson PR, Taherzadeh MJ. Veganmycoprotein concentrate from peaprocessing industry byproduct using edible filamentous fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2018;5(1):1–10. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0050-9>.

Использование пленок, обогащенных антоциановым пигментом, в качестве индикатора свежести рыбного фарша

Н. Ю. Чеснокова*^{ORCID}, Ю. В. Приходько^{ORCID}, А. А. Кузнецова^{ORCID},
Л. В. Кушнарченко^{ORCID}, В. А. Герасимова^{ORCID}



Дальневосточный федеральный университет^{ORCID}, Владивосток, Россия

Дата поступления в редакцию: 11.03.2021

Дата принятия в печать: 12.04.2021



© Н. Ю. Чеснокова, Ю. В. Приходько, А. А. Кузнецова, Л. В. Кушнарченко, В. А. Герасимова, 2021

*e-mail: chesn_natali@mail.ru

Аннотация.

Введение. В настоящее время перспективным направлением считается использование упаковочных материалов на основе доступного и биоразлагаемого сырья для создания интеллектуальной упаковки, позволяющей контролировать порчу продукта в режиме реального времени. Целью исследования стало обоснование использования анионных полисахаридов и антоцианового пигмента для создания пленок и их использование в качестве тест-системы для определения свежести рыбного фарша.

Объекты и методы исследования. Замороженные ягоды черной смородины (*Ribes nigrum*), пленки на основе полисахаридов и содержащие антоциановый пигмент, а также свежемолотый фарш трески. Экстракты антоцианового пигмента и пленки на основе агар-агара, каппа-каррагинана, хитозана, крахмала и антоцианового пигмента анализировали методом ИК спектроскопии.

Результаты и их обсуждение. Способностью к образованию пленок обладают анионные полисахариды – агар-агар и каппа-каррагинан. Пленки на основе 1,5 % агар-агара и 2,0 % каппа-каррагинана обладают эластичностью, упругостью, пластичностью и стойкостью к механической деформации. Нейтральный полисахарид крахмал и катионный полисахарид хитозан такой способностью не обладают. Данные ИК-спектров свидетельствуют об электростатической природе формирования полиэлектролитных комплексов антоцианового пигмента с анионными полисахаридами. Пленку на основе 1,5 % агар-агара с добавлением антоцианового пигмента использовали как тест-систему для анализа качества фарша трески. При контактировании пленки, содержащей антоциановый пигмент, со свежим рыбным фаршем изменение окраски пленки не происходило. При контакте пленки с фаршем сомнительной свежести изменение цвета пленки начиналось уже после 2-х мин контактирования: пленка приобретала синеватый оттенок.

Выводы. На процесс образования пленок существенное влияние оказывает заряд полисахарида и тип взаимодействия между полисахаридами и антоциановым пигментом. Благоприятными для создания комплексов являются анионные полисахариды. Показана возможность использования пленок в качестве интеллектуальной упаковки для определения качества рыбного фарша.

Ключевые слова. Черная смородина, антоциановый пигмент, агар-агар, каппа-каррагинан, крахмал, хитозан, интеллектуальная упаковка, тест-система, рыбный фарш

Для цитирования: Использование пленок, обогащенных антоциановым пигментом, в качестве индикатора свежести рыбного фарша / Н. Ю. Чеснокова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 349–362. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-349-362>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Anthocyanin Films in Freshness Assessment of Minced Fish

Natalya Yu. Chesnokova*^{ORCID}, Yury V. Prikhodko^{ORCID},
Alla A. Kuznetsova^{ORCID}, Liudmila V. Kushnarenko^{ORCID}, Valeria A. Gerasimova^{ORCID}

Far Eastern Federal University^{ORCID}, Vladivostok, Russia

Received: March 11, 2021

Accepted: April 12, 2021

*e-mail: chesn_natali@mail.ru



Abstract.

Introduction. Smart food packaging that alerts consumers to spoiled food by changing color is based on affordable and biodegradable raw materials. The research objective was to develop films from anionic polysaccharides and anthocyanin pigment that can be used as a freshness indicator of minced fish.

Study objects and methods. The study featured frozen black currant berries (*Ribes nigrum*), polysaccharide-based anthocyanin films, and minced fish. Extracts of anthocyanin pigment and films based on agar, kappa-carrageenan, chitosan, starch, and anthocyanin pigments were analyzed by IR spectroscopy.

Results and its discussion. Anionic polysaccharides, i.e. agar and kappa-carrageenan, demonstrated good film-forming properties. Films based on 1.5% agar and 2% kappa-carrageenan showed elasticity, resilience, plasticity, and sufficient resistance to mechanical deformation. Neutral polysaccharide starch and cationic polysaccharide chitosan appeared to have no such qualities. An IR spectral analysis revealed chemical interactions between polysaccharide and anthocyanin molecules. It indicated the electrostatic nature of the polyelectrolyte complexes of the anthocyanin pigment with anionic polysaccharides. A film based on 1.5% agar fortified with anthocyanin pigment was used as a test-system for analyzing the quality of fish. The minced fish samples were wrapped in the anthocyanin film and left for 2–7 min to register the color change of the film. When the anthocyanin film came into contact with fresh fish, the color of the film did not change even after prolonged contact. When the film came into contact with spoiled fish, the color of the film began to change after 2 min of contact. When the contact time reached 7 min, the film turned blue.

Conclusion. The type of polysaccharide and the interaction between polysaccharides and anthocyanin pigment had a significant effect on film formation. Anionic polysaccharides demonstrated the best results. Electrostatic interactions between anionic polysaccharides and anthocyanin pigments produced stable polyelectrolyte complexes. The new smart films were able to determine the quality of minced fish.

Keywords. Black currant, anthocyanin pigment, agar, kappa-carrageenan, starch, chitosan, smart packaging, test-system, minced fish

For citation: Chesnokova NYu, Prikhodko YuV, Kuznetsova AA, Kushnarenko LV, Gerasimova VA. Anthocyanin Films in Freshness Assessment of Minced Fish. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):349–362. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-349-362>.

Введение

Интеллектуальная упаковка – это система, которая может контролировать условия хранения упакованных пищевых продуктов и предоставлять потребителям информацию об их качестве в цепочке их поставок [1, 2]. До настоящего времени было разработано несколько интеллектуальных методов упаковки, включая детекторы O₂ и CO₂, индикаторы pH, датчики влажности и температуры во времени, а также биосенсоры патогенных бактерий [3, 4]. Эти интеллектуальные упаковочные системы прикрепляются в виде этикеток, встроенных в пищевые упаковочные материалы [5].

В последние годы все большее внимание уделяется разработке интеллектуальной упаковки на основе биополимеров и антоцианов. Данный тип упаковки позволяет информировать потребителей о качестве продукта в режиме реального времени [6].

При порче пищевых продуктов микроорганизмы могут разлагать белки с образованием таких летучих соединений азота, как аммиак, диметиламин и триметиламин, тем самым изменяя pH пищи [7]. Свойство антоцианов изменять свою химическую структуру и цвет в зависимости от pH среды позволяет использовать пленки, содержащие антоциановый пигмент, для контроля качества упакованных пищевых продуктов [8–14]. pH-чувствительность пленок на основе биополимеров, содержащих антоциановый пигмент, может быть определена путем их погружения

в различные буферные растворы или воздействия на них хлороводорода или аммиака [15–19].

Анализ литературных источников показал, что упаковку на основе пленок, содержащих антоцианы, можно использовать для продления срока годности пищевых продуктов и контроля качества изделий в режиме реального времени. Кроме того, данная упаковка будет нетоксичной, биоразлагаемой и экологически чистой. Однако создание пищевых пленок на основе биополимеров с добавлением антоцианового пигмента требуют детального рассмотрения вопросов, касающихся изучения факторов, которые влияют на их физические и функциональные свойства. К данным факторам могут быть отнесены выбор наиболее доступного источника выделения антоцианов, изучение их состава, тип биополимеров и взаимодействия между биополимером и антоцианами, а также условия приготовления упаковочных материалов.

Целью данной работы являлось обоснование использования анионных полисахаридов и антоцианового пигмента для создания пленок и их использование в качестве индикатора свежести рыбного фарша.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись замороженные ягоды черной смородины (*Ribes nigrum*) и свежемолотый фарш трески.

Замороженные ягоды черной смородины подвергали дефростации и измельчению. Экстракцию антоцианового пигмента проводили водным раствором при температуре 70 °С в течение 60 мин. Интенсивность окраски растворов определяли по изменению оптической плотности на спектрофотометре «SHIMADZU UV-1800» (Япония) в интервале длин волн 400–700 нм.

Содержание антоцианов в растворах определяли в соответствии с методикой, описанной в работе V. Ivanova и др. [20]. Для определения содержания антоцианового пигмента образцы разбавляли системой растворителей этанол:вода:соляная кислота (69:30:1) и измеряли их оптическую плотность при длине волны 540 нм. Содержание антоцианов в растворах рассчитывали по формуле:

$$C = 16,7A_{540}d \quad (1)$$

где d – коэффициент разбавления; A_{540} – оптическая плотность растворов при длине волны 540 нм; C – содержание антоцианов, мг/л, выраженное как мальвидин-3-гликозид эквивалент.

Эксперименты по определению содержания антоцианового пигмента в растворах проводились сериями. Каждая серия повторялась не менее трех раз. За результат определения принималось среднеарифметическое значение трех параллельных измерений.

Пищевую пленку получали при нагревании водного 50 % раствора антоцианового пигмента со структурообразователем при температуре 100 °С в течение 3 мин. Затем раствор охлаждали до 60 °С, разливали в формы и оставляли на 15 мин для созревания.

Высушенные экстракты антоцианового пигмента и пленок на основе агар-агара, каппа-каррагинана, хитозана, крахмала и антоцианового пигмента анализировали методом ИК-спектроскопии с использованием инфракрасного спектрофотометра IRTracer-100 (Shimadzu, Япония).

Определение активной кислотности (рН) фарша трески проводили по ГОСТ 28972-91 с использованием рН/MVMETTER-220 (США).

Составы буферных растворов для исследования изменения окраски антоцианового пигмента и пленок, содержащих антоцианы в диапазоне рН от 1 до 8, приведены в таблице 1.

Результаты и их обсуждение

Изменение окраски растворов антоцианового пигмента, выделенного из ягод черной смородины при различных значениях рН системы, представлено на рисунке 1.

Из рисунка 1 видно, что изменение рН раствора влияет на окраску антоцианового пигмента. При рН 1 раствор был интенсивно красным. При рН 2–4 происходило постепенное выцветание цвета до розового. При рН 5 раствор антоцианового пигмента обесцвечивался. При рН 6–7 раствор становился синим, а при рН 8 раствор приобретал желтоватый оттенок.

Спектры поглощения антоцианового пигмента при различных значениях рН системы представлены на рисунке 2.

Из рисунка 2 видно, что максимум поглощения антоцианового пигмента при длине волны 510 нм наблюдается при рН 2. При повышении рН системы интенсивность извлечения антоцианового пигмента падает. Кроме того, из представленных УФ-спектров видно, что максимум поглощения смещается в зависимости от изменения рН. Наблюдается батохромный сдвиг в виде смещения спектральной полосы. При рН 8 максимум поглощения антоцианового пигмента сдвигается до 600 нм.

Изменение цвета растворов антоцианового пигмента при разных значениях рН зависит от трансформационных изменений в структуре антоцианов. В кислой среде (рН < 3) антоцианы имеют ярко красную окраску, стабильны и существуют в виде пирилиевых солей. При повышении рН до 4–5 интенсивность окраски снижается, происходит присоединение гидроксид-иона

Таблица 1. Составы буферных растворов для определения рН в диапазоне от 1 до 8

Table 1. Buffer solutions for determining pH = 1–8

рН	Растворы для приготовления
1	0,2 М КСl ± 0,2 М НСl
2	0,2 М КСl ± 0,2 М НСl
3	0,1 М лимонная кислота + 0,2 М Na ₂ HPO ₄
4	0,1 М лимонная кислота + 0,2 М Na ₂ HPO ₄
5	0,1 М лимонная кислота + 0,2 М Na ₂ HPO ₄
6	0,1 М лимонная кислота + 0,2 М Na ₂ HPO ₄
7	0,1 М лимонная кислота + 0,2 М Na ₂ HPO ₄
8	0,2 М Na ₂ HPO ₄ + 0,2 М NaH ₂ PO ₄

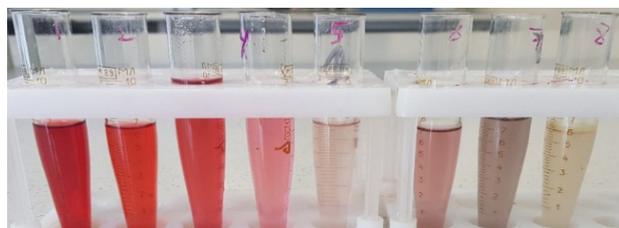


Рисунок 1. Изменение окраски растворов антоцианового пигмента, выделенного из ягод черной смородины в диапазоне рН от 1 до 8

Figure 1. Change in color of anthocyanin solutions isolated from black currant berries at pH = 1–8

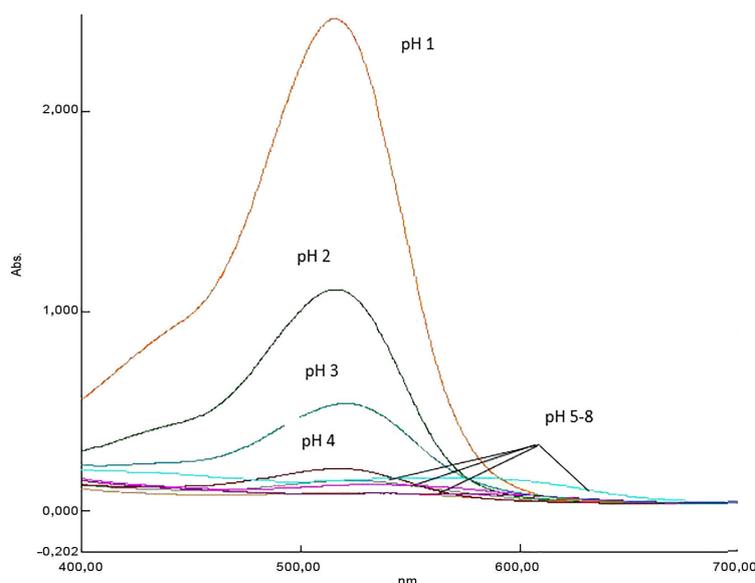


Рисунок 2. Спектры поглощения антоцианового пигмента при различных рН системы

Figure 2. Absorption spectra of anthocyanin pigment at different pH systems

с образованием бесцветного псевдооснования [21]. При дальнейшем повышении рН до 6–7 раствор антоцианового пигмента приобретает сине-фиолетовую окраску, происходит отщепление воды с образованием хиноидной формы. При рН выше 8 интенсивность окраски антоцианового пигмента ослабевает, фенолят хиноидной формы гидролизуется с разрывом хроменого цикла и образованием соответствующего халкона [22].

Таким образом, полученные данные позволяют использовать растворы антоцианового пигмента в качестве индикаторов изменения рН среды.

Полученный из ягод черной смородины антоциановый пигмент использовали для создания пищевых пленок. Содержание антоцианового пигмента в пленках составляло 85 мг/см³.

В качестве основы для создания пленок использовались анионные (агар-агар, каппа-каррагинан), нейтральный (крахмал) и катионный

Таблица 2. Характеристика образцов пленок на основе полисахаридов с добавлением антоцианового пигмента

Table 2. Polysaccharide-based anthocyanin films

№ образца	Количество структурообразователя, %	Характеристика плёнок
<i>Агар-агар</i>		
1	1,0	Ярко красного цвета, нестойкая, легко разрушается
2	1,5	Ярко-красного цвета, эластичная, упругая, пластичная, стойкая к деформации
3	2,0	Ярко-красного цвета, плотная, при деформации образуются трещины
<i>Каппа-каррагинан</i>		
4	1,0	Ярко-красного цвета, жидкой консистенции
5	1,5	Ярко-красного цвета, эластичная, легко разрывается
6	2,0	Ярко-красного цвета, эластичная, плотная, стойкая к деформации
Крахмал		
7	2,0	Ярко-красного цвета, полупрозрачная полужидкой консистенции
8	3,0	Ярко-красного цвета, полупрозрачная, плотная, не стойкая к деформации
Хитозан		
9	2,0	Ярко-красного цвета, жидкой консистенции
10	2,5	Ярко-красного цвета, жидкой консистенции
11	3,0	Ярко-красного цвета, полужидкой консистенции

(хитозан) полисахариды. Было разработано 11 образцов пленок. Характеристика образцов пленок, полученных на основе агар-агара, каппа-каррагинана, крахмала и хитозана с добавлением антоцианового пигмента, представлена в таблице 2.

Из таблицы 2 видно, что способностью к образованию пленок обладают анионные полисахариды – агар-агар и каппа-каррагинан. Нейтральный полисахарид крахмал и катионный полисахарид хитозан такой способностью не обладают. Например, пленка на основе нейтрального полисахарида крахмала не держит форму при отделении от поверхности, а раствор для приготовления пленки, содержащий катионный полисахарид хитозан и антоциановый пигмент, имеет полужидкую консистенцию. В литературных источниках встречаются исследования, предлагающие использовать нейтральные и катионные полисахариды как основу для образования пленок. В данных исследованиях для образования комплекса хитозана и антоцианового пигмента используют сшивающие агенты [23, 24]. Их использование для образования пленок, содержащих стабильные комплексы между крахмалом и антоциановым пигментом, представлено в работах G. Jiang и др., H. Z. Chen и др., O. A. Шалимовой с соавторами и I. Choi и др. [8, 25–27].

Представленные в таблице 2 данные показывают, что наиболее удачные по консистенции пленки получаются на основе 1,5 % агар-агара и 2,0 % каппа-каррагинана. Данные пленки эластичные, упругие, пластичные и стойкие к механической деформации.

Для анализа химических взаимодействий между анионными, нейтральными, катионными полисахаридами и антоциановым пигментом были

изучены ИК-спектры антоцианового пигмента черной смородины, пленок на основе 1,5 % соответствующего полисахарида и пленок на основе 1,5 % данного полисахарида с антоциановым пигментом. ИК-спектры антоцианового пигмента черной смородины, образцов пленок на основе 1,5 % агар-агара, каппа-каррагинана, крахмала и хитозана, а также пленок с 1,5 % их содержанием и с входящим в их состав антоциановым пигментом представлены на рисунках 3–11.

Из представленных данных видно, что спектр антоцианов черной смородины (рис. 3) имеет сильную полосу поглощения при 1710 и 1639 см⁻¹. Это соответствует валентным колебаниям С=О и С=C групп ароматического кольца. Полоса поглощения при 1205 см⁻¹ соответствует пирановому кольцу флавоноидных соединений.

ИК-спектры пленок, состоящие только из полисахаридов и пленок на основе полисахаридов и антоцианового пигмента, похожи. Но некоторые различия в относительной интенсивности и положении полос могут наблюдаться [16, 17, 27–30].

В спектрах антоцианов черной смородины (рис. 3), пленок на основе 1,5 % агар-агара (рис. 4) и пленок на основе 1,5 % агар-агара с добавлением антоцианового пигмента (рис. 5) наблюдаются аналогичные широкие полосы, достигающие пика около 3400–3200 см⁻¹. Им соответствуют колебания межмолекулярных и внутримолекулярных гидроксильных групп [31, 32].

Пик 2897 см⁻¹ в пленке на основе 1,5 % агар-агара (рис. 4) и в пленке с добавлением антоцианового пигмента (рис. 5) обусловлен метильными группами в молекуле агара. В пленке на основе 1,5 % агар-агара слабая полоса при 1371 см⁻¹ объясняется низким уровнем сульфатных сложноэфирных связей [33].

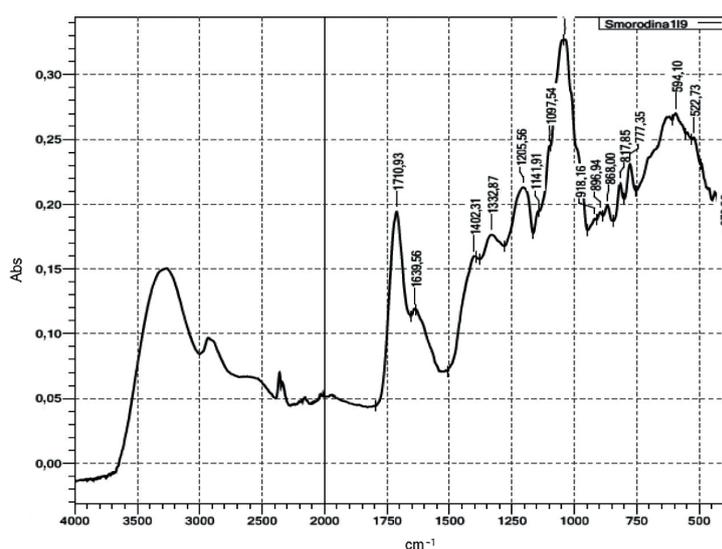


Рисунок 3. ИК-спектр антоцианов черной смородины

Figure 3. IR spectrum of black currant anthocyanins



Рисунок 4. ИК-спектр пленки на основе 1,5 % агар-агара

Figure 4. IR spectrum of the 1.5% agar-based film

Полосы при 1039 и 930 cm^{-1} связаны с С–О связями, присутствующими в 3,6 ангидрогалактозных мостиках [33]. Пик при 890 cm^{-1} связан с С–Н связями остатков бета-галактозы. Полоса поглощения при 890–900 cm^{-1} указывает на наличие несulfатированной галактозы (деформационные колебания С–Н) в молекуле агара [34].

С помощью спектрального анализа можно идентифицировать химические взаимодействия между молекулами структурообразователей и антоцианов [35]. Смещение полос поглощения в спектре

с добавлением антоцианового пигмента (рис. 5) может означать химическое взаимодействие между вводимыми компонентами. Такое смещение наблюдается относительно полос поглощения при 1039 и 1371 cm^{-1} , соответствующим спектру пленки без добавления антоцианов. В пленке с добавлением антоцианового пигмента пик при длине волны 1039 cm^{-1} был перенесен на низкий волновой уровень в 1031 cm^{-1} . Пик при длине волны 1371 cm^{-1} практически исчезает. Это свидетельствует о физико-химических взаимодействиях между молекулами антоцианов и агара-

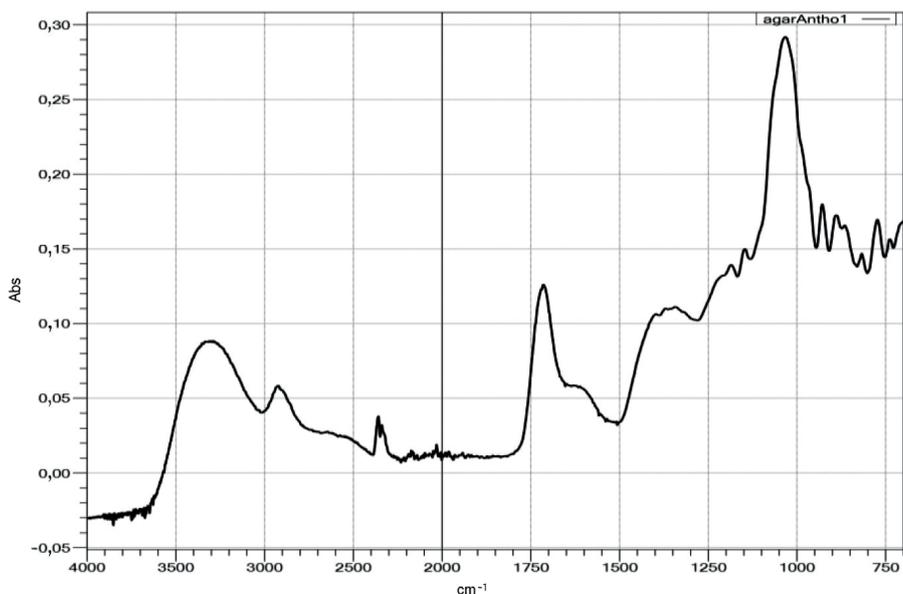


Рисунок 5. ИК-спектр пленки на основе 1,5 % агар-агара с добавлением антоцианового пигмента

Figure 5. IR spectrum of the anthocyanin film based on 1.5% agar

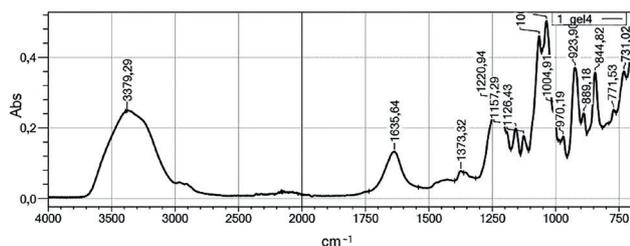


Рисунок 6. ИК-спектр пленки на основе 1,5 % каррагинана

Figure 6. IR spectrum of the 1.5% carrageenan-based film

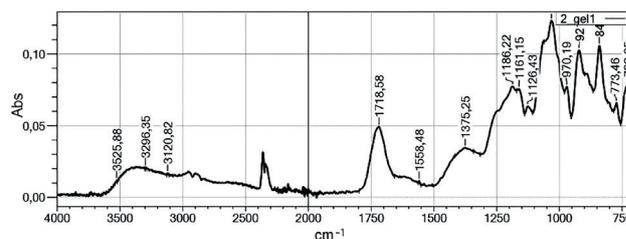


Рисунок 7. ИК-спектр пленки на основе 1,5 % каррагинана с добавлением антоцианового пигмента

Figure 7. IR spectrum of the anthocyanin film based on 1.5% carrageenan

агара и образованию между ними водородных связей, что и отражается в изменении полос поглощения в образцах [36]. Кроме того, наблюдается смещение пика при 1639 см^{-1} на низкий волновой уровень – 1631 см^{-1} . Это может свидетельствовать об электростатическом взаимодействии ароматического кольца антоцианов с сульфатными группами агар-агара, приводя к его расширению. Полученные результаты позволяют предположить, что антоцианы были иммобилизованы в матрице пленки на основе агар-агара.

Из данных, представленных на рисунке 6, видно, что основные полосы поглощения каппа-каррагинана 1220 , 923 и 844 см^{-1} отвечают эфирной сульфатной, 3,6-ангидрогалактозной и 0-галактозо-4-сульфатной группам соответственно. Широкая полоса поглощения с пиком при частоте 3379 см^{-1} соответствует колебаниям гидроксильной группы каппа-каррагинана. Полученные

данные согласуются с результатами работ, в которых представлены ИК-спектры для каппа-каррагинана [37].

При введении в раствор каппа-каррагинана антоцианового пигмента наблюдается низкочастотный сдвиг полосы пропускания сульфатных групп каппа-каррагинана до 1186 см^{-1} (рис. 7). Наблюдаемые сдвиги свидетельствуют о взаимодействии положительно заряженного оксония молекулы антоцианов с имеющимися в каппа-каррагинане отрицательно заряженными сульфатными группами. Полученные данные свидетельствуют об электростатической природе формирования полиэлектролитных комплексов антоцианового пигмента с полисахаридом.

На представленном ИК-спектре крахмала (рис. 8) наблюдается пик в области 3290 см^{-1} , который относится к гидроксильной группе. Небольшой пик в 2929 см^{-1} приписан к группе C–H. Пик при

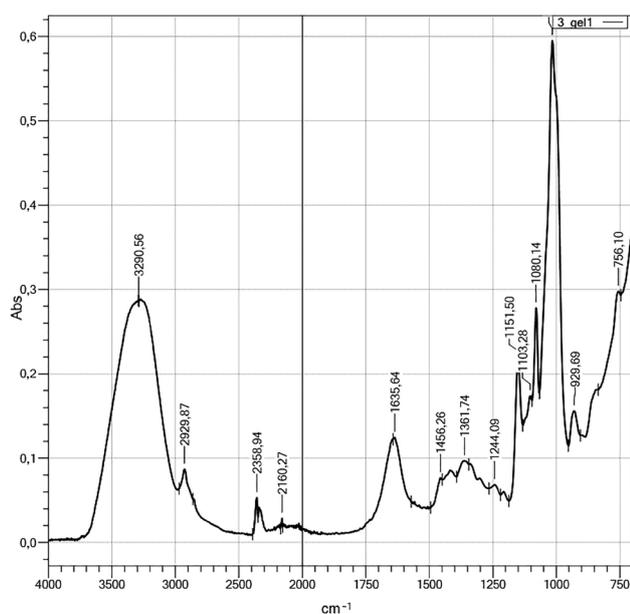


Рисунок 8. ИК-спектр пленки на основе 2 % крахмала

Figure 8. IR spectrum of the 2% starch-based film

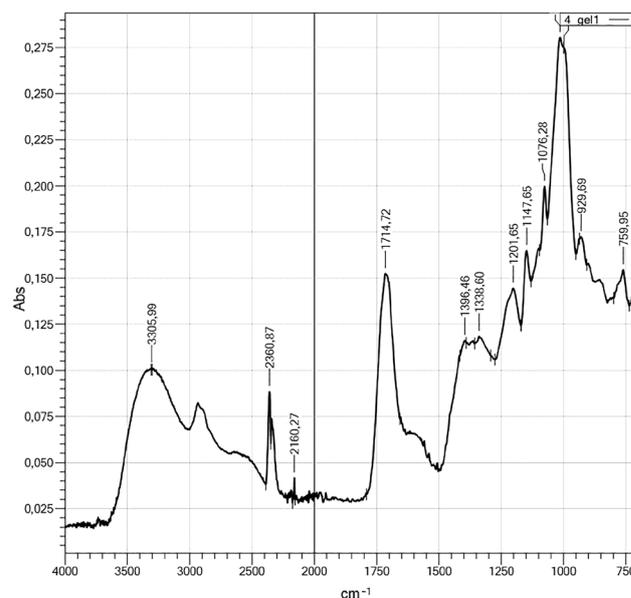


Рисунок 9. ИК-спектр пленки на основе 2 % крахмала с добавлением антоцианового пигмента

Figure 9. IR spectrum of the anthocyanin film based on 2% starch

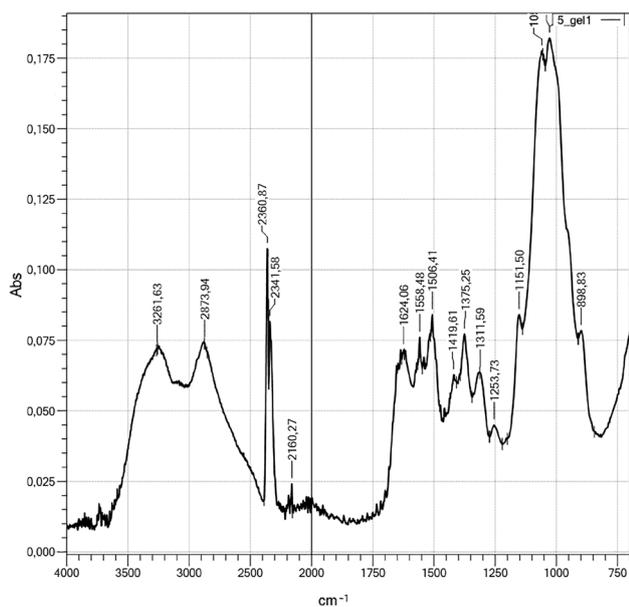


Рисунок 10. ИК-спектр пленки на основе 2,5 % хитозана

Figure 10. IR spectrum of the 2.5% chitosan-based film

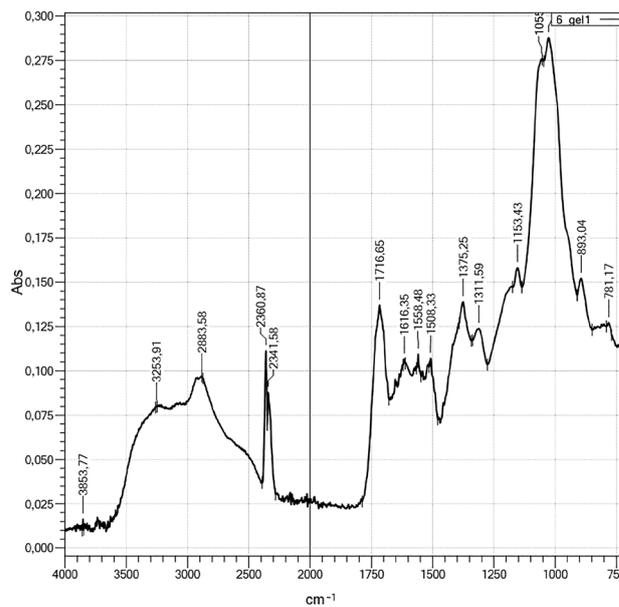


Рисунок 11. ИК-спектр пленки на основе 2,5 % хитозана с добавлением антоцианового пигмента

Figure 11. IR spectrum of the anthocyanin film based on 2.5% chitosan

1635 cm^{-1} предполагает наличие прочно связанной воды в молекуле крахмала. Полосу 1151 cm^{-1} относят к симметричным колебаниям гликозидных связей.

При введении в состав пленки на основе крахмала антоцианового пигмента (рис. 9) происходит сдвиг полосы 3290 cm^{-1} , а также сдвиг и уменьшение пика 1635 cm^{-1} . Причиной таких сдвигов может являться образование водородных связей между гидроксильными группами антоцианов и гидрофильными группами в молекуле крахмала.

Из результатов, представленных на рисунках 10 и 11, видно, что полоса колебаний около 3400 cm^{-1} (ОН и NH) пленки хитозана обычно расширяется и сдвигается после включения в пленку антоцианового пигмента. Это обусловлено водородными связями, образующимися между гидроксильными группами антоцианов и амино- и гидроксильными группами хитозана [38]. Кроме того, амидная полоса пленки хитозана при длине волны 1558 cm^{-1} практически не уменьшается и не сдвигается. Это свидетельствует о том, что электростатических взаимодействий между положительно заряженным атомом кислорода антоцианов и аминогруппами хитозана не происходит.

Таким образом, определяющим фактором создания пленок на основе полисахаридов с добавлением антоцианового пигмента является образование стабильных комплексов между этими соединениями. Кроме того, образование таких комплексов определяется зарядом полисахарида и типом взаимодействия компонентов системы. Благодаря электростатическим взаимодействиям противоположно заряженных антоцианового пигмента

и анионных полисахаридов возможно создание на их основе пленок, обладающих ярко-красным цветом и плотной, стойкой к деформациям консистенцией.

Поскольку пленки с добавлением антоцианового пигмента черной смородины предполагалось использовать в качестве индикатора качества фарша трески, то было изучено влияние pH растворов на изменение окраски пленок. Цветовую реакцию пленок на основе 1,5 % агар-агара, содержащих антоциановый пигмент, оценивали путем погружения их в различные буферные растворы (pH 1–7). При этом пленки оставались неповрежденными благодаря хорошей водостойкости агара. Изменение окраски



Рисунок 12. Изменение окраски пленок с добавлением антоцианового пигмента черной смородины в диапазоне pH 1–7

Figure 12. Change in the color of anthocyanin films at pH = 1–7

Таблица 3. Органолептические показатели образцов фарша трески, а также активная кислотность (рН) их мышечной ткани

Table 3. Sensory properties of cod mince samples; active acidity (pH) of muscle tissue

Показатель	Фарш трески свежий	Фарш трески сомнительной свежести по истечению суток
Внешний вид	Масса однородная, без отделения влаги, на срезе измельчение однородное, тонкое	Масса однородная, с отделения влаги, на срезе измельчение однородное, тонкое
Цвет	Светло-серый	Серого цвета
Консистенция	Плотная, упругая, однородная	Плотная, однородная
Запах и вкус после оттаивания и варки	Свойственные данному виду рыбы, без постороннего запаха и привкуса	С посторонним неприятным запахом и привкусом испорченной рыбы
Активная кислотность (рН) мышечной ткани	6,6–6,7	8,4

пленок с добавлением антоцианового пигмента черной смородины в диапазоне рН 1–7 представлено на рисунке 12.

Из рисунка 12 видно, что погружение пленок, содержащих антоциановый пигмент, в различные буферные растворы приводит к видимому изменению их цвета. При рН растворов 1–2 пленка имеет интенсивно красный цвет. При рН 3–4 пленка приобретает розовую окраску. При погружении в буферные растворы с более высоким рН (рН 5–6) пленка приобретает фиолетовый оттенок. При рН 7 пленка становится сине-зеленой.

Таким образом, пленка на основе 1,5 % агар-агара с добавлением антоцианового пигмента может быть использована в качестве индикатора изменения кислотности среды.

Полученные пленки использовали как тест-систему для анализа качества свежемолотого фарша трески, поскольку в процессе хранения рыбного сырья и его порчи происходит изменение активной кислотности (рН) мышечной ткани. Увеличение значений рН при хранении морского рыбного сырья

обусловлено распадом белковых и экстрактивных азотистых веществ, а именно образованием значительного количества различных аминов (аммиак, моно-, ди- и триметиламины), получаемых в результате восстановления окиси триметиламина под действием микробиологической порчи [7,39].

В данной работе было исследовано два образца фарша трески в зависимости от степени свежести. Активную кислотность (рН) свежего фарша определяли сразу после его приготовления. После хранения образцов фарша при комнатной температуре (25 °С) в течение суток отмечали изменение его органолептических характеристик и значение активной кислотности. Органолептические показатели образцов фарша трески, а также активная кислотность (рН) их мышечной ткани представлены в таблице 3.

Из результатов таблицы 3 видно, что при микробиологической порче изменяется активная кислотность (рН) мышечной ткани рыбного сырья. Активная кислотность (рН) мышечной ткани трески находится в пределах 6,7. Это характерно для большинства видов свежей рыбы, для которых



Рисунок 13. Изменение окраски пленки: а – свежий фарш и фарш сомнительной свежести после 2 мин контактирования с пленкой; б – свежий фарш и фарш сомнительной свежести после 7 мин контактирования с пленкой

Figure 13. Change in color of the film samples: а – fresh minced fish sample vs. spoiled sample after 2 min of contact; б – fresh minced fish sample vs. spoiled sample after 7 min of contact

pH мяса не превышает 7,05–7,15 [40]. Фарш трески сомнительной свежести имеет значение активной кислотности (pH), равное 8,4. Это свидетельствует о биохимических процессах, происходящих в тканях рыб в процессе хранения и накопления в них продуктов распада белков и экстрактивных веществ, способных изменять реакцию среды.

Фарш трески заворачивали в пленку, содержащую антоциановый пигмент, оставляли на 2–7 мин и отмечали изменение окраски пленки. Изменения окраски пленки, в зависимости от степени свежести фарша и времени контактирования, представлены рисунке 13.

Из представленных результатов видно, что при контактировании пленки содержащей антоциановый пигмент со свежим рыбным фаршем изменение окраски пленки происходило незначительно даже после длительного контактирования.

При контакте пленки с фаршем сомнительной свежести изменение цвета пленки начинается после 2 мин контактирования. Пленка обесцвечивается, а при увеличении времени контактирования до 7 мин цвет пленки продолжает изменяться и приобретает синеватый оттенок. Эти результаты согласуются с изменением цвета раствора антоцианового пигмента при различных значениях pH, а также с изменением цвета пленки, содержащей антоциановый пигмент, с розового на фиолетовый, а затем синий.

Поскольку видимые изменения цвета пленок как индикатора pH имели тесную связь с изменениями pH образцов рыбного фарша и эти изменения наблюдались невооруженным глазом, то колориметрическая оценка пленки с применением антоцианового пигмента может быть использована в качестве надежного визуального метода для обнаружения качественных изменений в процессе порчи рыбных полуфабрикатов.

Выводы

На процесс образования пленок существенно

влияет заряд полисахарида и его взаимодействие с антоциановым пигментом. Благоприятными для создания комплексов являются анионные полисахариды. Электростатические взаимодействия между анионными полисахаридами и антоциановым пигментом приводят к образованию стойких полиэлектролитных комплексов, которые могут быть основой для создания пленок. Возникающие водородные связи между антоциановым пигментом и нейтральными и катионными полисахаридами не способствуют созданию прочной основы пленок.

Показана возможность использования пленок в качестве интеллектуальной упаковки для определения качества рыбного фарша.

Критерии авторства

Н. Ю. Чеснокова и Ю. В. Приходько – руководство исследованием и подготовка статьи. А. А. Кузнецова – проведение ИК-спектрального анализа, подготовка результатов. Л. В. Кушнарченко – выделение антоцианового пигмента из ягодного сырья, подготовка результатов. В. А. Герасимова – разработка технологии пищевых пленок и использование их для анализа свежести рыбы, подготовки результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

N.Yu. Chesnokova and Yu.V. Prikhodko supervised the research and prepared the manuscript. A.A. Kuznetsova performed the IR-spectral analysis. L.V. Kushnarenko extracted anthocyanin pigment from the raw materials. V.A. Gerasimova developed the technology.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Mohan C. O. A., Ravishankar C. N. Active and intelligent packaging systems-application in seafood // *World Journal of Aquaculture Research and Development*. 2019. Vol. 1. № 1. P. 010–016.
2. Intelligent food packaging: A review of smart sensing technologies for monitoring food quality / H. Yousefi [et al.] // *ACS Sensors*. 2019. Vol. 4. № 4. P. 808–821. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00440>.
3. Intelligent packaging: Trends and applications in food systems / S. Kalpana [et al.] // *Trends in Food Science and Technology*. 2019. Vol. 93. P. 145–157. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.008>.
4. Singh S., Gaikwad K. K., Lee Y. S. Anthocyanin – A natural dye for smart food packaging systems // *Korean Journal of Packaging Science and Technology*. 2018. Vol. 24. № 3. P. 167–180. <https://doi.org/10.20909/kopast.2018.24.3.167>.
5. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns / D. Dainelli [et al.] // *Trends in Food Science and Technology*. 2019. Vol. 19. P. S103–S112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.09.011>.
6. Pereira V. A. Jr., de Arruda I. N. Q., Stefani R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for application in intelligent food packaging // *Food Hydrocolloids*. 2015. Vol. 43. P. 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.014>.

7. Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness / J. Zhang [et al.] // *Food Chemistry*. 2019. Vol. 272. P. 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.041>.
8. Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness / G. Jiang [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. Vol. 143. P. 359–372. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.024>.
9. Extract from *Lycium ruthenicum* Murr. Incorporating κ-carrageenan colorimetric film with a wide pH-sensing range for food freshness monitoring / J. Liu [et al.] // *Food Hydrocolloids*. 2019. Vol. 94. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.008>.
10. Developing an intelligent film containing *Vitis amurensis* husk extracts: The effects of pH value of the film-forming solution / Q. Ma [et al.] // *Journal of Cleaner Production*. 2017. Vol. 166. P. 851–859. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.08.099>.
11. Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations / Q. Ma [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 108. P. 576–584. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.049>.
12. Anthocyanins based indicator sensor for intelligent packaging application / V. Shukla [et al.] // *Agricultural Research*. 2016. Vol. 5. № 2. P. 205–209. <https://doi.org/10.1007/s40003-016-0211-0>.
13. Preparation of an intelligent film based on chitosan/oxidized chitin nanocrystals incorporating black rice bran anthocyanins for seafood spoilage monitoring / C. Wu [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. 2019. Vol. 222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115006>.
14. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring / X. Zhai [et al.] // *Food Hydrocolloids*. 2017. Vol. 69. P. 308–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.014>.
15. Colorimetric film based on polyvinyl alcohol/okra mucilage polysaccharide incorporated with rose anthocyanins for shrimp freshness monitoring / S. Kang [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 229. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115402>.
16. A pH and NH₃ sensing intelligent film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch. gum and red cabbage anthocyanins anchored by carboxymethyl cellulose sodium added as a host complex / T. Liang [et al.] // *Food Hydrocolloids*. 2019. Vol. 87. P. 858–868. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.028>.
17. Mohammadalinejad S., Almasi H., Moradi M. Immobilization of *Echium amoenum* anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp // *Food Control*. 2020. Vol. 113. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107169>.
18. Electrochemical writing on edible polysaccharide films for intelligent food packaging / S. Wu [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. 2018. Vol. 186. P. 236–242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.058>.
19. Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) anthocyanins / D. Yun [et al.] // *RSC Advances*. 2019. Vol. 9. № 53. P. 30905–30916. <https://doi.org/10.1039/c9ra06628d>.
20. Polyphenolic content of Vranec wines produced by different vinification conditions / V. Ivanova [et al.] // *Food Chemistry*. 2011. Vol. 124. № 1. P. 316–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.039>.
21. Demonstration of the occurrence of flavanol-anthocyanin adducts in wine and in model solutions / E. Salas [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. 2004. Vol. 513. № 1. P. 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.11.084>.
22. The fate of flavanol-anthocyanin adducts in wines: Study of their putative reaction patterns in the presence of acetaldehyde / F. Nave [et al.] // *Food Chemistry*. 2010. Vol. 121. № 4. P. 1129–1138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.060>.
23. Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix / H. Yong [et al.] // *Food Hydrocolloids*. 2019. Vol. 90. P. 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.015>.
24. Koosha M., Hamed S. Intelligent Chitosan/PVA nanocomposite films containing black carrot anthocyanin and bentonite nanoclays with improved mechanical, thermal and antibacterial properties // *Progress in Organic Coatings*. 2019. Vol. 127. P. 338–347. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2018.11.028>.
25. Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness / H.-Z. Chen [et al.] // *Food Hydrocolloids*. 2020. Vol. 100. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105438>.
26. Съедобные пищевые пленки из концентрированных ягодных соков для вареных колбасных изделий / О. А. Шалимова [и др.] // *Мясная индустрия*. 2010. № 3. С. 56–58.
27. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato / I. Choi [et al.] // *Food Chemistry*. 2017. Vol. 218. P. 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.050>.
28. Halász K., Csóka L. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace extract immobilized in chitosan for colorimetric pH indicator film application // *Food Packaging and Shelf Life*. 2018. Vol. 16. P. 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.002>.
29. Liang T., Wang L. A pH-sensing film from tamarind seed polysaccharide with litmus lichen extract as an indicator // *Polymers*. 2017. Vol. 10. № 1. <https://doi.org/10.3390/polym10010013>.
30. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract / S. Pourjavaher [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. 2017. Vol. 156. P. 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.027>.

31. Effect of pulsed electric fields assisted acetylation on morphological, structural and functional characteristics of potato starch / J. Hong [et al.] // Food Chemistry. 2016. Vol. 192. P. 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.058>.
32. A highly methylated agar from red seaweed, *Gracilaria arcuata* / M. Tako [et al.] // Botanica Marina. 1999. Vol. 42. № 6. P. 513–517. <https://doi.org/10.1515/BOT.1999.058>.
33. Chemical composition of agars from a newly reported Japanese agarophyte, *Gracilariopsis lemaneiformis* / A. Chirapart [et al.] // Journal of Applied Phycology. 1995. Vol. 7. № 4. P. 359–365. <https://doi.org/10.1007/BF00003793>.
34. Matsuhiro B. Vibrational spectroscopy of seaweed galactans // Hydrobiologia. 1996. Vol. 326–327. P. 481–489. <https://doi.org/10.1007/BF00047849>.
35. Effect of agar on the microstructure and performance of potato starch film / Y. Wu [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2009. Vol. 76. № 2. P. 299–304. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.10.031>.
36. El-Hefian E. A., Nasef M. M., Yahaya A. H. Preparation and characterization of chitosan/agar blended films: Part 1. Chemical structure and morphology // E-Journal of Chemistry. 2012. Vol. 9. № 3. P. 1431–1439. <https://doi.org/10.1155/2012/781206>.
37. Взаимодействие желатины с κ-каррагинаном по данным ИК-спектроскопии / А. А. Маклакова [и др.] // Вестник МГТУ. Труды Мурманского государственного технического университета. 2014. Т. 17. № 1. С. 53–60.
38. A novel colorimetric indicator film based on chitosan, polyvinyl alcohol and anthocyanins from jambolan (*Syzygium cumini*) fruit for monitoring shrimp freshness / B. Merz [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. Vol. 153. P. 625–632. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.048>.
39. Мегеда Е. В., Ким И. Н. Биохимические аспекты формирования запаха сырых гидробионтов // Известия ТИНРО. 2008. Т. 154. С. 345–371.
40. Богданов В. Д., Волотка Ф. Б. Функционально-технологические свойства дальневосточной краснопёрки и кефали-лобана // Известия ТИНРО. 2013. Т. 173. С. 280–292.

References

1. Mohan COA, Ravishankar CN. Active and intelligent packaging systems-application in seafood. World Journal of Aquaculture Research and Development. 2019;1(1):010–016.
2. Yousefi H, Su H-M, Imani SM, Alkhalidi K, Filipe CD, Didar TF. Intelligent food packaging: A review of smart sensing technologies for monitoring food quality. ACS Sensors. 2019;4(4):808–821. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b00440>.
3. Kalpana S, Priyadarshini SR, Maria Leena M, Moses JA, Anandharamakrishnan C. Intelligent packaging: Trends and applications in food systems. Trends in Food Science and Technology. 2019;93:145–157. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.008>.
4. Singh S, Gaikwad KK, Lee YS. Anthocyanin – A natural dye for smart food packaging systems // Korean Journal of Packaging Science and Technology. 2018;24(3):167–180. <https://doi.org/10.20909/kopast.2018.24.3.167>.
5. Dainelli D, Gontard N, Spyropoulos D, Zondervan-van den Beuken E, Tobback P. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. Trends in Food Science and Technology. 2019;19:S103–S112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.09.011>.
6. Pereira VA Jr, de Arruda INQ, Stefani R. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. Food Hydrocolloids. 2015;43:180–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.014>.
7. Zhang J, Zou X, Zhai X, Huang X, Jiang C, Holmes M. Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. Food Chemistry. 2019;272:306–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.041>.
8. Jiang G, Hou X, Zeng X, Zhang C, Wu H, Shen G, et al. Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;143:359–372. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.024>.
9. Liu J, Wang H, Guo M, Li L, Chen M, Jiang S, et al. Extract from *Lycium ruthenicum* Murr. Incorporating κ-carrageenan colorimetric film with a wide pH-sensing range for food freshness monitoring. Food Hydrocolloids. 2019;94:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.008>.
10. Ma Q, Ren Y, Gu Z, Wang L. Developing an intelligent film containing *Vitis amurensis* husk extracts: The effects of pH value of the film-forming solution. Journal of Cleaner Production. 2017;166:851–859. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.08.099>.
11. Ma Q, Liang T, Cao L, Wang L. Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations. International Journal of Biological Macromolecules. 2018;108:576–584. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.049>.
12. Shukla V, Kandeepan G, Vishnuraj MR, Soni A. Anthocyanins based indicator sensor for intelligent packaging application. Agricultural Research. 2016;5(2):205–209. <https://doi.org/10.1007/s40003-016-0211-0>.

13. Wu C, Sun J, Zheng P, Kang X, Chen M, Li Y. Preparation of an intelligent film based on chitosan/oxidized chitin nanocrystals incorporating black rice bran anthocyanins for seafood spoilage monitoring. *Carbohydrate Polymers*. 2019;222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115006>.
14. Zhai X, Shi J, Zou X, Wang S, Jiang C, Zhang J, et al. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*. 2017;69:308–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.014>.
15. Kang S, Wang H, Xia L, Chen M, Li L, Cheng J, et al. Colorimetric film based on polyvinyl alcohol/okra mucilage polysaccharide incorporated with rose anthocyanins for shrimp freshness monitoring. *Carbohydrate Polymers*. 2020;229. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115402>.
16. Liang T, Sun G, Cao L, Li J, Wang L. A pH and NH₃ sensing intelligent film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch. gum and red cabbage anthocyanins anchored by carboxymethyl cellulose sodium added as a host complex. *Food Hydrocolloids*. 2019;87:858–868. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.028>.
17. Mohammadalinejad S, Almasi H, Moradi M. Immobilization of *Echium amoenum* anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp. *Food Control*. 2020;113. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107169>.
18. Wu S, Wang W, Yan K, Ding F, Shi X, Deng H, et al. Electrochemical writing on edible polysaccharide films for intelligent food packaging. *Carbohydrate Polymers*. 2018;186:236–242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.058>.
19. Yun D, Cai H, Liu Y, Xiao L, Song J, Liu J. Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) anthocyanins. *RSC Advances*. 2019;9(53):30905–30916. <https://doi.org/10.1039/c9ra06628d>.
20. Ivanova V, Dörnyei Á, Márk L, Vojnoski B, Stafilov T, Stefova M, et al. Polyphenolic content of Vranec wines produced by different vinification conditions. *Food Chemistry*. 2011;124(1):316–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.039>.
21. Salas E, Atanasova V, Poncet-Legrand C, Meudec E, Mazauric JP, Cheynier V. Demonstration of the occurrence of flavanol-anthocyanin adducts in wine and in model solutions. *Analytica Chimica Acta*. 2004;513(1):325–332. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.11.084>.
22. Nave F, Teixeira N, Mateus N, de Freitas V. The fate of flavanol-anthocyanin adducts in wines: Study of their putative reaction patterns in the presence of acetaldehyde. *Food Chemistry*. 2010;121(4):1129–1138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.060>.
23. Yong H, Wang X, Bai R, Miao Z, Zhang X, Liu J. Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. *Food Hydrocolloids*. 2019;90:216–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.015>.
24. Koosha M, Hamed S. Intelligent Chitosan/PVA nanocomposite films containing black carrot anthocyanin and bentonite nanoclays with improved mechanical, thermal and antibacterial properties. *Progress in Organic Coatings*. 2019;127:338–347. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2018.11.028>.
25. Chen H-Z, Zhang M, Bhandari B, Yang C-H. Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness. *Food Hydrocolloids*. 2020;100. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105438>.
26. Shalimova OA, Kireeva OS, Stromskaya IYa, Emel'yanov AA. S^oedobnye pishchevye plenki iz kontsentrirrovannykh yagodnykh sokov dlya varenykh kolbasnykh izdeliy [Edible food films made from concentrated berry juices for cooked sausages]. *Meat Industry*. 2010;(3):56–58.
27. Choi I, Lee JY, Lacroix M, Han J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*. 2017;218:122–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.050>.
28. Halász K, Csóka L. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace extract immobilized in chitosan for colorimetric pH indicator film application. *Food Packaging and Shelf Life*. 2018;16:185–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodpsl.2018.03.002>.
29. Liang T, Wang L. A pH-sensing film from tamarind seed polysaccharide with litmus lichen extract as an indicator. *Polymers*. 2017;10(1). <https://doi.org/10.3390/polym10010013>.
30. Pourjavaher S, Almasi H, Meshkini S, Pirsa S, Parandi E. Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. *Carbohydrate Polymers*. 2017;156:193–201. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.027>.
31. Hong J, Chen R, Zeng X-A, Han Z. Effect of pulsed electric fields assisted acetylation on morphological, structural and functional characteristics of potato starch. *Food Chemistry*. 2016;192:15–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.058>.
32. Tako M, Higa M, Medoruma K, Nakasone Y. A highly methylated agar from red seaweed, *Gracilaria arcuata*. *Botanica Marina*. 1999;42(6):513–517. <https://doi.org/10.1515/BOT.1999.058>.
33. Chirapart A, Ohno M, Ukeda H, Sawamura M, Kusunose H. Chemical composition of agars from a newly reported Japanese agarophyte, *Gracilariaopsis lemaneiformis*. *Journal of Applied Phycology*. 1995;7(4):359–365. <https://doi.org/10.1007/BF00003793>.
34. Matsuhiro B. Vibrational spectroscopy of seaweed galactans. *Hydrobiologia*. 1996;326–327:481–489. <https://doi.org/10.1007/BF00047849>.

35. Wu Y, Geng F, Chang PR, Yu J, Ma X. Effect of agar on the microstructure and performance of potato starch film. *Carbohydrate Polymers*. 2009;76(2):299–304. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.10.031>.
36. El-Hefian EA, Nasef MM, Yahaya AH. Preparation and characterization of chitosan/agar blended films: Part 1. Chemical structure and morphology. *E-Journal of Chemistry*. 2012;9(3):1431–1439. <https://doi.org/10.1155/2012/781206>.
37. Maklakova AA, Voron'ko NG, Derkach SR, Kadyrova GI, Zotova KV. Interaction of gelatin with κ -carrageenan according to IR spectroscopy. *Vestnik of MSTU. Scientific Journal of Murmansk State Technical University*. 2014;17(1):53–60. (In Russ.).
38. Merz B, Capello C, Leandro GC, Moritz DE, Monteiro AR, Valencia GA. A novel colorimetric indicator film based on chitosan, polyvinyl alcohol and anthocyanins from jambolan (*Syzygium cumini*) fruit for monitoring shrimp freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;153:625–632. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.048>.
39. Megeda EV, Kim IN. Biochemical aspects of raw seafood flavor formation. *Izvestiya TINRO*. 2008;154:345–371. (In Russ.).
40. Bogdanov VD, Volotka FB. Functional and technological properties of far-eastern dace and mullet. *Izvestiya TINRO*. 2013;173:280–292. (In Russ.).

Обезвоживание пищевых продуктов под действием ультразвуковых колебаний с удалением влаги без фазового перехода

А. В. Шалунов^{id}, В. Н. Хмелев^{id}, С. А. Терентьев*^{id},
В. А. Нестеров^{id}, Р. Н. Голых^{id}



Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И. И. Ползунова», Бийск, Россия

Дата поступления в редакцию: 15.03.2021

Дата принятия в печать: 18.04.2021



*e-mail: sergey@bti.secna.ru

© А. В. Шалунов, В. Н. Хмелев, С. А. Терентьев, В. А. Нестеров, Р. Н. Голых, 2021

Аннотация.

Введение. Сушка пищевых продуктов, относящихся к термолабильным и легкоокисляемым, исключает повышение температуры выше допустимого значения. Поэтому ведутся поиски альтернативных энергетических воздействий на высушиваемый материал, способных обеспечить сушку при незначительном увеличении температуры продукта. Одним из таких способов является воздействие ультразвуковыми колебаниями. Целью работы является выявление оптимального диапазона уровней звукового давления для воздействия на высушиваемый материал и разработка конструкций сушильных установок малого объема.

Объекты и методы исследования. Процесс сушки картофеля в неподвижном тонком слое в разработанной ультразвуковой лабораторной сушильной установке. Исследования проводились при заданных температуре $t = 60 \pm 1$ °С и скорости потока сушильного агента $0,50 \pm 0,03$ м/с.

Результаты и их обсуждение. Анализ экспериментальных кривых сушки позволил выявить период постоянной скорости при низких уровнях звукового воздействия и его отсутствие при высоком уровне воздействия, начиная со 160 дБ. Это свидетельствует об иницировании процесса ультразвукового диспергирования жидкости с поверхности картофеля. Диспергирование происходит за счет кавитационного распыления жидкости без фазового перехода, что снижает энергозатраты на сушку. Анализ зависимости средней скорости сушки при высоком влагосодержании от уровня звукового давления позволил установить, что повышение уровня звукового давления в диапазоне уровней от 150 до 165 дБ обеспечивает рост скорости сушки до 26 % на 5 дБ. Выявлен оптимальный диапазон ультразвукового воздействия 160–165 дБ. В нем оптимально сочетаются энергозатраты и время сушки. Предложены две конструкции барабанных сушилок горизонтального и вертикального типа с разовой загрузкой в 6 кг, позволяющие равномерно пересыпать высушиваемый материал, подвергая его ультразвуковому воздействию.

Выводы. Конвективная сушка картофеля совместно с ультразвуковым воздействием в двух видах разработанных барабанных сушилках обеспечивают сокращение времени сушки на 44–47 % относительно конвективной сушки.

Ключевые слова. Термолабильные продукты питания, обезвоживание, ультразвук, кривая скорости сушки, сушильные установки, звуковое давление, картофель

Для цитирования: Обезвоживание пищевых продуктов под действием ультразвуковых колебаний с удалением влаги без фазового перехода / А. В. Шалунов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 363–373. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-363-373>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Ultrasonic Dehydration of Food Products with Moisture Removal without Phase Transition

Andrey V. Shalunov^{id}, Vladimir N. Khmelev^{id}, Sergey A. Terentiev*^{id},
Viktor A. Nesterov^{id}, Roman N. Golykh^{id}

Biysk Technological Institute (branch) of the Altay State Technical University, Biysk, Russia

Received: March 15, 2021

Accepted: April 18, 2021



Abstract.

Introduction. Dehydration of heat-sensitive and easily oxidized food products require particular temperatures. Exposure to ultrasonic vibrations is an alternative dehydration method that presupposes moderate thermal treatment. The research objective was to identify the optimal range of sound pressure and to design a small-volume dryer.

Study objects and methods. The study featured two novel ultrasonic potato dryers at $t = 60 \pm 1^\circ\text{C}$ and a drying agent flow rate of 0.50 ± 0.03 m/s.

Results and discussion. The analysis of the drying curves revealed a period of constant flow rate at a low ultrasonic exposure and its absence at a high level of exposure of ≥ 160 dB, which indicated the start of the ultrasonic dispersion process of liquid from the potato surface. The dispersion occurred due to cavitation spraying of liquid without phase transition, which significantly reduced energy consumption. As the sound pressure increased in the range from 150 to 165 dB, the drying speed increased up to 26% by 5 dB. The optimal range of the sound pressure was 160–165 dB, which optimally combined energy consumption and drying time. The research resulted in two 6 kg horizontal and vertical drum dryers that provided even ultrasonic exposure during drying.

Conclusion. The convective ultrasonic potato drum dryers reduced the drying time by 44–47%.

Keywords. Heat-sensitive food, dehydration, ultrasonic drying rate curve, dryers, sound pressure, potatoes

For citation: Shalunov AV, Khmelev VN, Terentiev SA, Nesterov VA, Golykh RN. Ultrasonic Dehydration of Food Products with Moisture Removal without Phase Transition. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):363–373. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-363-373>.

Введение

Сушка продуктов питания позволяет снизить вероятность их слеживания, смерзания, плесневения, а также уменьшает массу продукта, что удешевляет транспортировку. Однако процесс сушки является энергозатратным и длительным. Поэтому способы сушки непрерывно совершенствуются с целью снижения временных и экономических затрат для получения качественного продукта.

Любой высушиваемый продукт питания характеризуется максимально допустимой температурой обработки, после которой происходит потеря питательных веществ, витаминов и ухудшение товарного вида [1–5]. Поэтому интенсификация конвективных и кондуктивных методов сушки за счет повышения температуры не допустима [6].

В этой связи исследуются и применяются как самостоятельные методы сушки, так и способы дополнительного воздействия на высушиваемый продукт совместно с конвективной или кондуктивной сушкой. К ним относятся радиационная, высокочастотная и ультразвуковая сушка [2, 7–9]. Однако, в случае инфракрасного и высокочастотного воздействия на продукты питания, есть риск локального перегрева или неравномерного высыхания. В связи с этим в последние годы все большее внимание уделяется способам воздействия на высушиваемый материал ультразвуковыми колебаниями [10–17].

Интенсификация сушки происходит только при высоких уровнях ультразвукового воздействия. В случае применения колебаний с низким уровнем звукового давления (менее 130 дБ) процесс сушки

практически не отличается от конвективной [18]. Применение ультразвукового (УЗ) диапазона частот от 20 до 25 кГц для реализации воздействия обусловлено тем, что акустические колебания звукового диапазона создают серьезную опасность для здоровья и жизни человека.

Для создания на ультразвуковых частотах колебаний с уровнем звукового давления более 130 дБ используются излучатели, выполненные в виде изгибно-колеблющихся мембран, по форме представляющие пластины или диски [19]. У таких излучателей соседние участки совершают колебания в противоположных фазах. Для исключения взаимной компенсации колебаний, создаваемых участками диска или пластины, колеблющимися в противоположной фазе, сечение излучателя выполняется ступенчато-переменным по толщине. Это позволяет снизить амплитуду колебаний одной фазы относительно противоположной. Это дало возможность генерировать колебания с уровнем звукового давления до 172 дБ, которые могут быть использованы при реализации процессов сушки.

На сегодняшний день различными исследователями установлено, что использование в качестве ультразвуковых излучателей изгибно-колеблющихся пластин или дисков позволяет уменьшить время сушки макаронных изделий до 24–26 %, кипрей-чая до 30 % [20, 21]. Такая эффективность достигается при уровнях звукового давления, не превышающих 150 дБ. Получение высокого уровня звукового давления сопряжено со значительными трудностями изготовления ультразвуковых излучателей. Эффективной глубиной проникновения ультразвуковых

колебаний считается 10–30 мм в зависимости от высушиваемого материала. Это не позволяет одновременно высушивать значительные объемы продуктов питания [18].

В данной работе представлены результаты исследований по интенсификации процесса конвективной сушки путем добавления воздействия ультразвуковыми колебаниями высокой интенсивности, а также показана возможность создания практических конструкций ультразвуковых сушилок для увеличения объема высушиваемого продукта.

Объекты и методы исследования

Для проведения исследований по сушке продуктов питания в неподвижном тонком слое (обусловленном незначительной глубиной проникновения ультразвуковых колебаний в высушиваемый материал) была разработана и изготовлена лабораторная сушильная установка (рис. 1).

Корпус сушильной установки 1 жестко закреплен на станине (на рис. 1 не показано). На крышке 2 закреплен корпус дискового излучателя 3. Дисковый излучатель 4 располагается в верхней части сушильного объема по центру. Через трубу подвода нагретого воздуха 5 в нижней части сушилки подается стабильный поток нагретого воздуха ($\pm 0,03$ м/с), формируемый вентилятором 6. Температура воздуха поддерживается с точностью ± 1 °С. Воздух выходит через трубу отвода 7, находящуюся в крышке сушильной установки.

Изгибно-колеблющийся ультразвуковой дисковый излучатель, установленный в сушильную установку,

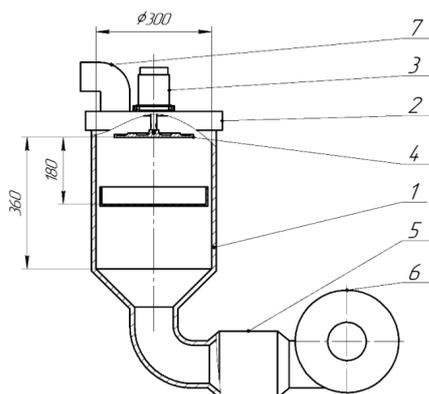


Рисунок 1. Структурная схема ультразвуковой лабораторной сушильной установки: 1 – корпус сушильной установки; 2 – крышка сушильной установки; 3 – корпус дискового излучателя; 4 – дисковый излучатель; 5 – труба подвода нагретого воздуха; 6 – вентилятор; 7 – труба отвода воздуха

Figure 1. Block diagram of an ultrasonic laboratory dryer: 1 – body; 2 – lid; 3 – disk radiator body; 4 – disk radiator; 5 – hot air supply pipe; 6 – fan; 7 – air outlet pipe

имеет диаметр 200 мм и формирует УЗ-колебания с частотой 22 кГц [22]. Внешний вид ультразвукового излучателя в сборе с электронным генератором показан на рисунке 2.

Геометрия внутреннего объема сушильной установки не позволяет получать равномерное ультразвуковое поле. Поэтому было произведено измерение уровня звукового давления L по высоте сушильного объема на оси и на радиусе 70 мм от оси (этим радиусом ограничивается размещение высушиваемого продукта в один слой). Для измерений применялся измеритель шума и вибраций Экофизика-110А/Инженер-110А (Россия) с микрофоном ВМК-401. Уровни звукового давления в сушильном объеме при различных значениях уставки мощности электронного генератора приведены на рисунке 3.

На расстоянии 180 мм от дискового излучателя наблюдается максимальный уровень звукового давления как на оси, так и в 70 мм от нее. Значения уровней звукового давления на расстоянии 180 мм от диска приведены в таблице 1.

В качестве объекта сушки был выбран картофель, т. к. он является самым распространенным овощем на территории России. Сорт картофеля «Адретта» выращен в Алтайском крае. Он 2 месяца хранился в погребе при температуре 3 ± 2 °С. Перед сушкой картофель сутки выдерживался при комнатной температуре. Затем (перед сушкой) нарезался кубиками размером $15 \times 15 \times 15 \pm 1$ мм общей массой $250,0 \pm 0,1$ г. Картофель помещался в центральную часть (радиусом 70 мм) решетчатого поддона в один слой на расстоянии 180 мм от УЗ дискового излучателя. Во всех экспериментах поддерживалась температура и средняя скорость воздуха $t = 60 \pm 1$ °С и $0,50 \pm 0,03$ м/с соответственно. Измерения потока проводились при помощи цифрового анемометра UT363S (UNI-T, Китай). Влажность воздуха в помещении составляла 55 ± 5 %. Уровень звукового давления L в различных экспериментах составлял

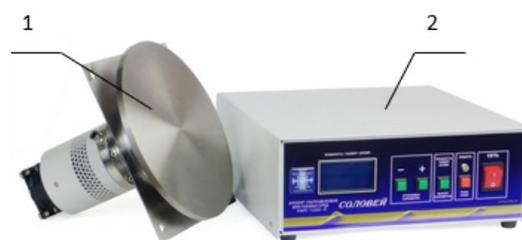


Рисунок 2. Внешний вид ультразвукового аппарата: 1 – ультразвуковая колебательная система с дисковым излучателем; 2 – электронный генератор

Figure 2. Ultrasonic device: 1 – ultrasonic vibrating system with a disk radiator; 2 – electronic generator

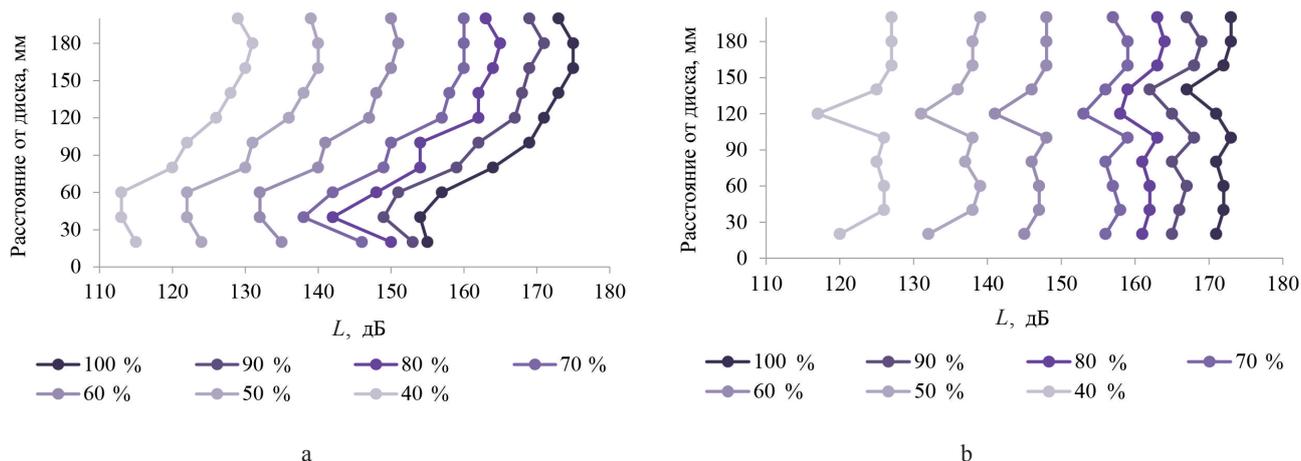


Рисунок 3. Распределение уровня звукового давления L в сушильной установке в зависимости от расстояния от излучателя и уровней установки мощности генератора (%): а – на акустической оси диска; б – на расстоянии 70 мм от оси диска

Figure 3. Distribution of the sound pressure level L in the dryer depending on the distance from the radiator and the generator power (%): а – on the acoustic axis of the disk; б – 70 mm from the axis of the disk

Таблица 1. Уровни звукового давления на расстоянии 180 мм от дискового излучателя

Table 1. Sound pressure at 180 mm from the disc radiator

Расстояние от оси диска, мм	Уровень установки мощности электронного генератора от максимальной мощности, %						
	40	50	60	70	80	90	100
Уровень звукового давления L , дБ							
0	131,0	140,0	151,0	160,0	165,0	171,0	175,0
70	127,0	138,0	148,0	159,0	164,0	169,0	173,0
Среднее значение	129,0	139,0	149,5	159,5	164,5	170,0	174,0

130 ± 1, 140 ± 1, 150 ± 1, 160 ± 1, 165 ± 1, 170 ± 1 и 175 ± 1 дБ. Также был проведен контрольный эксперимент по сушке конвективным способом без ультразвукового воздействия. Взвешивание картофеля во время сушки проводилось каждые 15 мин с точностью ± 0,1 г. Все эксперименты по сушке длились до тех пор, пока общая масса картофеля не уменьшилась в 4 раза, что соответствует влажностному содержанию 0,14 ± 0,01 кг/кг (кубики картофеля твердые и хрупкие).

Влажностное содержание картофеля в процессе сушки определялось по формуле:

$$w^0 = \frac{W}{G_c} \quad (1)$$

где W – масса влаги; G_c – масса сухого картофеля.

Скорость сушки определялась методом численного дифференцирования:

$$\frac{dw^0}{d\tau} = - \frac{w_{i+1}^0 - w_i^0}{\tau_{i+1} - \tau_i} \quad (2)$$

где w_i^0 – влажностное содержание картофеля в момент времени τ_i ; w_{i+1}^0 – влажностное содержание в момент времени τ_{i+1} .

Результаты и их обсуждение

Кривые сушки картофеля конвективным способом (контрольный эксперимент) и одновременным воздействием нагретого воздуха и ультразвуковыми колебаниями с различными уровнями звукового давления представлены на рисунке 4.

Время сушки конвективным способом составило 630 мин. Ультразвуковое воздействие с уровнем звукового давления 175 дБ уменьшает время сушки до 270 мин, т. е. в 2,3 раза (табл. 2).

Эффективность сушки рассчитывалась по уменьшению времени сушки относительно конвективного способа (контрольный эксперимент). Как было указано ранее, УЗ-колебания с малым уровнем звукового давления (менее 130 дБ) не интенсифицируют процесс сушки. Эксперименты по сушке картофеля с уровнем звукового давления 140 и 150 дБ показали линейное сокращение времени процесса. Начиная со 150 и до 165 дБ, наблюдалось нелинейное ускорение процесса сушки. При более высоких уровнях звукового давления (165–175 дБ) нелинейность исчезала и эффективность падала.

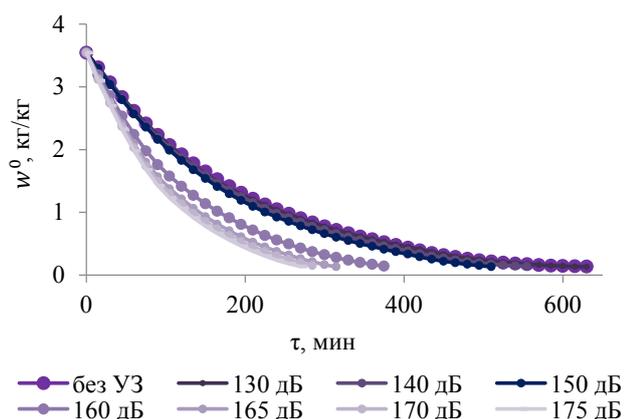


Рисунок 4. Кривые сушки картофеля в неподвижном тонком слое при различных уровнях звукового давления

Figure 4. Drying curves for a fixed thin layer of potatoes at different sound pressure levels

Анализ протекания процесса сушки во времени при различных влагосодержаниях картофеля был проведен по кривым скорости сушки (рис. 5)

В экспериментах с уровнем звукового давления до 150 дБ наблюдалась постоянная скорость сушки до влагосодержания 2,9. При воздействии высоких уровней звукового давления скорость сушки на начальном этапе имела максимум, который показал высокую эффективность обезвоживания картофеля.

Начальное влагосодержание картофеля во всех экспериментах составляло 3,56 кг/кг. Поэтому для оценки эффективности сушки на разных этапах процесса было решено разделить процесс сушки на 2 равных периода по влажности: высокое влагосодержание (более 1,78) и малое влагосодержание (менее 1,78). В этих периодах были усреднены скорости и построены их зависимости относительно уровня звукового давления (рис. 6).

В период высокого влагосодержания (более 1,78) наблюдался нелинейный рост средней скорости в диапазоне 150–165 дБ, который составлял до 26 % при увеличении уровня звукового давления на 5 дБ. В экспериментах с другими уровнями звукового давления рост скорости сушки не превышал 6 % на 5 дБ. Рост скорости сушки рассчитывался по выражению:

$$\frac{\left(\frac{dw^0}{d\tau}\right)_{i+1} - \left(\frac{dw^0}{d\tau}\right)_i}{\left(\frac{dw^0}{d\tau}\right)_0} \quad (3)$$

где $\left(\frac{dw^0}{d\tau}\right)_i$ – скорость сушки при начальном уровне звукового давления в определяемом диапазоне давлений; $\left(\frac{dw^0}{d\tau}\right)_{i+1}$ – скорость сушки при конечном уровне звукового давления в определяемом диапазоне давлений; $\left(\frac{dw^0}{d\tau}\right)_0$ – скорость сушки при уровне звукового давления $L = 0$ дБ (конвективная сушка).

Значительный рост скорости сушки в диапазоне 150–165 дБ может быть обусловлен реализацией механизма удаления влаги без фазового перехода, т. е. за счет диспергирования свободной влаги с поверхности высушиваемого материала ультразвуковыми колебаниями.

В период малого влагосодержания (менее 1,78) количество влаги на поверхности становится недостаточным для реализации ее диспергирования, поэтому скорость растет практически линейно с увеличением уровня звукового давления. Это соответствует классическим представлениям об интенсификации процесса сушки ультразвуковыми колебаниями посредством испарения.

Таким образом, эффективным уровнем звукового давления для сушки продуктов питания является диапазон 160–165 дБ. В нем наблюдается максимальный рост скорости сушки. Дальнейшее увеличение уровня звукового давления, хоть и приводит к уменьшению времени сушки, но требует значительных энергетических затрат.

Картофель высушенный конвективно и с наложением ультразвуковых колебаний был исследован органолептическими методами для сравнения характеристик по внешнему виду и внутренней структуре (рис. 7).

Картофель, высушенный только конвективным способом, имеет более темный цвет, сильнее заметны изменения геометрических размеров, внутренняя структура более хрупкая снаружи, но влажная внутри, по сравнению с картофелем, высушенным в ультразвуковом поле. Органолептическая оценка показала, что сушка при ультразвуковом воздействии позволяет получить качественный продукт питания. Основным влияющим фактором является значительная глубина проникновения ультразвука в глубину материала и уменьшенное время сушки.

Таблица 2. Время сушки картофеля до влагосодержания 0,14 при различных уровнях звукового давления

Table 2. Drying time for potatoes to a moisture content of 0.14 at various sound pressure levels

	Уровень звукового давления, дБ							
	0	130	140	150	160	165	170	175
Время сушки, мин	630	630	555	510	375	315	285	270
Эффективность сушки, %	0	0	12,7	19,0	40,5	50,0	54,8	57,1

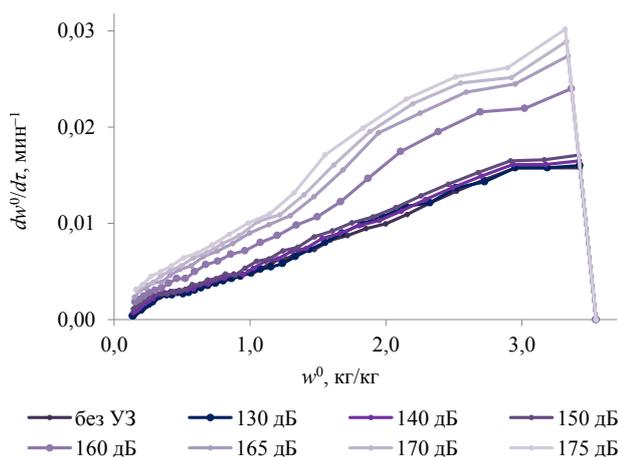


Рисунок 5. Кривые скорости сушки картофеля при различных уровнях звукового давления

Figure 5. Curves of potato drying rate at different sound pressure levels

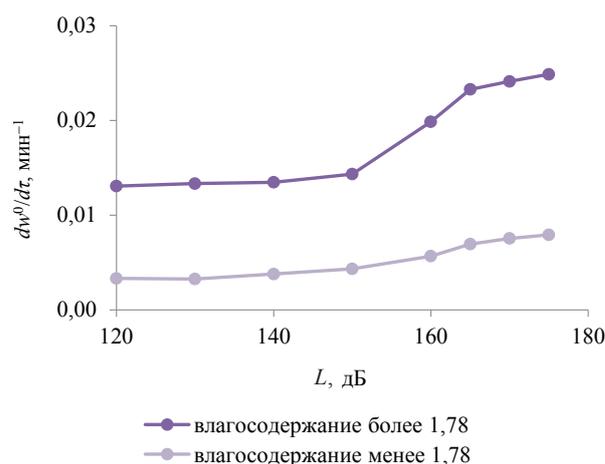


Рисунок 6. Зависимость средней скорости сушки картофеля от уровня звукового давления

Figure 6. Effect of sound pressure level on the average potato drying rate

Таким образом, проведенные эксперименты по сушке картофеля в тонком слое малой массы показали высокую эффективность ультразвукового воздействия с получением продукта питания лучшего качества. Однако для полупромышленного применения необходимо в десятки раз увеличить массу одновременно высушиваемого продукта, сохраняя незначительную толщину слоя (10–30 мм).

Для повышенной производительности сушки продуктов питания при одновременном обеспечении улучшенного качества конечного продукта было предложено два варианта ультразвуковых сушильных камер.

Первый вариант ультразвуковой сушильной камеры представляет собой горизонтально расположенный цилиндрический барабан (рис. 8). Внутри барабана 1 соосно с ним размещаются жестко закрепленные цилиндрические поверхности 2 и 3 с продольными

отверстиями 5 для пересыпания высушиваемого продукта 6. Продольно на внутренних и внешних цилиндрических поверхностях и внутренней поверхности барабана располагаются лопасти 4, обеспечивающие удержание высушиваемого продукта в процессе вращения барабана. Перед торцевой стенкой барабана соосно расположен ультразвуковой дисковый излучатель. Ультразвуковое воздействие на высушиваемый продукт осуществляется непрерывно на частоте 22 кГц с уровнем звукового давления 160–165 дБ. Усиление ультразвуковых колебаний обеспечивается выбором расстояния (кратном половине длины волны используемых ультразвуковых колебаний в воздухе) от излучающего диска до противоположной торцевой стенки. Поток сушильного воздуха направлен от торцевой стенки барабана к противоположной торцевой стенке, возле которой находится излучатель, т. е. вдоль сушильного барабана навстречу излучателю.

Сыпучий продукт питания помещают через технологическое отверстие в барабан и с помощью электродвигателя начинают вращать с частотой 5–10 об/мин в зависимости от свойств продукта. В результате подхватывания лопастями высушиваемого материала и его пересыпания происходит равномерное размещение продукта в объеме барабана (рис. 8b). Продукт пересыпается небольшими порциями с внутренней поверхности внешнего барабана на внешнюю цилиндрическую поверхность меньшего диаметра и затем на его внутреннюю поверхность и внешнюю поверхность меньшего диаметра. Одновременно происходит обратный процесс пересыпания из цилиндрических поверхностей меньшего диаметра на поверхности большего диаметра.

Для подтверждения эффективности предложенной конструкции горизонтальной ультразвуковой сушилки

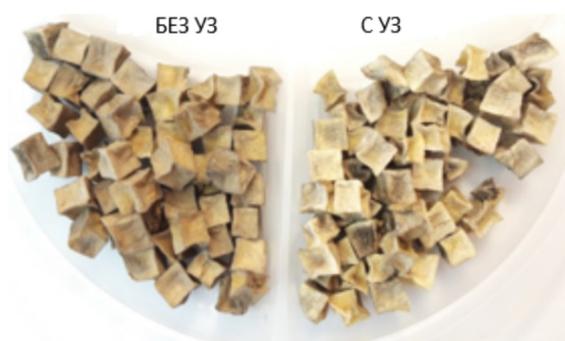


Рисунок 7. Внешний вид высушенного картофеля

Figure 7. Appearance of dried potato samples

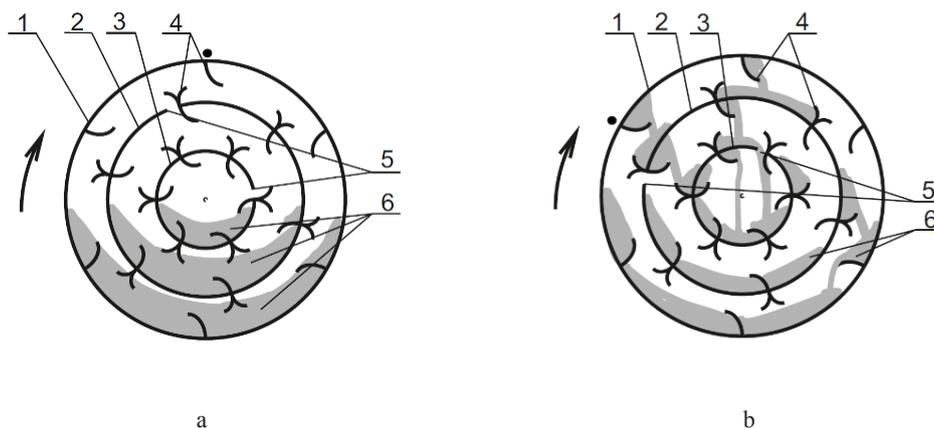


Рисунок 8. Сечение барабана сушильной камеры горизонтального типа в: а – начальный момент времени; б – процессе сушки: 1 – внешний барабан; 2, 3 – внутренние цилиндрические поверхности; 4 – лопасти; 5 – продольные отверстия; 6 – высушиваемый продукт

Figure 8. Drum of the horizontal drying chamber: a – at the onset; b – during drying: 1 – external drum; 2, 3 – inner cylindrical surfaces; 4 – blades; 5 – longitudinal holes; 6 – dried product

были проведены эксперименты по сушке картофеля при тех же условиях сушильного воздуха, что и сушка в неподвижном тонком слое: температура $t = 60 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, скорость потока сушильного воздуха $0,50 \pm 0,03 \text{ м/с}$. При этом масса продукта была увеличена до 6 кг. Эксперимент по сушке с ультразвуковым воздействием проводился при уровне звукового давления 160–165 дБ, обеспечивающим максимальную эффективность процесса. Взвешивание проводилось каждые 30 мин. Кривые сушки представлены на рисунке 9.

Из представленных кривых сушки следует, что в контрольном эксперименте (конвективная сушка) картофель достиг влагосодержания $0,14 \pm 0,01 \text{ кг/кг}$ за 510 мин. Это на 120 мин быстрее, чем

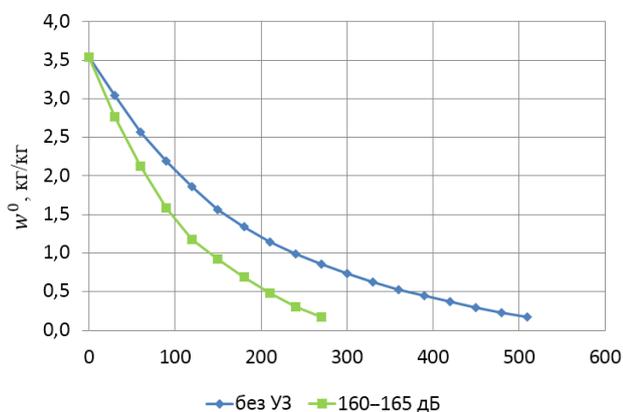


Рисунок 9. Кривые сушки картофеля в сушильной камере горизонтального типа

Figure 9. Curves for drying potatoes in the horizontal drying chamber

время сушки в неподвижном слое в лабораторной сушильной установке. Сокращение времени сушки обусловлено тем, что в сушильной установке идет непрерывное пересыпание высушиваемого материала. Наложение ультразвуковых колебаний с уровнем звукового давления 160–165 дБ в дополнение к нагретому воздуху сократило время сушки на 240 мин (на 47 %) – до 270 мин.

Сокращение времени сушки, полученное при воздействии ультразвуковыми колебаниями во вращающемся горизонтальном барабане, совпадает с результатом, полученным при том же уровне звукового давления на неподвижный слой картофеля (в лабораторной сушильной установке).

Вторым вариантом ультразвуковой сушильной камеры является вертикально расположенный барабан (рис. 10).

Высушиваемый сыпучий продукт 1 размещается в цилиндрическом барабане 2 диаметром D на нижней торцевой стенке и поверхностях спирального лотка 3. Спиральный лоток внутри барабана выполнен таким образом, что его внутренний диаметр d увеличивается снизу вверх. Причем шаг спиралей лотка C составляет не менее 30 мм.

Перемещение продукта питания по виткам спирального лотка осуществляется за счет вибрации и вращения спирального лотка. Для этого используют вибропривод 4, который обеспечивает механические воздействия вертикальной и горизонтальной направленности. В течение всего времени сушки происходит ультразвуковое воздействие излучателем 5 на высушиваемый продукт. При этом ультразвуковые колебания многократно перенаправляются отражателями 6, выполненными под углом 45° на

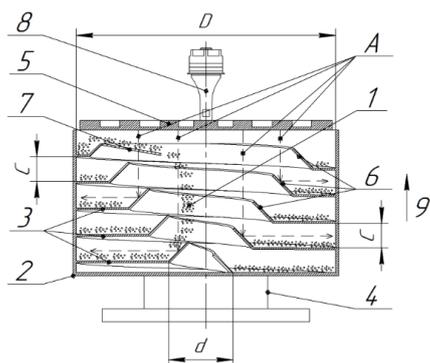


Рисунок 10. Конструкция ультразвуковой барабанной сушилки вертикального типа: 1 – высушиваемый материал; 2 – цилиндрический барабан; 3 – спиральный лоток; 4 – вибропривод; 5 – ультразвуковой излучатель; 6 – отражатель ультразвуковых колебаний; 7 – верхний виток спирального лотка; 8 – пьезоэлектрический преобразователь; 9 – направление воздушного потока; А – направление распространения ультразвуковых колебаний; D – диаметр барабана; d – внутренний диаметр витков спирального лотка; C – расстояние между витками спирального лотка

Figure 10. Vertical ultrasonic drum dryer: 1 – raw material; 2 – cylindrical drum; 3 – spiral tray; 4 – vibration drive; 5 – ultrasonic emitter; 6 – reflector of ultrasonic vibrations; 7 – upper turn of the spiral tray; 8 – piezoelectric transducer; 9 – direction of the air flow; A – direction of propagation of ultrasonic vibrations; D – drum diameter; d – inner diameter of the curves of the spiral tray; C – distance between the curves of the spiral tray

внутренней поверхности спирального лотка. При достижении продуктом верхнего витка спирального лотка 7 он сыпается в нижнюю часть барабана.

Эксперименты по сушке картофеля в вертикальном барабане проводились в условиях аналогичным описанной выше барабанной сушилки горизонтального типа. Кривые сушки картофеля в ультразвуковом барабане вертикального типа представлены на рисунке 11.

Время конвективной сушки составило 540 мин, что на 30 мин дольше, чем в горизонтальном барабане. Это можно объяснить менее эффективным обдуванием картофеля теплым воздухом, т. е. ухудшением гидродинамических условий. Сушка в ультразвуковом поле длилась 300 мин. Эффективность ультразвуковой сушки по времени составила 44 %. Это, с точностью до погрешности на шаг дискретизации по времени, совпадает с результатом в горизонтальном барабане.

Проведенные исследования показали эффективность применения ультразвука для интенсификации процесса сушки и перспективность предложенных и разработанных конструкций сушильных камер, обеспечивающих равномерное распределение

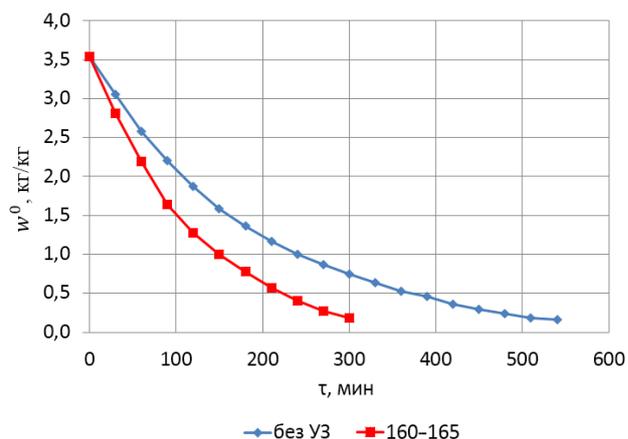


Рисунок 11. Кривые сушки картофеля в вертикальном барабане

Figure 11. Curves for drying potatoes in the vertical drum

(пересыпание) высушиваемого материала и резонансное усиление ультразвуковых колебаний, для промышленного применения.

Выводы

В предложенной работе достигнуты следующие результаты:

1. Показана перспективность конвективной сушки совместно с ультразвуковым воздействием на примере сушки картофеля (сокращение времени процесса и улучшение внешнего вида высушенного продукта);

2. Установлено, что максимальный эффект ультразвукового воздействия на процесс конвективной сушки овощей достигается при уровне звукового воздействия в пределах 160–165 дБ;

3. Для практической реализации конвективной сушки совместно с ультразвуковым воздействием в условиях выявленных оптимальных уровней ультразвукового давления предложены и разработаны конструкции сушильных установок, реализующих непрерывное перемещение (пересыпание) высушиваемого материала:

– с горизонтальным барабаном;

– с вертикальным барабаном;

4. Проведенные исследования функциональных возможностей изготовленных образцов сушилок при конвективной сушке совместно с ультразвуковым воздействием показали возможность сокращения времени сушки на 44–47 % по сравнению с конвективной сушкой без ультразвукового воздействия.

Критерии авторства

Все авторы внесли равный вклад в создание исследования, обработку и анализ полученных результатов, а также в оформлении статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

development, processing, data analysis, and manuscript design.

Conflict of interest

Contribution

All authors equally contributed to the research

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

Список литературы

1. Influence of dual-stage sugar substitution pretreatment on drying kinetics and quality parameters of mango / R. A. B. de Medeiros [et al.] // *LWT – Food Science and Technology*. 2016. Vol. 67. P. 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.049>.
2. Ultrasound- and microwave-assisted intermittent drying of red beetroot / J. Szadzińska [et al.] // *Drying Technology*. 2020. Vol. 38. № 1–2. P. 93–107. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1624565>.
3. Kowalski S. J. Ultrasound in wet materials subjected to drying: A modeling study // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. 2015. Vol. 84. P. 998–1007. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2015.01.086>.
4. Omolola A. O., Jideani A. I. O., Kapila P. F. Quality properties of fruits as affected by drying operation // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017. Vol. 57. № 1. P. 95–108. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.859563>.
5. Recent developments in high-quality drying of vegetables, fruits and aquatic products / M. Zhang [et al.] // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017. Vol. 57. № 6. P. 1239–1255. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.979280>.
6. Снежкин Ю. Ф., Шапарь Р. А. Обоснование режимов низкотемпературной сушки // Актуальные проблемы сушки и термовлажностной обработки материалов в различных отраслях промышленности и агропромышленном комплексе: сборник научных статей Первых Международных Лыковских научных чтений. Курск, 2015. С. 134–136.
7. Onwude D. I., Hashim N., Chen G. Recent advances of novel thermal combined hot air drying of agricultural crops // *Trends in Food Science and Technology*. 2016. Vol. 57. P. 132–145. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.012>.
8. Junqueira J. R. J., Correa J. L. G., Ernesto D. B. Microwave, convective, and intermittent microwave–convective drying of pulsed vacuum osmodehydrated pumpkin slices // *Journal of Food Processing and Preservation*. 2017. Vol. 41. № 6. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13250>.
9. Ghavidelan M. A., Chayjan R. A. Modeling engineering characteristics of hazelnut kernel during infrared fluidized bed drying // *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2017. Vol. 11. № 2. P. 460–478. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9414-0>.
10. Musielak G., Mierzwa D., Kroehnke J. Food drying enhancement by ultrasound – A review // *Trends in Food Science and Technology*. 2016. Vol. 56. P. 126–141. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.003>.
11. Non-thermal hybrid drying of fruits and vegetables: A review of current technologies / D. I. Onwude [et al.] // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017. Vol. 43. P. 223–238. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.08.010>.
12. Application of power ultrasound on the convective drying of fruits and vegetables: effects on quality / O. Rodriguez [et al.] // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018. Vol. 98. № 5. P. 1660–1673. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8673>.
13. Applications of airborne ultrasonic technology in the food industry / C. M. G. Charoux [et al.] // *Journal of Food Engineering*. 2017. Vol. 208. P. 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.030>.
14. Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel / E. M. G. C. Do Nascimento [et al.] // *Journal of Food Engineering*. 2015. Vol. 170. P. 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015>.
15. Influence of air velocity and temperature on ultrasonically assisted low temperature drying of eggplant / J. V. Santacatalina [et al.] // *Food and Bioprocess Processing*. 2016. Vol. 100. P. 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.07.010>.
16. Use of ultrasound for dehydration of mangoes (*Mangifera indica* L.): kinetic modeling of ultrasound-assisted osmotic dehydration and convective air-drying / F. A. N. Fernandes [et al.] // *Journal of Food Science and Technology*. 2019. Vol. 56. № 4. P. 1793–1800. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03622-y>.
17. Mendez-Calderon E. K., Ocampo-Castano J. C., Orrego C. E. Optimization of convective drying assisted by ultrasound for mango tomy (*Mangifera indica* L.) // *Journal of Food Process Engineering*. 2018. Vol. 41. № 1. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12634>.
18. Розенберг Л. Д. Физика и техника мощного ультразвука: (в 3 кн.). М.: Наука, 1967–1970.
19. Хмелев В. Н., Шалунов А. В., Нестеров В. А. Повышение равномерности амплитуд колебаний анизотропных ультразвуковых дисковых излучателей для газовых сред // *Южно-Сибирский научный вестник*. 2019. Т. 25. № 1. С. 20–24. <https://doi.org/10.25699/SSSB.2019.25.27602>.
20. Верболоз Е. И., Николук О. И. Применение ультразвука при сушке макаронных изделий с белковыми добавками // *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2017. Т. 79. № 1 (71). С. 50–54. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-1-50-54>.

21. Юдин А. В., Верболоз Е. И. Эффективность сушки кипрей-чая с применением ультразвука // Альманах научных работ молодых ученых Университета ИТМО: Материалы XLVI научной и учебно-методической конференции. СПб, 2017. С. 332–335.

22. Ультразвуковая сушилка: пат. 195247U1 Российская Федерация. № 2019128227 / Хмелев В. Н. [и др.]; заявл. 06.09.2019; опубл. 21.01.2020, Бюл. № 11. 1 с.

References

1. de Medeiros RAB, Barros ZMP, de Carvalho CBO, Neta EGF, Maciel MIS, Azoubel PM. Influence of dual-stage sugar substitution pretreatment on drying kinetics and quality parameters of mango. *LWT – Food Science and Technology*. 2016;67:167–173. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.049>.

2. Szadzińska J, Mierzwa D, Pawłowski A, Musielak G, Pashminehazar R, Kharaghani A. Ultrasound- and microwave-assisted intermittent drying of red beetroot. *Drying Technology*. 2020;38(1–2):93–107. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1624565>.

3. Kowalski SJ. Ultrasound in wet materials subjected to drying: A modeling study. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. 2015;84:998–1007. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2015.01.086>.

4. Omolola AO, Jideani AIO, Kapila PF. Quality properties of fruits as affected by drying operation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(1):95–108. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.859563>.

5. Zhang M, Chen H, Mujumdar AS, Tang J, Miao S, Wang Y. Recent developments in high-quality drying of vegetables, fruits and aquatic products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(6):1239–1255. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.979280>.

6. Snezhkin YuF, Shapar RA. The argumentation of low-temperature drying conditions of thermolabile materials. *Aktual'nye problemy sushki i termovlazhnostnoy obrabotki materialov v razlichnykh otraslyakh promyshlennosti i agropromyshlennom komplekse: sbornik nauchnykh statey Pervykh Mezhdunarodnykh Lykovskikh nauchnykh chteniy [Relevant issues of drying and thermal and moisture treatment of materials in various industries and agriculture: Proceedings of the First International Lykov scientific readings]*; 2015. Moscow. Kursk: University Book; 2015. p. 133–136. (In Russ.).

7. Onwude DI, Hashim N, Chen G. Recent advances of novel thermal combined hot air drying of agricultural crops. *Trends in Food Science and Technology*. 2016;57:132–145. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.012>.

8. Junqueira JRJ, Correa JLG, Ernesto DB. Microwave, convective, and intermittent microwave–convective drying of pulsed vacuum osmodehydrated pumpkin slices. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2017;41(6). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13250>.

9. Ghavidelan MA, Chayjan RA. Modeling engineering characteristics of hazelnut kernel during infrared fluidized bed drying. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2017;11(2):460–478. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9414-0>.

10. Musielak G, Mierzwa D, Kroehnke J. Food drying enhancement by ultrasound – A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2016;56:126–141. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.003>.

11. Onwude DI, Hashim N, Janius R, Abdan K, Chen G, Oladejo AO. Non-thermal hybrid drying of fruits and vegetables: A review of current technologies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2017;43:223–238. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.08.010>.

12. Rodriguez O, Eim V, Rosselló C, Femenia A, Cárcel JA, Simal S. Application of power ultrasound on the convective drying of fruits and vegetables: effects on quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018;98(5):1660–1673. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8673>.

13. Charoux CMG, Ojha KS, O'Donnell CP, Cardoni A, Tiwari BK. Applications of airborne ultrasonic technology in the food industry. *Journal of Food Engineering*. 2017;208:28–36. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.030>.

14. Do Nascimento EMGC, Mulet A, Ascheri JLR, De Carvalho CWP, Cárcel JA. Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel. *Journal of Food Engineering*. 2015;170:108–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.09.015>.

15. Santacatalina JV, Soriano JR, Cárcel JA, Garcia-Perez JV. Influence of air velocity and temperature on ultrasonically assisted low temperature drying of eggplant. *Food and Bioproducts Processing*. 2016;100:282–291. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.07.010>.

16. Fernandes FAN, Braga TR, Silva EO, Rodrigues S. Use of ultrasound for dehydration of mangoes (*Mangifera indica* L.): kinetic modeling of ultrasound-assisted osmotic dehydration and convective air-drying. *Journal of Food Science and Technology*. 2019;56(4):1793–1800. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03622-y>.

17. Mendez-Calderon EK, Ocampo-Castano JC, Orrego CE. Optimization of convective drying assisted by ultrasound for mango tomy (*Mangifera indica* L.). *Journal of Food Process Engineering*. 2018;41(1). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12634>.

18. Rozenberg LD. *Fizika i tekhnika moshchnogo ul'trazvuka: (v 3 kn.) [Physics and technology of powerful ultrasound: (in 3 vols.)]*. Moscow: Nauka; 1967–1970. (In Russ.).

19. Khmelev VN, Shalunov AV, Nesterov VA. Increasing of uniformity of amplitude of vibrations of anisotropic ultrasonic disk radiators for gaseous media. South-Siberian Scientific Bulletin. 2019;25(1):20–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.25699/SSSB.2019.25.27602>.

20. Verboloz EI, Nikolyyuk OI. The use of ultrasound in the process of drying pasta with protein supplements. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2017;79(1)(71):50–54. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-1-50-54>.

21. Yudin AV, Verboloz EI. Ehffektivnost' sushki kiprey-chaya s primeneniem ul'trazvuka [Efficiency of drying fireweed tea using ultrasound]. Al'manakh nauchnykh rabot molodykh uchenykh Universiteta ITMO: Materialy XLVI nauchnoy i uchebno-metodicheskoy konferentsii [Almanac of scientific works of young researchers of ITMO University: Proceedings of XLVI research and academic conference]; 2017; St. Petersburg. St. Petersburg: ITMO University; 2017. p. 332–335. (In Russ.).

22. Khmelev VN, Shalunov AV, Khmelev MV, Nesterov VA, Tertishnikov PP, Tsyganok SN. Ul'trazvukovaya sushilka [Ultrasound dryer]. Russia patent RU 195247U1. 2020.

Разработка способа экстракции бета-каротина для его определения в комплексных пищевых добавках



Н. В. Рудометова^{1,*}, К. Е. Кулишова^{1,2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН^{ROR}, Санкт-Петербург, Россия

² Университет ИТМО^{ROR}, Санкт-Петербург, Россия

Дата поступления в редакцию: 19.02.2021

Дата принятия в печать: 15.04.2021



*e-mail: natrudjob@mail.ru

© Н. В. Рудометова, К. Е. Кулишова, 2021

Аннотация.

Введение. Для предотвращения превышения максимально допустимого уровня потребления бета-каротина необходимо контролировать его поступление из всех источников. Пищевой краситель Е160а используется при производстве пищевой продукции в виде комплексных пищевых добавок, содержащих другие пищевые добавки, затрудняющие выделение и количественное определение красителя. В работе изучены способы экстракции бета-каротина из жидких и сухих комплексных пищевых добавок различного состава.

Объекты и методы исследования. Коммерческие образцы комплексных пищевых добавок, содержащие пищевой краситель бета-каротин. Краситель из образцов выделяли методами жидкостной экстракции с использованием органических растворителей и их смесей. Экстракцию проводили при постоянном механическом перемешивании или ультразвуковом воздействии. Идентификацию каротинов проводили методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Содержание бета-каротина в полученных экстрактах определяли спектрофотометрическим методом.

Результаты и их обсуждение. Интенсивное механическое перемешивание приводит к образованию стойких непрозрачных эмульсий и затрудняет последующее количественное определение бета-каротина. Ультразвуковое воздействие приводит к разрушению эмульсии и ускорению экстракции. Степень извлечения бета-каротина из жидких эмульсионных систем (не менее 95 %) достигается при ультразвуковой экстракции хлороформом или бинарным экстрагентом на основе смесей ацетона с хлороформом, гексаном или петролейным эфиром. Для экстракции бета-каротина из сухих образцов предложен способ, при котором образец при интенсивном перемешивании диспергируется в воде, а экстракция проводится бинарным экстрагентом этанол:хлороформ с объемным соотношением 1:2. Степень экстракции бета-каротина достигает 98 %. Для идентификации бета-каротина подобраны три элюиционные системы гексан:бензол (9,7:0,3); бутанол:метилэтилкетон:аммиак 10 % (9:6:6) и петролейный эфир:бензол:ацетон:уксусная кислота (23,3:5,8:0,6:0,3).

Выводы. Разработаны способы экстракции бета-каротина из жидких и сухих комплексных пищевых добавок. Подобраны элюиционные системы для идентификации каротинов. Показана эффективность предложенных способов, обеспечивающих отсутствие деградации и полноту экстракции бета-каротина. Разработанные способы могут быть рекомендованы при подготовке проб комплексных пищевых добавок для идентификации и количественного определения бета-каротина.

Ключевые слова. Каротиноиды, пищевые красители, экстракция, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография

Финансирование. Работа выполнена на базе Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок (ВНИИПД)^{ROR} в рамках НИР 0585-2019-0044 «Исследовать биотехнологические аспекты использования потенциала микроорганизмов различных таксономических групп с учётом применения супрамолекулярных комплексов и наноструктур, эффективного инструментального контроля пищевых матриц для получения новых инновационных ингредиентов пищевого и кормового назначения».

Для цитирования: Рудометова Н. В., Кулишова К. Е. Разработка способа экстракции бета-каротина для его определения в комплексных пищевых добавках // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 374–386. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-374-386>.

Beta-Carotene Extraction in Complex Food Additives

Natalia V. Rudometova^{1,*}, Kseniia E. Kulishova^{1,2}

¹ All-Russia Research Institute for Food Additives – Branch of V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS^{ROR}, St. Petersburg, Russia

² ITMO University^{ROR}, St. Petersburg, Russia

Received: February 19, 2021

Accepted: April 15, 2021



*e-mail: natrudjob@mail.ru

© N.V. Rudometova, K.E. Kulishova, 2021

Abstract.

Introduction. Natural dye beta-carotene E160a (pro-vitamin A) is part of many functional foods. Therefore, the total intake of beta-carotene must not exceed the tolerable upper intake level, i.e. 10 mg/day. E160a is also used in formulations of complex food additives. These products contain antioxidants, emulsifiers, preservatives, carriers, stabilizers, and thickeners, which makes it make difficult to isolate and determine the amount of beta-carotene. Complex food additives vary in composition, which, together with incomplete extraction and degradation of beta-carotene, results in inaccuracy of its determination. The present research reviewed various techniques of beta-carotene extraction from liquid and dry complex food additives.

Study objects and methods. The study featured commercial samples of complex food additives containing beta-carotene. It was isolated from the samples by liquid extraction methods using organic solvents and their binary mixtures. The extraction was performed in a stirring device at 120 rpm and in a Bandelin Sonorex ultrasonic bath at 128 W and 35 kHz. The extraction continued until the samples were completely discolored. The list of solvents included chloroform, petroleum ether, hexane, acetone, ethanol, and their mixes. The experiment was based on high performance thin layer chromatography with Sorbfil sheet plates. The optical density was determined by spectrophotometry using a SHIMADZU UV-1800 device.

Results and discussion. The extraction of beta-carotene from liquid samples with mechanical stirring at 120 rpm led to the formation of stable opaque emulsions, which made it difficult to determine the amount of beta-carotene. The emulsions were destroyed by ultrasound exposure for 30 min. The degree of extraction of beta-carotene from liquid emulsion systems ($\geq 95\%$) was achieved by ultrasonic extraction with chloroform or a binary extractant based on mixes of acetone with chloroform, hexane, or petroleum ether in volumetric ratios of 1:1. When extracted from dry samples using chloroform or binary extractants, beta-carotene was not isolated or was not completely isolated. As a result, pre-dispersion of dry samples in water with stirring at 120 rpm was proposed. Ultrasonic treatment did not contribute to the dispersion of dry samples due to insufficient cavitation action. Ethanol, which is a solubilizer, increased the extractability of beta-carotene up to 98 %. The optimal results were achieved by adding a binary extractant (ethanol:chloroform in a 1:2 ratio) to an aqueous solution of the dry sample (1:3). The optimal elution systems were hexane:benzene (9.7:0.3), butanol:methyl ethyl ketone:ammonia 10 % (9:6:6), and petroleum ether:benzene:acetone:acetic acid (23.3:5.8:0.6:0.3).

Conclusion. The article offers new methods of beta-carotene isolation from liquid and dry complex food additives of various composition and elution systems for carotene identification. The methods caused no degradation of beta-carotene during extraction and can be used to prepare samples of complex food additives for beta-carotene identification and quantitative analysis.

Keywords. Carotenoids, food colours, extraction, spectrophotometry, thin layer chromatography

Funding. The research was performed on the premises of the All-Russia Research Institute for Food Additives (VNIIPD)^{ROR} as a part of research plan No. 0585-2019-0044 “Investigate biotechnological aspects of using the potential of microorganisms of various taxonomic groups, taking into account the use of supramolecular complexes and nanostructures, effective instrumental control of food matrices to obtain new innovative ingredients for food and feed purposes”.

For citation: Rudometova NV, Kulishova KE. Beta-Carotene Extraction in Complex Food Additives. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):374–386. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-374-386>.

Введение

Современной тенденцией, стимулирующей рост потребительского спроса, является обогащение пищевой продукции биологически активными и функциональными ингредиентами [1, 2]. Настороженное отношение потребителей к пищевым добавкам и выполнение требований технических регламентов Таможенного союза о необходимости информирования потребителей о возможном отрицательном влиянии на активность и внимание детей некоторых синтетических красителей

способствуют росту производства пищевых продуктов, в состав которых входят красители природного происхождения. Пищевой краситель бета-каротин E160a, являющийся также провитамином А, активно применяется в производстве различной пищевой продукции, в том числе функциональной [3–5]. В соответствии с Методическими рекомендациями МР 2.3.1.2432-08 рекомендованная норма потребления бета-каротина, определяемая физиологической потребностью организма взрослого человека, составляет 5 мг/сут, а верхний допустимый уровень

поступления не должен превышать 10 мг/сут [6]. Для предотвращения избыточного потребления бета-каротина и возникновения побочных эффектов и осложнений необходимо учитывать все источники его поступления в организм человека, в том числе поступления в качестве пищевого красителя E160a. Максимально допустимые уровни (МДУ) красителя E160a в различной пищевой продукции установлены стандартом Кодекса Алиментарии CODEX STAN 192-1995 ФАО-ВОЗ на основе величины допустимого суточного поступления и массы продукта в пищевом рационе взрослого человека. МДУ зависит от сырьевого источника, способа получения красителя и вида пищевой продукции, в которой предполагается его использование. Например, если краситель получен методами химического или микробного синтеза, то МДУ в креме на основе растительных жиров для всех видов каротина составляет 20 мг/кг, в сладких соусах – 100 мг/кг; если получен из съедобных растений – 20 г/кг. Аналогичные требования предполагается ввести и в новую редакцию Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 029/2012.

Бета-каротин – непредельный углеводород из группы каротиноидов (рис. 1). Он обладает большим промышленным значением из-за довольно широкого спектра экономически выгодных способов его получения. Пищевой краситель E160a может быть получен методом химического синтеза, ферментацией зигомицета *Blakeslea trispora*, экстракцией из съедобных растений или водорослей вида *Dunaliella salina* [7–10].

Каротиноиды в составе пищевых матриц относительно стабильны при термической обработке [11, 12]. Однако в растворах они чрезвычайно чувствительны не только к нагреванию, но и к воздействию кислот, кислорода и света [13]. Подвергаясь окислению, каротиноиды нейтрализуют синглетный кислород, поэтому являются мощными антиоксидантами. Окислительное разложение бета-каротина представляет собой сложный

многостадийный процесс, протекающий через образование промежуточных моно- и бирадикальных форм, апокаротеналей и других соединений [14]. Поэтому при работе с каротиноидами необходимы меры предосторожности, такие как проведение экспериментов в темноте, в атмосфере азота или аргона, хранение при температуре 20 °С и использование стабилизаторов. Химическая структура каротиноидов с их длинной углеродной цепью и конъюгированными двойными связями предопределяет их свойства как нейтрализаторов свободных радикалов и иммуномодуляторов [15, 16]. Обесцвечивание каротиноидов при окислении свидетельствует о том, что антиоксидантное действие каротиноидов связано с наличием в их структуре большого числа ненасыщенных связей [17]. Однако бета-каротин может функционировать и как активатор окислительных процессов [18]. Как соединения с сопряженными двойными связями, каротиноиды имеют характерные спектры поглощения, характеристики которых приведены в таблице 1 [19–21].

Из-за высокой лабильности, нерастворимости в водных средах и сложностей при дозировании кристаллический бета-каротин практически не используется в пищевой промышленности. Перечисленные недостатки могут быть частично устранены при использовании красителя в виде комплексных пищевых добавок. В их состав входят различные пищевые добавки и ингредиенты, чьи действия направлены на стабилизацию или модификацию свойств бета-каротина в результате образования наноэмульсий, липосом, наноструктур, супрамолекулярных комплексов и клатратов [22–33]. Уменьшение деградации лабильных каротиноидов достигается при одновременном использовании щадящих технологических режимов и стабилизированных форм ингредиента [34]. Содержание бета-каротина в комплексных пищевых добавках составляет от 1 до 10 %. По информации производителей в составе комплексных пищевых добавок, кроме бета-каротина, содержатся антиоксиданты (E222, E300, E304, E307, E320, E321), эмульгаторы (E433, E471, E494), консерванты (E202, E211), носители, стабилизаторы и загустители (E414, E420, E422, E551, E1520). Наличие таких добавок, особенно эффективных эмульгаторов, приводит к необходимости разрушения эмульсионной системы для последующего количественного определения бета-каротина.

При извлечении красителя из водорастворимых или содержащих воду матриц экстрагент должен смешиваться с водой [17]. Эффективность экстракции каротиноидов определяется их структурой и свойствами. Поскольку бета-каротин является липофильным соединением, то он хорошо экстрагируется неполярными растворителями.



Рисунок 1. Структурная формула молекулы бета-каротина

Figure 1. Structural formula of beta-carotene molecule

Таблица 1. Спектральные характеристики пищевых красителей каротиноидной природы

Table 1. Spectral characteristics of food dyes of carotenoid nature

Краситель	Показатель		
	Растворитель	λ_{\max} , нм	$E_{1\%}^{1\text{см}}$
Бета-каротин E160a (i)	циклогексан	455	2500
	хлороформ	461	2396
	ацетон	453	2550
	этанол	450	2620
Аннато (биксин) E160b	хлороформ	493	2870
Ликопин E160d	гексан	470	3450
	хлороформ	484	–
	этанол	472	–
Бета-апокаротиналь E160e	циклогексан	461	2640
	хлороформ	477	–
	этанол	463	–
Астаксантин E160j	хлороформ	485	–
	ацетон	480	–
	этанол	478	–
Лютеин E161b	хлороформ:этанол 10:90	445	2550

В хорошо исследованных процессах экстракции каротиноидов из различного растительного сырья используется широкий спектр растворителей: этанол, ацетон, петролейный эфир, гексан, бензол, тетрагидрофуран, диэтиловый эфир и хлороформ [35–38]. При этом смеси растворителей, содержащие полярный и неполярный компоненты, например, гексан и ацетон или гексан и этанол, являются лучшими экстрагентами для извлечения каротиноидов [10, 16, 35, 38]. Для выделения бета-каротина из эмульсионных и липосомальных форм также используются многокомпонентные экстрагенты [24, 26]. В целях предотвращения фотохимического распада, сокращения времени анализа и интенсификации процесса предлагается проводить экстракцию бета-каротина диоксидом углерода в до- и сверхкритических условиях и при воздействии ультразвука и микроволн [9, 16, 39–43]. Необходимость дополнительной очистки, деградация и неполное извлечение каротиноидов из эмульсионных сред приводит к серьезным затруднениям при их анализе и большой погрешности определения [44, 45].

В связи с возможной деградацией в процессе производства пищевой продукции содержание бета-каротина, определенное «по закладке», может не соответствовать его действительному содержанию в готовом продукте. Поэтому, чтобы не вводить потребителя в заблуждение, необходимо определять содержание бета-каротина в пищевой продукции с использованием аналитических методов. Наиболее

изучены методы определения каротиноидов в растительном сырье. Для их идентификации и количественного определения применяют методы спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии [7, 9, 10, 16, 20, 21, 26–29, 36, 37, 42–44, 46]. Несмотря на большой объем работ, посвященных изучению свойств каротиноидов и методам их анализа, вопросы определения бета-каротина в комплексных пищевых добавках изучены недостаточно. Мультифункциональный состав комплексных добавок и наличие ингредиентов, обладающих сорбционными и эмульгирующими свойствами, затрудняют количественное определение каротиноидов. Отсутствие информации о качественном и количественном составе комплексных пищевых добавок приводит к необходимости оптимизации или даже разработки нового способа для анализа каждого пищевого матрикса. Действующие национальный ГОСТ Р 54058 и межгосударственный ГОСТ EN 12823-2 не распространяются на комплексные пищевые добавки. Поэтому исследование способов анализа пищевых матриксов, в состав которых входят каротиноиды, а именно наиболее часто применяемый в пищевых производствах бета-каротин, является актуальной задачей.

Целью работы является разработка способа экстракции бета-каротина из комплексных пищевых добавок для его идентификации и количественного определения.

Объекты и методы исследования

В работе были использованы химически чистые и особо чистые реактивы, рабочие стандартные образцы (PCO), кристаллический синтетический бета-каротин (Sigma-Aldrich, код 4582), биксин E160b, ликопин E160d, бета-апокаротиналь E160e, лютеин E161b (Allied Biotech Co.) с содержанием красящих веществ, соответствующих требованиям ТР ТС 029/2012. Также коммерческие образцы комплексных пищевых добавок в виде жидких водорастворимых и диспергируемых в воде и маслах эмульсий и сухих порошков с содержанием бета-каротина от 1 до 10 %. Состав комплексных пищевых добавок, по данным производителей, приведен в таблице 2.

Выделение бета-каротина из образцов проводили в защищенном от света месте при температуре 25 ± 2 °C в течение 30 мин при перемешивании стеклянной палочкой (СП) или на термостатированной перемешивающей установке УВМТ-12-250 (ТПУ) со скоростью вращения 120 об/мин, или в ультразвуковой ванне (УЗ) «Sonogex DK 255 P» с частотой ультразвука 35 кГц и мощностью 128 Вт.

Для определения бета-каротина в жидких образцах к 0,1 г анализируемой пробы, взвешенной с точностью до 0,001 г, добавляли от 30 до 60 см³ растворителя.

Таблица 2. Состав образцов комплексных пищевых добавок

Table 2. Composition of complex food additives

Наименование	Вид	Состав	
		пищевые добавки	бета-каротин E160a, %
Аквабетин 0151В	жидкий, вододиспергируемый	E433, E422, E322, E415, E307, E202	1,5
Аквабетин 0200В	жидкий, вододиспергируемый	E433, E422, E322, E415, E307, E202	2,0
Бета-каротин 1 % натуральный водорастворимый	жидкий, водорастворимый	E433, E300, E386	1,0
Бета-каротин 2 % натуральный водорастворимый	жидкий, водорастворимый	E433, E300, E386	2,0
Бета-каротин 3 % натуральный водорастворимый	жидкий, водорастворимый	E433, E300, E386	3,0
Натуральный краситель порошкообразный Бетанат 10 % CWDC/0	сухой, жирорастворимый	–	10,0
Пищевой краситель E160a	сухой, жирорастворимый	E494, E307	10,0
Бета-каротин Beadlet 10 % CWS-OS	сухой жирорастворимый	E1450, E307	10,0
Натуральный Бета-каротин 10 % Nutrex	сухой, вододиспергируемый	E307c, E304	10,0
Бета-каротин 1 % P-WS E160a	сухой, водорастворимый	E414, E420, E300, E307, E551	1,0

Пробы перемешивали до достижения однородного состояния, после чего определяли массовую долю бета-каротина. В качестве растворителей использовали: хлороформ, петролейный эфир, циклогексан, гексан, ацетон, этиловый спирт квалификации не ниже х. ч., а также смеси этих растворителей.

Выделение бета-каротина из сухих образцов проводили двумя способами. При первом способе к 0,1 г анализируемой пробы, взвешенной с точностью до 0,001 г, добавляли 30 см³ экстрагента, перемешивали до полного растворения или диспергирования пробы, после чего определяли массовую долю бета-каротина. При втором способе к 0,1 г анализируемой пробы, взвешенной с точностью до 0,001 г, добавляли 10 см³ дистиллированной воды, затем этанол, хлороформ и перемешивали смесь в течение 10 мин. Затем экстракты переносили в делительную воронку.

После отстаивания и разделения фаз отделяли нижний хлороформный слой и повторяли экстракцию, добавляя к водной фазе этанол и хлороформ.

Выделение бета-каротина из сухих образцов проводили до полного обесцвечивания водной фазы. Хлороформные экстракты объединяли. Суммарное время экстракции не превышало 1 ч. Для подтверждения стабильности бета-каротина в процессе анализа проводили измерения содержания бета-каротина в 1 % растворе рабочего стандартного образца в хлороформе в начале и в конце процесса экстракции.

Содержание бета-каротина в полученных свежеприготовленных растворах и экстрактах определяли по [19] спектрофотометрическим методом, в соответствии с данными таблицы 1, на двухлучевом сканирующем спектрофотометре

Таблица 3. Условия идентификации каротиноидов методом ВЭТСХ

Table 3. Conditions for HPTLC of carotenoids

Краситель	Значения R_f PCO красителей при разделении в элюентах		
	гексан:бензол (9,7:0,3)	бутанол:метилэтилкетон:аммиак 10 % (9:6:6)	петролейный эфир:бензол:ацетон:уксусная кислота (23,3:5,8:0,6:0,3)
E160a (i)	0,26 ± 0,03	0,89 ± 0,03	0,89 ± 0,02
E160b	–	0,35 ± 0,03	–
E160d	0	0,83 ± 0,03	0,86 ± 0,03 0,53 ± 0,03
E160e	0	0,81 ± 0,05	0,40 ± 0,03
E160j	0	0,83 ± 0,05	0,32 ± 0,03
E161b	–	0,33 ± 0,05	–

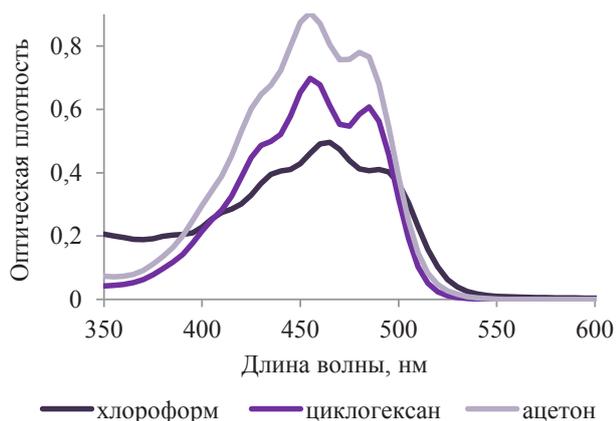


Рисунок 2. Спектры РСО бета-каротина в различных растворителях

Figure 2. Spectra of beta-carotene in various solvents

«SHIMADZU UV-1800» (Япония) в диапазоне длин волн 300–700 нм против растворителя. Эффективность экстракции оценивали путем сопоставления значений содержания бета-каротина в экстрактах с его исходным содержанием, заявленным производителем.

Для идентификации бета-каротина были подобраны условия высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). При них происходит разделение РСО пищевых красителей каротиноидной природы, оцениваемое по величине R_f с получением компактных пятен на пластине (табл. 3).

Идентификацию проводили на силикагелевых пластинах с полимерной подложкой «Sorbfil» ПТСХ-П-В размером 10×10 см в хроматографической камере и в защищенном от света месте. Для приготовления подвижной фазы необходимые объемы компонентов дозировали в колбу объемом 50 см³, закрывали пробкой, перемешивали и вносили в хроматографическую камеру в количестве, которое необходимо для погружения хроматографической пластины на глубину не более 0,5 см от нижнего края. Время насыщения камеры парами элюентов составляло 60 мин. Пробу наносили микрошприцом МШ-10. Объем наносимой пробы 10 мкл. В качестве рабочих стандартных образцов использовали растворы РСО каротиноидов в хлороформе с концентрацией $0,5 \pm 1,5$ мг/см³.

Математическую обработку экспериментальных данных проводили в программах Microsoft Excel 2013. Все измерения проводили в трех повторностях. Доверительные интервалы рассчитывали для доверительной вероятности $P = 95$ %. Абсолютная погрешность определения не превышает 10 %.

Результаты и их обсуждение

По результатам спектрофотометрического определения каротиноидов в различных растворителях (табл. 1, рис. 2) можно сделать вывод, что вид растворителя незначительно влияет на характер спектров и положение максимумов светопоглощения бета-каротина.

Неполярные реагенты, такие как хлороформ, ацетон и гексан, являются хорошими растворителями для

Таблица 4. Результаты определения бета-каротина в коммерческих образцах жидких комплексных пищевых добавок

Table 4. Beta-carotene in commercial samples of liquid complex food additives

Образец	Растворитель	Перемешивающее устройство	Содержание бета-каротина (от заявленного производителем), %
Аквабегин 0151В Аквабегин 0200В	хлороформ	СП	0
		ТПУ	30 ± 3
		УЗ	96 ± 5
	хлороформ:ацетон 1:1 ацетон:гексан 1:1	УЗ	95 ± 5
		УЗ	96 ± 5
Бета-каротин 1 % натуральный водорастворимый	хлороформ	СП	0
		ТПУ	25 ± 3
		УЗ	98 ± 5
Бета-каротин 2 % натуральный водорастворимый	хлороформ	СП	0
		ТПУ	30 ± 3
		УЗ	98 ± 5
Бета-каротин 3 % натуральный водорастворимый	хлороформ	СП	0
		ТПУ	28 ± 3
		УЗ	98 ± 5

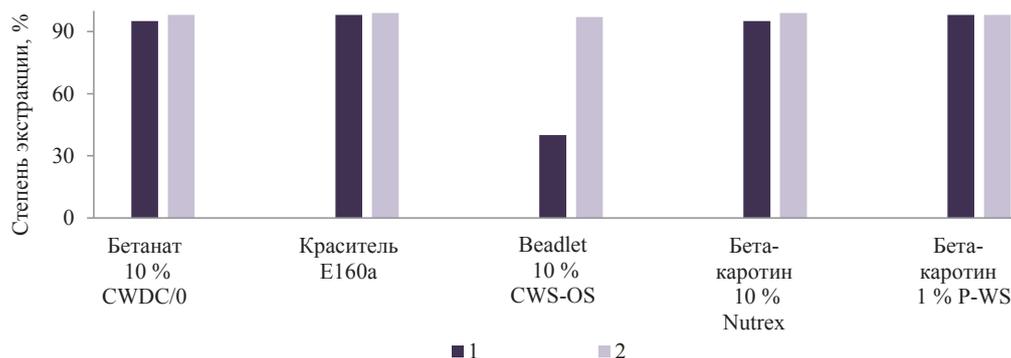


Рисунок 3. Влияние состава экстрагента на степень экстракции бета-каротина из водных растворов сухих образцов комплексных пищевых добавок: 1 – этанол:хлороформ v/v 3:4; 2 – этанол:хлороформ v/v 1:2

Figure 3. Effect of the extractant composition on the degree of beta-carotene extraction from aqueous solutions of dry complex food additives: 1 – ethanol:chloroform, v/v 3:4; 2 – ethanol:chloroform, v/v 1:2

гидрофобного бета-каротина. Однако эксперименты показали, что жидкие эмульсионные образцы плохо смешиваются с хлороформом и циклогексаном при простом перемешивании стеклянной палочкой. Увеличение интенсивности перемешивания при использовании ТПУ приводило к образованию стойких непрозрачных эмульсий. Это затрудняло последующее количественное определение бета-каротина. Полное растворение образцов в хлороформе было достигнуто при УЗ-воздействии. Это можно объяснить нарушением межмолекулярных взаимодействий УЗ-волнами, приводящим к разрушению эмульсии и ускорению растворения образца.

Добавка к неполярному растворителю полярного, который способен образовывать водородные связи, приводит к нарушению гидрофильно-липофильного баланса и разрушению эмульсии. Поэтому для экстракции из жидких эмульсионных образцов были апробированы бинарные системы на основе неполярного и полярного растворителей: ацетон:хлороформ, ацетон:гексан, ацетон:петролейный эфир в объемных соотношениях 1:1. Полученные результаты (табл. 4) показали, что при УЗ-воздействии бета-каротин экстрагируется как хлороформом, так и в бинарными экстрагентами, а его

Таблица 5. Экспериментальные данные по экстракции бета-каротина из коммерческих образцов сухих комплексных пищевых добавок

Table 5. Extraction of beta-carotene from commercial samples of dry complex food additives

Образец	Параметры экстракции						Кратность экстракции	Бета-каротин (от заявленного), %
	Растворитель	Состав экстрагента, см ³				Перемешивание		
		вода	хлоро-форм	ацетон	этанол			
Натуральный краситель порошкообразный Бетанат 10 % CWDC/0	–	30	–	–	–	СП, ТПУ, УЗ	1	0
	–	–	15	–	15	СП, ТПУ, УЗ	3	20
	10	40	–	30	–	ТПУ	4	95
	10	20	–	10	–	ТПУ	4	98
Пищевой краситель E160a	–	30	–	–	–	ТПУ	4	75
	10	40	–	30	–	ТПУ	3	98
	10	20	–	10	–	ТПУ	3	99
Бета-каротин Beadlet 10 % CWS-OS	–	30	–	–	–	УЗ, ТПУ	1	0
	–	–	15	–	15	СП, ТПУ	3	40
	10	40	–	30	–	ТПУ	3	40
	10	20	–	10	–	ТПУ	4	97
Натуральный Бета-каротин 10 % Nutrex	–	30	–	–	–	УЗ, ТПУ	1	0
	10	20	–	30	–	ТПУ	4	95
	10	20	–	10	–	ТПУ	4	99
Бета-каротин 1 % P-WS E160a	–	30	–	–	–	УЗ, ТПУ	4	17
	10	40	–	30	–	ТПУ	4	98
	10	20	–	10	–	ТПУ	4	98

Таблица 6. Максимумы поглощения хлороформных извлечений, полученных при экстракции бета-каротина из водных растворов образцов сухих комплексных пищевых добавок с использованием бинарного экстрагента этанол:хлороформ v/v 1:2

Table 6. Maximum absorption of chloroform extracts obtained by extraction of beta-carotene from aqueous solutions of dry complex food additives using a binary extractant of ethanol:chloroform, v/v 1: 2

Образец	λ_{max} , нм
Натуральный краситель порошкообразный Бетанат 10 % CWDC/0	461 ± 1
Пищевой краситель E160a	461 ± 1
Бета-каротин Beadlet 10 % CWS-OS	461 ± 1
Натуральный Бета-каротин 10 % Nutrex	460 ± 1
Бета-каротин 1 % P-WS E160a	460 ± 1

содержание соответствует значениям, заявленным производителями.

При экстракции из сухих образцов (табл. 5) с использованием хлороформа и бинарного экстрагента ацетон:петролейный эфир, показавших лучшие результаты для жидких образцов, бета-каротин не извлекался или извлекался не полностью. При этом УЗ-воздействие не способствовало эффективному диспергированию сухих образцов, в отличие от ТПУ, из-за недостаточного кавитационного воздействия. Поэтому было предложено предварительно диспергировать образцы в воде и проводить экстракцию хлороформом в условиях интенсивного перемешивания. В качестве соразтворителя, проявляющего солюбилизующие свойства, использовали этиловый спирт. Предлагаемый способ позволил практически полностью выделить бета-каротин из сухих образцов различного компонентного состава. Лучшие результаты достигнуты при добавлении к одному объему водного раствора сухого образца трех объемов бинарного экстрагента этанол:хлороформ с объемным соотношением 1:2 (рис. 3).

Результаты спектрофотометрического анализа (табл. 6) показали соответствие спектров красителя, выделенного из коммерческих образцов, спектрам РСО бета-каротина. Максимумы поглощения соответствуют характеристической длине волны бета-каротина в хлороформе.

Идентификация бета-каротина, в выбранных по результатам предварительного тестирования трех подвижных фаз (табл. 3), подтвердила результаты спектрофотометрического анализа: R_f пятен всех образцов соответствует R_f пятнам РСО бета-каротина, другие каротиноиды не обнаружены. На рисунке 5 в качестве примера представлены результаты ВЭТСХ экстрактов, полученных из образцов сухих комплексных пищевых добавок при разделении

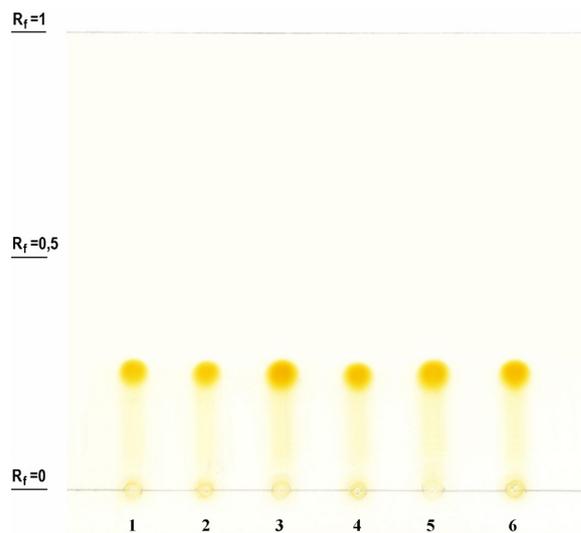


Рисунок 4. Результаты ВЭТСХ идентификации бета-каротина на пластине Sorbfil ПТСХ-П-В в элюенте гексан:бензол (v/v 9,7:0,3): 1 – РСО бета-каротина; 2 – Бетанат 10 % CWDC/0; 3 – Краситель E160a; 4 – Beadlet 10 % CWS-OS; 5 – Бета-каротин 10 % Nutrex; 6 – Бета-каротин 1 % P-WS E160a

Figure 4. HPTLC identification of beta-carotene using a Sorbfil P-TSKh-P-V plate in hexane:benzene (v/v 9.7:0.3): 1 – beta-carotene; 2 – Betanate 10% CWDC/0; 3 – E160a; 4 – Beadlet 10% CWS-OS; 5 – Beta-carotene 10% Nutrex; 6 – Beta-carotene 1% P-WS E160a

в элюенте гексан:бензол с объемным соотношением 9,7:0,3.

В результате проведенных экспериментов установлены условия и разработан способ подготовки проб для идентификации и определения содержания бета-каротина в комплексных пищевых добавках.

Выводы

Показана эффективность ультразвукового воздействия на выделение бета-каротина из жидких комплексных пищевых добавок различного состава. Максимальная степень извлечения бета-каротина (не менее 95 %) из жидких эмульсионных систем достигается при использовании хлороформа и дополнительного ультразвукового воздействия, которое способствует разрушению эмульсионной системы.

При экстракции бета-каротина из сухих образцов предложено предварительно диспергировать образцы в воде в условиях интенсивного перемешивания. Наиболее эффективной признана бинарная экстракционная система с объемным соотношением этанол:хлороформ 1:2. При ее использовании степень экстракции бета-каротина достигает 98 %.

Спектрофотометрический и хроматографический анализ подтвердил отсутствие деградации бета-

каротина в процессе подготовки проб к анализу по разработанному способу.

Для идентификации бета-каротина в пищевых добавках рекомендованы элюционные системы гексан:бензол (9,7:0,3), бутанол:метилэтилкетон:аммиак 10 % (9:6:6) и петролейный эфир:бензол:ацетон:уксусная кислота (23,3:5,8:0,6:0,3).

Разработанный способ экстракции может быть рекомендован как способ подготовки проб комплексных пищевых добавок для определения в них бета-каротина в целях осуществления контроля его использования.

Критерии авторства

Н. В. Рудометова – руководство исследованиями, литературный обзор, анализ экспериментальных данных, написание и общая редакция рукописи.

К. Е. Кулишова – проведение экспериментальных исследований, обработка и анализ полученных данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

N.V. Rudometova supervised the research, reviewed the related scientific publications, analyzed the experimental data, and wrote and proofread the manuscript. K.E. Kulishova performed the experimental research, as well as processed and analyzed the obtained data.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Grown to be blue – antioxidant properties and health effects of colored vegetables. Part II: Leafy, fruit, and other vegetables / F. D. Gioia [et al.] // *Antioxidants*. 2016. Vol. 9. № 2. <https://doi.org/10.3390/antiox9020097>.
2. Tomato as potential source of natural additives for meat industry. A review / R. Domínguez [et al.] // *Antioxidants*. 2020. Vol. 9. № 1. <https://doi.org/10.3390/antiox9010073>.
3. Биофортификация куриного яйца: витамины и каротиноиды / А. Ш. Кавтарашвили [и др.] // *Сельскохозяйственная биология*. 2017. Т. 52. № 6. С. 1094–1104. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1094rus>.
4. Перспективы применения β -каротина в производстве пищевых продуктов и кормовых добавок / Р. В. Казарян [и др.] // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. 2018. Т. 365–366. № 5–6. С. 6–9.
5. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry / I. Jaswir [et al.] // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011. Vol. 5. № 33. P. 7119–7131. <https://doi.org/10.5897/JMPRx11.011>.
6. Коденцова В. М. Градации уровней потребления витаминов: возможные риски при чрезмерном потреблении // *Вопросы питания*. 2014. Т. 83. № 3. С. 41–51. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2014-00028>.
7. UPLC-UV-MS^E analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae / W. Fu [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012. Vol. 404. № 10. P. 3145–3154. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6434-4>.
8. Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae / S. Pourkarimi [et al.] // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 29. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101771>.
9. Extraction and analysis of the major carotenoids of agro-industrial waste materials using sequential extraction techniques and high performance liquid chromatography / I. Rubashvili [et al.] // *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 13. № 2. <https://doi.org/10.29333/ejac/82931>.
10. Hiranvarachat B., Devahastin S. Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels // *Journal of Food Engineering*. 2012. Vol. 126. P. 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.024>.
11. Carle R., Schweiggert R. Handbook on natural pigments in food and beverages. Cambridge: Woodhead Publishing, 2016. 538 p.
12. Mérillon J.-M., Ramawat K. G. Bioactive molecules in food. Cham: Springer International Publishing, 2019. 2370 p.
13. Aparicio-Ruiz R., Mínguez-Mosquera M. I., Gandul-Rojas B. Thermal degradation kinetics of lutein, β -carotene and β -cryptoxanthin in virgin olive oils // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011. Vol. 24. № 6. P. 811–820. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.009>.
14. Кинетика окисления β -каротина в присутствии высокоактивных форм μ -карбидодимерного тетрафенилпорфирина Fe(IV) / О. Р. Симонова [и др.] // *Журнал физической химии*. 2018. Т. 92. № 11. С. 2128–2134. <https://doi.org/10.1134/S0036024418110390>.
15. Pechinskii S. V., Kuregyan A. G. The impact of carotenoids on immunity (review) // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2014. Vol. 47. № 10. P. 509–513. <https://doi.org/10.1007/s11094-014-0992-z>.

16. Ötles S. Methods of analysis of food components and additives. Boca Raton: CRC Press, 2011. 534 p. <https://doi.org/10.1201/b11218>.
17. Dawidowicz A. L., Olszowy M. Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by β -carotene bleaching assay: experiments with BHT used as standard antioxidant // European Food Research and Technology. 2010. Vol. 231. № 6. P. 835–840. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1333-4>.
18. Fiedor J., Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease // Nutrients. 2014. Vol. 6. № 2. P. 466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>.
19. Socaciu C. Food colorants: Chemical and functional properties. Boca Raton: CRC Press, 2007. 648 p. <https://doi.org/10.1201/9781420009286>.
20. Курегян А. Г. Спектрофотометрия в анализе каротиноидов // Фундаментальные исследования. 2015. Т. 2–23. С. 5166–5172.
21. Finkel'shtein E. I. Modern methods of analysis of carotenoids (review) // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2016. Vol. 50. № 2. P. 96–107. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1405-2>.
22. Development, physical stability and bioaccessibility of β -carotene-enriched tertiary emulsions / A. Gasa-Falcon [et al.] // Journal of Functional Foods. 2020. Vol. 64. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103615>.
23. Niu B., Shao P., Sun P. Ultrasound-assisted emulsion electrosprayed particles for the stabilization of β -carotene and its nutritional supplement potential // Food Hydrocolloids. 2020. Vol. 102. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105634>.
24. Lipid nanoparticles with fats or oils containing β -carotene: Storage stability and *in vitro* digestibility kinetics / L. Salvia-Trujillo [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 278. P. 396–405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.039>.
25. Physical and chemical stability of β -carotene nanoemulsions during storage and thermal process / C. M. Borba [et al.] // Food Research International. 2019. Vol. 121. P. 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.045>.
26. Structure, physicochemical stability and *in vitro* simulated gastrointestinal digestion properties of β -carotene loaded zein-propylene glycol alginate composite nanoparticles fabricated by emulsification-evaporation method / Y. Wei [et al.] // Food Hydrocolloids. 2018. Vol. 81. P. 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.042>.
27. Effect of edible antioxidants on chemical stability of β -carotene loaded nanostructured lipid carriers / A. Hejri [et al.] // LWT – Food Science and Technology. 2019. Vol. 113. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108272>.
28. Improvement of thermal and UV-light stability of β -carotene-loaded nanoemulsions by water-soluble chitosan coating / E. J. Baek [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. Vol. 165. P. 1156–1163. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.008>.
29. Effect of monoglyceride content on the solubility and chemical stability of β -carotene in organogels / M. Cui [et al.] // LWT – Food Science and Technology. 2019. Vol. 106. P. 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.042>.
30. Рудометова Н. В., Кулишова К. Е. Стабилизация красящих веществ в составе инклюзионных наноконплексов на основе продуктов переработки крахмала // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2018. № 4. С. 15–21. <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2018-11-4-15-21>.
31. Bockuviene A., Sereikaite J. Preparation and characterisation of novel water-soluble β -carotene-chitoooligosaccharides complexes // Carbohydrate Polymers. 2019. Vol. 225. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115226>.
32. Bioactive composition and sensory evaluation of innovative spaghetti supplemented with free or α -cyclodextrin chlatrated pumpkin oil extracted by supercritical CO₂ / M. Durante [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 294. P. 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.032>.
33. Рудометова Н. В., Кулишова К. Е., Ким И. С. Исследование влияния циклодекстринов и модифицированных крахмалов на светостойкость бета-каротина в инклюзионных комплексах // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2018. № 3. С. 3–11. <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2018-11-3-3-11>.
34. Advantages of electric resistance method for baking bread and flour confectionery products of functional purpose / B. Kulishov [et al.] // Agronomy Research. 2020. Vol. 18. № 4. P. 2449–2464. <https://doi.org/10.15159/AR.20.211>.
35. Optimal extraction and fingerprinting of carotenoids by accelerated solvent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry / S. Saha [et al.] // Food Chemistry. 2015. Vol. 177. P. 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.039>.
36. Костина Н. Г., Подлегаева Т. В., Сергеева И. Ю. Экстракция растительных пигментов из местного сырья // Техника и технология пищевых производств. 2019. Т. 49. № 4. С. 522–530. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-522-530>.
37. Kaur P., Ghoshal G., Jain A. Bio-utilization of fruits and vegetables waste to produce β -carotene in solid state fermentation: Characterization and antioxidant activity // Process Biochemistry. 2019. Vol. 76. P. 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.10.007>.
38. Gong M., Bassi A. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments // Biotechnology Advances. 2016. Vol. 34. № 8. P. 1396–1412. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.10.005>.

39. Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds / M. M. Poojary [et al.] // *Marine Drugs*. 2016. Vol. 14. № 11. <https://doi.org/10.3390/md14110214>.
40. Zúñiga-Moreno A., Arenas-Quevedo M. G., Elizalde-Solis O. Solubility of β -carotene and co-solutes in supercritical carbon dioxide for ternary systems: Experimental data and correlation // *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019. Vol. 148. P. 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.03.005>.
41. Optimization of oil extraction from rowanberry waste in alcoholic beverage production / A. D. Ivakhnov [et al.] // *Russian Journal of Physical Chemistry B*. 2019. Vol. 13. № 7. P. 1135–1138. <https://doi.org/10.1134/S1990793119070091>.
42. Extraction and analysis of the major carotenoids of agro-industrial waste materials using sequential extraction techniques and high performance liquid chromatography / I. Rubashvili [et al.] // *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 13. № 2. <https://doi.org/10.29333/ejac/82931>.
43. Ultrasound-assisted liquid-liquid extraction followed by ultrahigh pressure liquid chromatography for the quantification of major carotenoids in tomato / J. A. Figueira [et al.] // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2017. Vol. 57. P. 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.022>.
44. Rodriguez-Amaya D. B. Quantitative analysis, *in vitro* assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids – A review // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2010. Vol. 23. № 7. P. 726–740. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.03.008>.
45. Rodrigues D. B., Mariutti L. R. B., Mercadante A. Z. Two-step cleanup procedure for the identification of carotenoid esters by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. 2016. Vol. 1457. P. 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.06.039>.
46. Trineeva O. V., Safonova E. F., Slivkin A. I. Separation and determination of a mixture of fat-soluble vitamins A, D₂, and E and β -carotene by gradient thin-layer chromatography // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016. Vol. 50. № 2. P. 120–125. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1408-z>.

References

1. Gioia FD, Tzortzakis N, Roupheal Y, Kyriacou MC, Sampaio SL, Ferreira ICFR, et al. Grown to be blue – antioxidant properties and health effects of colored vegetables. Part II: Leafy, fruit, and other vegetables. *Antioxidants*. 2016;9(2). <https://doi.org/10.3390/antiox9020097>.
2. Domínguez R, Gullón P, Pateiro M, Munekata PES, Zhang W, Lorenzo JM. Tomato as potential source of natural additives for meat industry. A review. *Antioxidants*. 2020;9(1). <https://doi.org/10.3390/antiox9010073>.
3. Kavtarashvili AS, Kodentsova VM, Mazo VK, Risnik DV, Stefanova IL. Biofortification of hen eggs: vitamins and carotenoids. *Agricultural Biology*. 2017;52(6):1094–1104. (In Russ.). <https://doi.org/10.15389/agrobio.2017.6.1094eng>.
4. Kazaryan RV, Lukyanenko MV, Borodikhin AS, Kalmanovich SA, Viktorova EP. Prospects of using β -carotene in production of food and fodder additives. *News of institutes of higher education. Food technology*. 2018;365–366(5–6):6–9. (In Russ.).
5. Jaswir I, Noviendri D, Hasrini RF, Octavianti F. Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(33):7119–7131. <https://doi.org/10.5897/JMPRx11.011>.
6. Kodentsova VM. Gradation in the level of vitamin consumption: possible risk of excessive consumption. *Problems of Nutrition*. 2014;83(3):41–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2014-00028>.
7. Fu W, Magnúsdóttir M, Brynjólfson S, Pálsson B, Paglia G. UPLC-UV-MS^E analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012;404(10):3145–3154. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6434-4>.
8. Pourkarimi S, Hallajisani A, Nouralishahi A, Alizadehdakhl A, Golzary A. Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020;29. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101771>.
9. Rubashvili I, Tsitsagi M, Ebralidze K, Tsitsishvili V, Chkhaidze M, Eprikashv, et al. Extraction and analysis of the major carotenoids of agro-industrial waste materials using sequential extraction techniques and high performance liquid chromatography. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*. 2018;13(2). <https://doi.org/10.29333/ejac/82931>.
10. Hiranvarachat B, Devahastin S. Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels. *Journal of Food Engineering*. 2012;126:17–26. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.024>.
11. Carle R, Schweiggert R. *Handbook on natural pigments in food and beverages*. Cambridge: Woodhead Publishing; 2016. 538 p.
12. Mérillon J-M, Ramawat KG. *Bioactive molecules in food*. Cham: Springer International Publishing; 2019. 2370 p.
13. Aparicio-Ruiz R, Mínguez-Mosquera MI, Gandul-Rojas B. Thermal degradation kinetics of lutein, β -carotene and β -cryptoxanthin in virgin olive oils. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011;24(6):811–820. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.009>.

14. Simonova OR, Zaitseva SV, Tyulyaeva EYu, Zdanovich SA, Koifman OI. Kinetics of β -carotene oxidation in the presence of highly active forms of μ -carbido diiron(IV) tetraphenylporphyrinate. Russian Journal of Physical Chemistry A. 2018;92(11):2128–2134. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0036024418110390>.
15. Pechinskii SV, Kuregyan AG. The impact of carotenoids on immunity (review). Pharmaceutical Chemistry Journal. 2014;47(10):509–513. <https://doi.org/10.1007/s11094-014-0992-z>.
16. Ötles S. Methods of analysis of food components and additives. Boca Raton: CRC Press; 2011. 534 p. <https://doi.org/10.1201/b11218>.
17. Dawidowicz AL, Olszowy M. Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by β -carotene bleaching assay: experiments with BHT used as standard antioxidant. European Food Research and Technology. 2010;231(6):835–840. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1333-4>.
18. Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. Nutrients. 2014;6(2):466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>.
19. Socaciu C. Food colorants: Chemical and functional properties. Boca Raton: CRC Press; 2007. 648 p. <https://doi.org/10.1201/9781420009286>.
20. Kuregyan AG. The spectrophotometry in analysis of carotenoids. Fundamental research. 2015;2–23:5166–5172. (In Russ.).
21. Finkel'shtein EI. Modern methods of analysis of carotenoids (review). Pharmaceutical Chemistry Journal. 2016;50(2):96–107. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1405-2>.
22. Gasa-Falcon A, Acevedo-Fani A, Oms-Oliu G, Odriozola-Serrano I, Martín-Belloso O. Development, physical stability and bioaccessibility of β -carotene-enriched tertiary emulsions. Journal of Functional Foods. 2020;64. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103615>.
23. Niu B, Shao P, Sun P. Ultrasound-assisted emulsion electrosprayed particles for the stabilization of β -carotene and its nutritional supplement potential. Food Hydrocolloids. 2020;102. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105634>.
24. Salvia-Trujillo L, Verkempinck S, Rijal SK, Van Loey A, Grauwet T, Hendrickx M. Lipid nanoparticles with fats or oils containing β -carotene: Storage stability and *in vitro* digestibility kinetics. Food Chemistry. 2019;278:396–405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.039>.
25. Borba CM, Tavares MN, Macedo LP, Araújo GS, Furlong EB, Dora CL. Physical and chemical stability of β -carotene nanoemulsions during storage and thermal process. Food Research International. 2019;121:229–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.045>.
26. Wei Y, Sun C, Dai L, Zhan X, Gao Y. Structure, physicochemical stability and *in vitro* simulated gastrointestinal digestion properties of β -carotene loaded zein-propylene glycol alginate composite nanoparticles fabricated by emulsification-evaporation method. Food Hydrocolloids. 2018;81:149–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.042>.
27. Hejri A, Khosravi A, Gharanjig K, Davarani MM. Effect of edible antioxidants on chemical stability of β -carotene loaded nanostructured lipid carriers. LWT – Food Science and Technology. 2019;113. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108272>.
28. Baek EJ, Garcia CV, Shin GH, Kim JT. Improvement of thermal and UV-light stability of β -carotene-loaded nanoemulsions by water-soluble chitosan coating. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;165:1156–1163. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.008>.
29. Cui M, Mao L, Lu Y, Yuan F, Gao Y. Effect of monoglyceride content on the solubility and chemical stability of β -carotene in organogels. LWT – Food Science and Technology. 2019;106:83–91. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.042>.
30. Rudometova NV, Kulishova KE. Stabilization of coloring substances in the composition of inclusive nanocomplexes based on starch products. Scientific Journal NRU ITMO. Processes and Food Production Equipment. 2018;(4):15–21. (In Russ.). <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2018-11-4-15-21>.
31. Bockuviene A, Sereikaite J. Preparation and characterisation of novel water-soluble β -carotene-chitoooligosaccharides complexes. Carbohydrate Polymers. 2019;225. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115226>.
32. Durante M, Lenucci MS, Gazza L, Taddei F, Nocente F, De Benedetto GE, et al. Bioactive composition and sensory evaluation of innovative spaghetti supplemented with free or α -cyclodextrin chlated pumpkin oil extracted by supercritical CO₂. Food Chemistry. 2019;294:112–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.032>.
33. Rudometova NV, Kulishova KE, Kim IS. The influence of cyclodextrin and modified starches on the beta-carotene lightfastness in inclusion complexes. Scientific Journal NRU ITMO. Processes and Food Production Equipment. 2018;(3):3–11. (In Russ.). <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2018-11-3-3-11>.
34. Kulishov B, Kulishova K, Rudometova N, Fedorov A, Novoselov A. Advantages of electric resistance method for baking bread and flour confectionery products of functional purpose. Agronomy Research. 2020;18(4):2449–2464. <https://doi.org/10.15159/AR.20.211>.
35. Saha S, Walia S, Kundu A, Sharma K, Paul RK. Optimal extraction and fingerprinting of carotenoids by accelerated solvent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Food Chemistry. 2015;177:369–375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.039>.

36. Kostina NG, Podlegaeva TV, Sergeeva IYu. Extraction of plant pigments from local raw materials. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(4):522–530. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-522-530>.
37. Kaur P, Ghoshal G, Jain A. Bio-utilization of fruits and vegetables waste to produce β -carotene in solid state fermentation: Characterization and antioxidant activity. *Process Biochemistry*. 2019;76:155–164. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.10.007>.
38. Gong M, Bassi A. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. *Biotechnology Advances*. 2016;34(8):1396–1412. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.10.005>.
39. Poojary MM, Barba FJ, Aliakbarian B, Donsi F, Pataro G, Dias DA. Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds. *Marine Drugs*. 2016;14(11). <https://doi.org/10.3390/md14110214>.
40. Zúñiga-Moreno A, Arenas-Quevedo MG, Elizalde-Solis O. Solubility of β -carotene and co-solutes in supercritical carbon dioxide for ternary systems: Experimental data and correlation. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2019;148:66–73. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.03.005>.
41. Ivakhnov AD, Sadkova KS, Sobashnikova AS, Skrebets TE. Optimization of oil extraction from rowanberry waste in alcoholic beverage production. *Russian Journal of Physical Chemistry B*. 2019;13(7):1135–1138. <https://doi.org/10.1134/S1990793119070091>.
42. Rubashvili I, Tsitsagi M, Ebralidze K, Tsitsishvili V, Eprikashvili L, Chkhaidze M, et al. Extraction and analysis of the major carotenoids of agro-industrial waste materials using sequential extraction techniques and high performance liquid chromatography. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*. 2018;13(2). <https://doi.org/10.29333/ejac/82931>.
43. Figueira JA, Pereira JAM, Porto-Figueira P, Câmara JS. Ultrasound-assisted liquid-liquid extraction followed by ultrahigh pressure liquid chromatography for the quantification of major carotenoids in tomato. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2017;57:87–93. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.022>.
44. Rodriguez-Amaya DB. Quantitative analysis, *in vitro* assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids – A review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2010;23(7):726–740. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.03.008>.
45. Rodrigues DB, Mariutti LRB, Mercadante AZ. Two-step cleanup procedure for the identification of carotenoid esters by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2016;1457:116–124. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.06.039>.
46. Trineeva OV, Safonova EF, Slivkin AI. Separation and determination of a mixture of fat-soluble vitamins A, D₂, and E and β -carotene by gradient thin-layer chromatography. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016;50(2):120–125. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1408-z>.

Bioethanol Production from *Miscanthus sinensis* Cellulose by Bioconversion

Olga V. Kriger^{1,*}, Olga O. Babich¹, Vyacheslav F. Dolganyuk²,
Oksana V. Kozlova², Stanislav A. Sukhikh¹, Timothy A. Larichev²



¹ Immanuel Kant Baltic Federal University^{ROR}, Kaliningrad, Russia

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

Received: February 25, 2021

Accepted: April 29, 2021



*e-mail: OKrigger@kantiana.ru

© O.V. Kriger, O.O. Babich, V.F. Dolganyuk, O.V. Kozlova, S.A. Sukhikh, T.A. Larichev, 2021

Abstract.

Introduction. Cellulose-containing parts of herbs are an excellent source of alternative energy and can be used to produce biological ethanol. The present research aims at improving this fundamental and promising area of biotechnology. It introduces a new consortium of microorganisms that can saccharify while fermenting the substrate.

Study objects and methods. The research featured technical cellulose obtained from *Miscanthus sinensis* using hydrotropic delignification and oxidation with pertrifluoroacetic acid. The ethanol content in the culture liquid was determined using an Agilent 7890B gas chromatograph with a flame ionization detector. The biocompatibility of the strains was studied by growing a direct co-culture in a dense nutrient medium.

Results and discussion. The research objective was to create a new microbial consortium for the single-step production of bioethanol from *Miscanthus sinensis* cellulose. A set of biocompatibility experiments and cultivation conditions made it possible to select the optimal producers. The two developed microbial consortia required optimal compositions of culture media, which were determined by varying the ratio of components and measuring the yield of ethanol in the resulting culture liquid.

Conclusion. The best consortium for *Miscanthus sinensis* cellulose consisted of *Pichia stipites* Y7124, *Candida shehatae* NCL3501, *Kluyveromyces marxianus* Y-4290, and *Zymomonas mobilis* 113 at a ratio of 1:1:1:1. The optimal parameters of bioethanol production included: temperature = 35 ± 1°C, pH = 5.2, time = 16 ± 1 h. The most efficient culture medium had the following composition (g/l): glucose – 5.0; peptone – 5.0; yeast extract – 0.4; K₂HPO₄ – 1.5; (NH)₂HPO₄ – 1.5; MgSO₄ – 0.5.

Keywords. Bioethanol, bioconversion, consortium, *Miscanthus*, technical cellulose, single-stage fermentation

Funding. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR)^{ROR} (grant No. 19-416-390001), the Government of the Kaliningrad Region, and the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka)^{ROR} (Agreement No. 075-15-2020-072 of 17.03.2010, internal number MK-162.2020.4)).

For citation: Kriger OV, Babich OO, Dolganyuk VF, Kozlova OV, Sukhikh SA, Larichev TA. Bioethanol Production from *Miscanthus sinensis* Cellulose by Bioconversion. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):387–394. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-387-394>.

Разработка способа биоконверсии целлюлозы *Miscanthus sinensis* для получения биоэтанола

О. В. Кригер^{1,*}, О. О. Бабич¹, В. Ф. Долганюк²,
О. В. Козлова², С. А. Сухих¹, Т. А. Ларичев²

¹ Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта^{ROR}, Калининград, Россия

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



Аннотация.

Введение. Фундаментальным и перспективным направлением биотехнологии является получение биологического этанола из целлюлозосодержащего сырья травянистых растений как альтернативного источника энергии. С целью совершенствования технологии получения биоэтанола из биомассы мискатуса китайского были проведены исследования по созданию консорциума микроорганизмов, осуществляющих одновременное осахаривание – сбраживание исходного субстрата и оптимизации режимов их культивирования.

Объекты и методы исследования. Техническая целлюлоза, полученная из мискатуса китайского (*Miscanthus sinensis*) гидротропной делигнификацией в условиях окисления пертрифторуксусной кислотой. Содержание этанола в культуральной жидкости по окончании культивирования определяли, используя газовый хроматограф Agilent 7890В с пламенно-ионизационным детектором. Определение биосовместимости штаммов проводили методом прямого совместного культивирования на плотной питательной среде.

Результаты и их обсуждение. С целью создания консорциума микроорганизмов и выбора оптимальных продуцентов для одностадийного получения биоэтанола из целлюлозы мискантуса китайского проводили исследования биосовместимости изучаемых штаммов и условий их культивирования. Выбор оптимальных составов питательных сред для культивирования двух изучаемых консорциумов микроорганизмов осуществляли путем варьирования соотношения компонентов и измерения выхода этилового спирта в полученной культуральной жидкости.

Выводы. Установлены оптимальные параметры для получения этилового спирта из технической целлюлозы мискантуса китайского с использованием консорциума, состоящего из *Pichia stipites* Y7124, *Candida shehatae* NCL3501, *Kluyveromyces marxianus* Y-4290 и *Zygotomonas mobilis* 113 в соотношении 1:1:1:1: температура 35 ± 1 °С, pH 5,2, продолжительность 16 ± 1 ч с применением питательной среды для культивирования консорциума следующего состава (г/л): глюкоза – 5,0; пептон – 5,0; дрожжевой экстракт – 0,4; K_2HPO_4 – 1,5; $(NH)_2HPO_4$ – 1,5; $MgSO_4$ – 0,5.

Ключевые слова. Биоэтанол, биоконверсия, консорциум, *Miscanthus*, техническая целлюлоза, одностадийная ферментация

Финансирование. Исследование выполнено при частичной поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) [ROR](#) № 19-416-390001, а также при поддержке правительства Калининградской области и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) [ROR](#). Соглашение № 075-15-2020-072 от 17.03.2020 г. (внутренний номер МК-162.2020.4).

Для цитирования: Разработка способа биоконверсии целлюлозы *Miscanthus sinensis* для получения биоэтанола / О. В. Кригер [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 387–394. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-387-394>.

Introduction

At the present stage of its economic development, Russia is going through a crisis of traditional technologies, especially in the fields of ecology and energy. The modern agenda involves new technological solutions for food processing, organic waste recycling, pollution reduction, and alternative energy.

Chinese miscanthus (*Miscanthus sinensis*) (Fig. 1) is a perennial herb in the grass family *Poaceae*, which can serve as a renewable raw material for biodiesel. One hectare can yield up to 30 tons of crops during 30 years. Plant biomass cultivation improves the environmental situation and prevents soil erosion, not to mention that biodiesel is carbon neutral [1, 2].

However, miscanthus is difficult to process because its acid hydrolysates are chemically unstable and tend to accumulate harmful substances, e.g. volatile acids, lignohumic substances, formaldehyde, furfural, oxymethylfurfural, etc. These compounds appear as a result of the combined action of chemical agents and such physical factors as temperature and pressure [3–5].

Enzymatic hydrolysis is known to occur in milder conditions than acid hydrolysis. As a rule, enzymatic hydrolysis requires 4.0–6.5 units of active acidity, while the temperature range usually depends on the type of microorganisms and varies from 30 to 60°C. This technological mode converts sugars into the target product and forms no harmful by-products [6–9].

Bioethanol production from lignocelluloses requires simultaneous fermentation and saccharification – for the following reasons:

- cellulose hydrolysis to simple sugars is a lengthy process that can take from 48 to 144 h. Combining the two steps into can significantly reduce time costs;
- the one-step method possesses a higher microbiological stability and efficiency [14, 15].

However, the one-step method is not without flaws. For instance, enzyme catalysis systems have different optimal parameters. Those that catalyze saccharification operate at 40–60°C, while those that catalyze glucose-to-bioethanol reaction operate at 26–28°C [16, 17].



Figure 1. Chinese miscanthus (*Miscanthus sinensis*)

Nevertheless, biotechnological methods make it possible to obtain strains of microorganisms with an optimal temperature mode. They are applicable both for enzyme preparations that produce simple sugars and for enzyme complexes that catalyze the glucose-to-bioethanol reaction. However, genetically engineered microorganisms have several disadvantages, such as:

- higher mutation rates;
- sensitive cultivation conditions, i.e. nutrient media, aseptic conditions, etc.;
- eventual degradation of ethanol biosynthesis.

As a result, biotechnological industries still rely on traditional strains of yeasts and bacteria that are capable of producing simple sugars and target products.

Saccharomyces cerevisiae are one of the main producers of bioethanol. However, saccharomycetes do not ferment pentoses that take up 40% of total sugars in the biomass of herbaceous plants, which limits their industrial applicability for lignocellulosic biomass conversion.

Thermotolerant yeasts are an alternative to *S. cerevisiae* in ethanol production. Thermotolerant yeasts consume glucose, xylose, cellobiose, and arabinose. Glucose, fructose, and mannose substrates have better indicators of biomass production. *Clostridium*, *Geobacillus*, and *Thermoanaerobacter* can process a wide range of compounds, including D-glucose, D-xylose, and L-arabinose, at 55–70°C, which makes them especially advantageous for bioethanol production.

The present study confirmed the available foreign and domestic research results in that saccharification followed by fermentation of miscanthus cellulose can increase bioethanol processing time, thus increasing the accumulation of by-products and microbial contamination. In this regard, simultaneous saccharification and fermentation of the initial substrate by an effective microbial consortium can improve the bioethanol production from lignocellulosic raw materials.

The research objective was to create such a microbial consortium, as well as to optimize bioethanol production by developing a one-step fermentolysis of technical cellulose obtained by delignification of miscanthus.

Study objects and methods

The research featured Chinese miscanthus (*Miscanthus sinensis*) of the grass family *Poaceae* harvested in the Northwestern Federal District of the Russian Federation in 2019. It is a perennial herb that grows as tall as 0.8–2 m and yields 10.1–15.4 t/ha. Its leaf blades are linear, hard, and rough, with a prominent mid-rib, and can reach up to 1.5 cm in width, while its ne-flowered spikelets are arranged into loose panicles with a short axis and can be up to 0.7 cm long.

Below are the characteristics of technical cellulose obtained from *Miscanthus sinensis* using hydrotropic delignification with pertrifluoroacetic acid:

- mass fraction of α -cellulose = 81.56–82.68%;
- dynamic viscosity = 22.78–24.33 mPa·s;
- average polymerization degree = 756.2–977.5;
- brightness = 72.6–82.7%;
- lignin content \leq 0.2%.

The preparation of the plant mass of miscanthus before the delignification process was carried out according to the standard procedure described in related scientific and technical sources.

Table 1 introduces the types and strains of microorganisms that were used to create the microbial consortium for the subsequent cellulose bioconversion:

The ethanol content in the culture liquid after cultivation was determined using an Agilent 7890B gas chromatograph with a flame ionization detector. The final chromatography time was 10 min; split flow – 100:1; injected sample volume – 1 μ l; helium served as the carrier gas; 2 mL of the resulting alcohol sample was extracted with diethyl ether. The sample was then poured into a 15 mL falcon together with 2 mL of diethyl ether and stirred in an orbital shaker for 30 min. After that, the samples were centrifuged at 3900 rpm for 10 min. The upper organic layer was removed into a flask to evaporate diethyl ether. Then, 1 mL of ethyl acetate was added to the concentrated sample, and the resulting solution was placed into a vial and injected into the gas chromatographer.

The biocompatibility of the strains was tested by direct co-cultivation in a solid nutrient medium as described by N.A. Glushanova. The culture was grown in a liquid nutrient medium until its optical density reached 0.10–0.11. After that, it was applied onto a solid nutrient medium with a 3 mm inoculating loop. After the drop had been absorbed, a drop of another test culture was applied to the surface of the same medium. When spreading, it covered a half of the first drop. The Petri dishes were incubated for 24 h at 27°C. In the overlapping area, the

Table 1. Microorganisms used for one-step bioethanol production from technical cellulose obtained from Chinese miscanthus

Microorganism	Medium	Cultural and morphological characteristics	Physiological and biochemical properties
<i>Pichia stipites</i> Y7124	Intestinal tract	ascomycete yeast	facultative anaerobic, capable of fermenting xylose, t = 28–32°C, pH = 4.0–4.5
<i>Pachysolen tannophilus</i> Y-3269	decaying wood	yeast	facultative anaerobic, t = 28–32°C, pH = 2.0–2.5; ferments glucose and xylose
<i>Candida shehatae</i> NCL3501	decaying wood	yeast	ferments both hexose and pentose sugars; t = 28–30°C, pH = 3.5–4.0
<i>Kluyveromyces marxianus</i> Y-4290	Cultured yoghurt	round and oval cells of 4–8 µm	ferments D-glucose, D-galactose, sucrose, raffinose; t = 25–50°C; pH = 3.0–7.0
<i>Clostridium thermocellum</i> B-10909	plants, cow and horse manure	gram-positive spore-forming bacillus	anaerobic, thermophilic, t = 55–60°C, pH = 6.0–8.0; ferments cellulose, glucose, and xylose
<i>Clostridium thermohydrosuluricum</i>	plants, cow and horse manure	gram-positive spore-forming bacillus	anaerobic, thermophilic, t = 55–60°C, pH = 4.7–8.0; ferments glucose, xylose, and arabinose
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i> JW 200	Yellowstone hot springs	non-spore-forming bacteria	thermophilic, anaerobic; ferments sugars, including xylose and arabinose; t = 37–77°C, pH = 4.4–9.9
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> B-1169	bottom sediment of thermal springs, Northern Baikal region	gram-positive bacillus	aerobic, thermophilic; t = 60–65°C, pH = 6.5–7.5; converts lignocellulosic biomass into bioethanol
<i>Bacillus stratosphericus</i> B-11678	bottom sediments of Lake Solenoe, Novosibirsk region	gram-positive bacillus	aerobic, mesophilic; t = 30–37°C, pH = 6.5–7.5; converts lignocellulosic biomass into bioethanol
<i>Zymomonas mobilis</i> 113	palm wine	gram-negative, non-spore-forming, polar flagellate bacterium	facultative anaerobic, ferments glucose, sucrose, xylose; t = 30–37°C, pH = 4.0–6.5

cultures competed with each other. Two drops of one and the same culture were used as control, according to the technique described above. Inhibition of one of the strains was interpreted as antagonism; if one of the cultures surfaced, regardless of the sequence of application, it was interpreted as weak antagonism; fusion of the drops or increased growth of both strains indicated biocompatible cultures.

The results were processed using regression analysis. The dependence diagrams were compiled after the obtained data had been processed using the least squares method

and described in Microsoft Excel and MatLAB 6.5. The studies were carried out in 5-fold repetition. The confidence level was 0.95; 0.99 ($P \leq 0.05$; $P \leq 0.01$).

Results and discussion

The research objective was to develop an effective microbial consortium and select the optimal producers for one-step bioethanol production from cellulose of Chinese miscanthus. The technical cellulose obtained by hydrotropic delignification was fermented with all the microbial strains.

Table 2. Mass fraction of ethanol in the test samples ($P \leq 0.05$)

Microorganism	Bioethanol yield, %	Fermentation time, h	Fermentation temperature, °C
<i>Pichia stipites</i> Y7124	1.20 ± 0.01	12.0 ± 0.5	30 ± 1
<i>Pachysolen tannophilus</i> Y-3269	0.07 ± 0.01	12.0 ± 0.5	30 ± 1
<i>Candida shehatae</i> NCL3501	0.45 ± 0.01	12.0 ± 0.5	30 ± 1
<i>Kluyveromyces marxianus</i> Y-4290	1.80 ± 0.01	12.0 ± 0.5	35 ± 1
<i>Clostridium thermocellum</i> B-10909	0.51 ± 0.01	12.0 ± 0.5	60 ± 1
<i>Clostridium thermohydrosuluricum</i>	0.46 ± 0.01	12.0 ± 0.5	60 ± 1
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i> JW 200	2.03 ± 0.05	12.0 ± 0.5	60 ± 1
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> B-1169	2.00 ± 0.05	12.0 ± 0.5	60 ± 1
<i>Bacillus stratosphericus</i> B-11678	0.56 ± 0.05	12.0 ± 0.5	37 ± 1
<i>Zymomonas mobilis</i> 113	0.31 ± 0.01	12.0 ± 0.5	30 ± 1

Table 4. Composition of nutrient media

Component	Culture medium number depending on the content of the components, g/l					
	1	2	3	4	5	6
Yeast extract	0.3	0.4	0.5	–	–	–
Glucose	1.0	5.0	10.0	20.0	25.0	30.0
Sodium chloride	–	–	–	0.5	1.0	1.5
Peptone	1.0	5.0	10.0	10.0	5.0	5.0
K ₂ HPO ₄	1.0	1.5	2.0	1.5	1.0	1.5
(NH ₄) ₂ HPO ₄	1.0	1.5	1.5	1.0	1.5	1.5
KH ₂ P ₀ 4	–	–	–	0.5	1.0	1.5
MgSO ₄	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5	1.0
CaC ₀ 3	–	–	–	10.0	5.0	10.0
pH of the medium	4.5	5.2	6.0	7.0	6.8	7.0

During the enzymatic hydrolysis, the substrate sample in an acetate buffer solution (0.1 g/mL, pH 5.0) was inoculated with a suspension of microorganisms with optical density = 0.60–0.61 in the amount of 5% of the total sample volume. The enzymatic hydrolysis was carried out in an incubator shaker at 100 rpm for 12 h at the optimum temperature for each of the producers. Table 2 describes the content of ethanol in the samples.

Table 2 shows that all the microorganisms proved quite active in the cellulose fermentation. The best bioethanol yield belonged to the thermophilic bacteria *Geobacillus stearothermophilus* B-1169 (2.0%) and *Thermoanaerobacter ethanolicus* JW (2.03%) and ethertolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* Y-4290 (1.80%) at the optimal culture temperature.

Table 3 demonstrates the biocompatibility of the strains.

The strains were subjected to cultural, morphological, physiological, and biochemical analyses. They also underwent an enzymatic hydrolysis of technical cellulose obtained by hydrotropic delignification and a biocompatibility assessment. The experiments resulted in the following bioethanol-producing consortia:

- Consortium I: facultative anaerobic mesophilic yeasts *Pichia stipites* Y7124, *Candida shehatae* NCL3501, and *Kluyveromyces marxianus* Y-4290 and bacteria *Zymomonas mobilis* 113 in a ratio of 1:1:1:1;
- Consortium II: thermophilic anaerobic bacteria *Clostridium thermocellum* B-10909, *Clostridium thermo-*

Table 3. Biocompatibility of bioethanol producers ($P \leq 0.05$)

Microorganism	Microorganism									
	<i>Pichia stipites</i> Y7124	<i>Pachysolen tannophilus</i> Y-3269	<i>Candida shehatae</i> NCL3501	<i>Kluyveromyces marxianus</i> Y-4290	<i>Clostridium thermocellum</i> B-10909	<i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i>	<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i> JW 200	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> B-1169	<i>Bacillus stratosphericus</i> B-11678	<i>Zymomonas mobilis</i> 113
<i>Pichia stipites</i> Y7124	–	BC	BC	BC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BC
<i>Pachysolen tannophilus</i> Y-3269	BIC	–	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC
<i>Candida shehatae</i> NCL3501	BC	BIC	–	BC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BC
<i>Kluyveromyces marxianus</i> Y-4290	BC	BIC	BC	–	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BC
<i>Clostridium thermocellum</i> B-10909	BIC	BIC	BIC	BC	–	BC	BC	BIC	BC	BIC
<i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i>	BIC	BIC	BIC	BIC	BC	–	BC	BIC	BC	BIC
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i> JW 200	BIC	BIC	BIC	BIC	BC	BC	–	BC	BC	BIC
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> B-1169	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	–	BIC	BIC
<i>Bacillus stratosphericus</i> B-11678	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	BIC	–	BIC
<i>Zymomonas mobilis</i> 113	BC	BC	BC	BC	BIC	BIC	BIC	BIC	BC	–

BC – biocompatibility;
BIC – bioincompatibility.

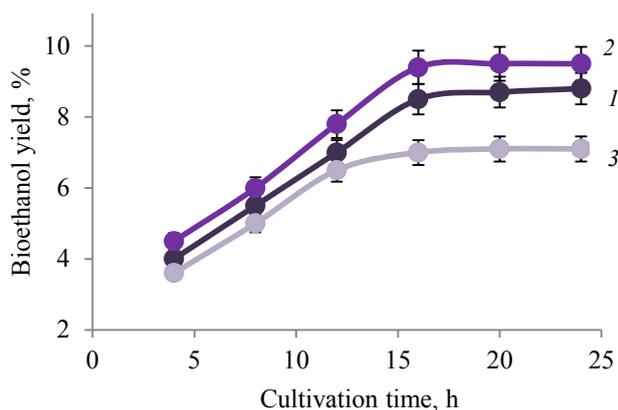


Figure 2. Effect of cultivation time for Consortium I in nutrient media 1 (curve 1), 2 (curve 2), and 3 (curve 3) on bioethanol yield, $P < 0.05$

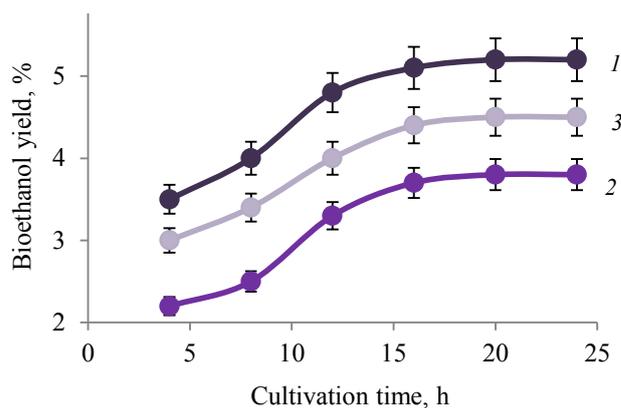


Figure 3. Effect of cultivation time for Consortium II in nutrient media 4 (curve 1), 5 (curve 2), and 6 (curve 3) on bioethanol yield, $P < 0.05$

hydrosuluricum, and *Thermoanaerobacter ethanolicus* JW 200 in a ratio of 1:1:1.

The selection criteria were based on:

- specific properties of the microorganisms;
- specific properties of the metabolism of microorganisms isolated from various natural sources;
- biocompatibility of these microorganisms;
- cultivation conditions, i.e. time, temperature, pH, nutrient medium, etc.

The next step was to define the co-cultivation conditions in order to increase the yield of ethanol. The compositions of nutrient media (g/l) were taken from related scientific publications:

- for yeasts: yeast extract – 0.3; peptone – 1.0; glucose – 1.0; agar – 2;
- for *Zymomonas* bacteria: K_2HPO_4 – 1.0; $(NH_4)_2HPO_4$ – 1.0; $MgSO_4$ – 0.5; peptone – 10.0; yeast extract – 0.5; glucose – 10.0;

– for *Clostridium* and *Thermoanaerobacter* bacteria: KH_2PO_4 – 0.5; K_2NRO_4 – 0.5; $MgSO_4$ 0.5; NaCl – 0.5; glucose – 20.0; peptone – 5.0; $CaCO_3$ – 10.0.

The optimal compositions of nutrient media were selected by varying the ratio of the components and measuring the yield of ethanol in the resulting culture liquid. Table 4 illustrates the compositions of the culture media.

Consortium I, based on the mesophilic facultative anaerobic microorganisms, was cultivated in nutrient media 1–3. These media included different concentrations of yeast extract and glucose in a weak acidic medium, the cultivation temperature being $30 \pm 1^\circ C$. Consortium II consisted of thermophilic anaerobic bacteria grown in nutrient media 4–6, which contained glucose, at $60 \pm 1^\circ C$ and neutral pH. Figure 2–3 show the effect of the composition of the nutrient medium and cultivation time on the bioethanol yield.

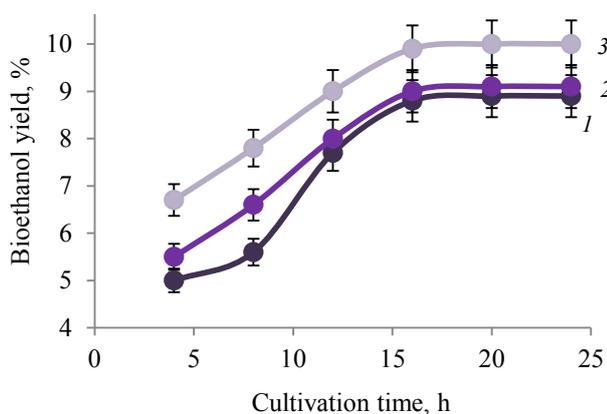


Figure 4. Effect of cultivation time on bioethanol yield for Consortium I: 1 – cultivation temperature = $25^\circ C$, 2 – cultivation temperature = $32^\circ C$, 3 – cultivation temperature = $35^\circ C$, $P < 0.05$

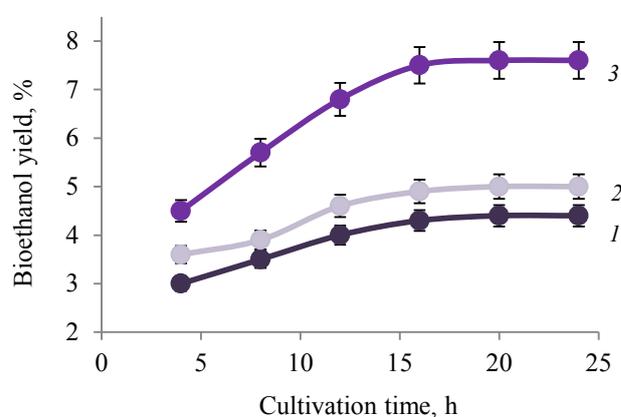


Figure 5. Effect of cultivation time on bioethanol yield for Consortium II: 1 – cultivation temperature = $50^\circ C$, 2 – cultivation temperature = $60^\circ C$, 3 – cultivation temperature = $65^\circ C$, $P < 0.05$

Figure 2–3 made it possible to select the optimal compositions of nutrient media for the cultivation of the two microbial consortia with the maximal bioethanol yield. For Consortium I, it was nutrient medium 2 (g/l): yeast extract – 0.4; glucose – 5.0; peptone – 5.0; K_2HPO_4 – 1.5; $(NH_4)_2 HPO_4$ – 1.5; $MgSO_4$ – 0.5; pH – 5.2. For Consortium II, it was nutrient medium 4 (g/l): glucose – 20.0; peptone – 10.0; K_2HPO_4 – 1.5; $(NH_4)_2 HPO_4$ – 1.0; KH_2PO_4 – 0.5; $MgSO_4$ – 0.5; $CaCO_3$ – 10.0; pH – 7.0.

In all the samples of nutrient media, the maximal accumulation of bioethanol occurred after 16 h of cultivation. It was 9.4% for Consortium I and 5.1% for Consortium II, which significantly exceeded the bioethanol yield obtained by using individual strains.

The next stage involved selecting the optimal temperature values for the cultivation process of microbial consortia that provide the maximal bioethanol yield. The consortia were cultivated in the selected nutrient media at various temperature conditions. Consortium I, which united mesophilic microorganisms, was cultivated at 28–35°C, while Consortium 2, which consisted of thermophilic microorganisms, was cultivated at 50–70°C (Fig. 4–5).

Figure 4–5 show the optimal temperature cultivation modes: for Consortium I, it was 35°C (maximal bioethanol yield – 9.8%); for Consortium II, it was 65°C (maximal bioethanol yield – 7.4%).

Therefore, microbial consortium with enzyme complexes for cellulose bioconversion and subsequent fermentation of sugars increased the bioethanol yield by

more than 50%, in comparison with individual strains. The consortium that united thermotolerant yeasts of the genera *Pichia*, *Candida*, and *Kluyveromyces* with *Zymomonas* bacteria proved to be the most effective one.

Conclusion

The research produced a highly effective consortium of microorganisms for a one-step fermentation of technical cellulose obtained from *Miscanthus sinensis* by hydrotropic delignification. It also improved the conditions for the cultivation of microorganisms that provide the maximal bioethanol yield. The new consortium included mesophilic facultative anaerobic yeasts *Pichia stipites* Y7124, *Candida shehatae* NCL3501, and *Kluyveromyces marxianus* Y-4290 and bacteria *Zymomonas mobilis* 113 in a ratio of 1:1:1:1. The optimal cultivation modes were the following: temperature = $35 \pm 1^\circ C$, pH = 5.2, cultivation time = 16 ± 1 h. The optimal nutrient medium had the following composition (g/l): glucose – 5.0; peptone – 5.0; yeast extract – 0.4; K_2HPO_4 – 1.5; $(NH_4)_2 HPO_4$ – 1.5; $MgSO_4$ – 0.5.

Contribution

All the authors equally contributed to the research development, processing, data analysis, and manuscript design.

Conflict of interest

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

References

1. Makarova EI, Budaeva VV. Bioconversion of non-food cellulosic biomass. Part 1. Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2016;6(2)(17):43–50. (In Russ.). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-2-43-50>.
2. Tsapko YuL, Kholodnaya AS. Changes of biological activity of degraded chernozems in Kharkiv region due to giant miscanthus cultivation. Colloquium-journal. 2017;10(10):9–11. (In Russ.).
3. Skiba EA, Gladysheva EK, Golubev DS, Budaeva VV, Aleshina LA, Sakovich GV. Self-standardization of quality of bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* in nutrient media derived from *Miscanthus* biomass. Carbohydrate Polymers. 2021;252. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117178>.
4. Redcay S, Koirala A, Liu J. Effects of roll and flail conditioning systems on mowing and baling of *Miscanthus × giganteus* feedstock. Biosystems Engineering. 2018;172:134–143. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2018.06.009>.
5. Gismatulina YuA. Comparison of quality of paper specimens derived by the combined method from miscanthus leaf and stem. Fundamental research. 2016;(8–2):243–247. (In Russ.).
6. Gismatulina YuA, Sevastyanova YuV, Budaeva VV, Zolotukhin VN. Structural-dimensional characteristics of miscanthus pulp. Fundamental research. 2015;(2–16):3523–3526. (In Russ.).
7. Purente N, Li Q, Cui L, Zhang J, Peng J, He M. The influence of morphological and geographical traits on yield of *Miscanthus sinensis* during the first two years. Emirates Journal of Food and Agriculture. 2019;31(1):22–28. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i1.1896>.
8. Dyshlyuk L, Babich O, Prosekov A, Ivanova S, Pavsky V, Yang Y. *In vivo* study of medical and biological properties of functional bakery products with the addition of pumpkin flour. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2017;12:20–24. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2017.09.001>.
9. Babich O, Dyshlyuk L, Noskova S, Sukhikh S, Prosekov A, Ivanova S, et al. *In vivo* study of the potential of the carbohydrate-mineral complex from pine nut shells as an ingredient of functional food products. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2019;18. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2019.100185>.

10. Voronova MI, Surov OV, Rubleva NV, Kochkina NE, Prusova SM, Gismatulina YuA, et al. Properties of nanocrystalline cellulose obtained from celluloses of annual plants. *Liquid Crystals and their Application*. 2017;17(4):97–105. (In Russ.). <https://doi.org/10.18083/LCAppl.2017.4.97>.
11. Baibakova OV, Skiba EA. Biotechnological view of ethanol biosynthesis from miscanthus. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(3):564–571. (In Russ.).
12. Brosse N, Dufour A, Meng X, Sun Q, Ragauskas A. *Miscanthus*: A fast-growing crop for biofuels and chemicals production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2012;6(5):580–598. <https://doi.org/10.1002/bbb.1353>.
13. Tamura K-I, Uwatoko N, Yamashita H, Fujimori M, Akiyama Y, Shoji A, et al. Discovery of natural interspecific hybrids between *Miscanthus sacchariflorus* and *Miscanthus sinensis* in southern Japan: Morphological characterization genetic structure and origin. *Bioenergy Research*. 2016;9(1):315–325. <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9683-1>.
14. Denisova MN, Pavlov IN. Sposob polucheniya tsellyulozy mnogokratnoy varkoy lekgovozobnovlyаемого syr'ya v gidrotropnom rastvore [A new method of obtaining cellulose by multiple boiling of light-renewable raw materials in a hydrotropic solution]. *Polzunovskiy Vestnik*. 2015;(4–2):131–134. (In Russ.).
15. Babich OO, Krieger OV, Chupakhin EG, Kozlova OV. Miscanthus plants processing in fuel, energy, chemical, and microbiological industries. *Foods and Raw Materials*. 2019;7(2):403–411. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-403-411>.
16. Kriger O, Budenkova E, Babich O, Suhih S, Patyukov N, Masyutin Ya, et al. The process of producing bioethanol from delignified cellulose isolated from plants of the miscanthus genus. *Bioengineering*. 2020;7(2). <https://doi.org/10.3390/bioengineering7020061>.
17. Serba EM, Tadzhibova PYu, Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI, Volkova GS. Bioconversion of soy under the influence of *Aspergillus oryzae* strains producing hydrolytic enzymes. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):52–58. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-52-58>.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-395-401>
Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Multi-Stage Method of Milk Powder Production: Energy Costs Analysis



Vladimir D. Kharitonov^{ORCID}, Vladimir A. Asafov^{ORCID},
Pavel V. Kuznetsov*^{ORCID}, Valentina T. Gabrielova^{ORCID}

All-Russian Scientific Research Institute of the Dairy Industry^{ORCID}, Moscow, Russia

Received: December 08, 2020

Accepted: January 15, 2021



*e-mail: vztm@vztm.su

© V.D. Kharitonov, V.A. Asafov, P.V. Kuznetsov, V.T. Gabrielova, 2021

Abstract.

Introduction. One of the promising methods in the production of dairy and other food in concentrated, condensed and dry forms is a consistent combination of dehydration methods. The subject of this research relevant now is approaches to the calculation of such processes. The work objective is to analyze the dehydration staging effect on the energy consumption in this process.

Study objects and methods. Liquid, concentrated and powdered dairy products: whole and skim milk, milk whey, whole milk substitutes, as well as their dehydration parameters at certain stages. The determination of moisture and solids mass fraction in products was carried out with a standard method.

Results and discussion. The feasibility of using a multi-stage dehydration method for the production of various types of powder milk products has been justified. The characteristic boundaries of solids mass fraction at different stages of the process were determined. The material-balance equation made it possible to define the formula for the total specific energy consumption relative to the unit of the final dry product at an arbitrary number of dehydration stages. The paper contains examples of a comparative efficiency assessment of the dehydration process carried out at different stages from the point of view of energy costs of its implementation.

Conclusion. The research featured various issues related to the use of dehydration methods in the production of milk powder products. An equation has been drawn up to estimate the specific energy consumption of the multi-stage dehydration process relative to a unit of the final dry product. The use of a multi-stage process allows to effectively reduce the specific energy consumption, as well as to generate new high quality products.

Keywords. Dairy products, skim milk powder, whole milk powder, dry whey, milk replacers, vacuum evaporation, spray drying, specific energy costs, dehydration

Funding. The research was performed on the premises of the All-Russian Scientific Research Institute of Dairy Industry (VNIMI) as part of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka) (No. AAAA-A20-120011500098-1).

For citation: Kharitonov VD, Asafov VA, Kuznetsov PV, Gabrielova VT. Multi-Stage Method of Milk Powder Production: Energy Costs Analysis. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):395–401. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-395-401>.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-395-401>
УДК 637.1

Оригинальная статья
<http://fptt.ru>

Анализ энергетических затрат при реализации многостадийного метода получения сухих молочных продуктов

В. Д. Харитонов^{ORCID}, В. А. Асафов^{ORCID}, П. В. Кузнецов*^{ORCID}, В. Т. Габриелова^{ORCID}

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности^{ORCID}, Москва, Россия

Дата поступления в редакцию: 08.12.2020

Дата принятия в печать: 15.01.2021



*e-mail: vztm@vztm.su

© В. Д. Харитонов, В. А. Асафов, П. В. Кузнецов, В. Т. Габриелова, 2021

Аннотация.

Введение. При производстве молочных и других пищевых продуктов в концентрированной, сгущенной и сухой формах одним из перспективных направлений является последовательное сочетание различных методов обезвоживания. Подходы к расчету подобных процессов являются предметом продолжающихся исследований и обладают актуальностью. Целью данной работы является анализ влияния стадийности обезвоживания на энергозатраты осуществления этого процесса.

Объекты и методы исследования. Жидкие, концентрированные и сухие молочные продукты: цельное и обезжиренное молоко, молочная сыворотка, заменители цельного молока, а также параметры процессов их обезвоживания на отдельных стадиях. Определение массовой доли влаги и сухих веществ в продуктах производили стандартным методом.

Результаты и их обсуждение. Обоснована целесообразность использования многостадийного способа обезвоживания при выработке различных видов сухих молочных продуктов. Определены характерные границы массовой доли сухих веществ на отдельных стадиях процесса. На основе уравнений материального баланса получено выражение для оценки общих удельных затрат энергии относительно единицы конечного сухого продукта при произвольном количестве стадий процесса обезвоживания. Приведены примеры сравнительной оценки эффективности процесса обезвоживания, осуществляемого в различное количество стадий, с точки зрения энергетических затрат на его осуществление.

Выводы. Рассмотрены вопросы, связанные с применением различных методов обезвоживания при получении сухих молочных продуктов. Составлено уравнение для оценки удельных затрат энергии на отдельных стадиях процесса многостадийного обезвоживания относительно единицы конечного сухого продукта. Применение многостадийного процесса позволяет в несколько раз уменьшить удельные затраты энергии, а также вырабатывать продукты высокого качества и организовать производство новых видов продуктов.

Ключевые слова. Сухие молочные продукты, сухое обезжиренное молоко, сухое цельное молоко, сухая сыворотка, заменитель цельного молока, вакуум-выпаривание, распылительная сушка, удельные энергетические затраты, обезвоживание

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) ^{RF} (тема № АААА-А20-120011500098-1) на базе ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ВНИМИ) ^{RF}.

Для цитирования: Анализ энергетических затрат при реализации многостадийного метода получения сухих молочных продуктов / В. Д. Харитонов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 395–401. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-395-401>.

Introduction

In the production of various types of dairy and other food in concentrated, condensed and dry forms, one of the promising directions is a consistent combination of various dehydration methods. The feasibility is dictated by a number of circumstances related to the need to ensure a given final product quality taking into account its differences in physical-chemical and thermal-physical properties at various stages of dehydration [1, 2]. Due to the high complexity of these approaches calculating multi-stage processes, they are still the subject of ongoing research relevant today [3–6].

A combination of vacuum evaporation and spray drying [7–10] can be considered as a trivial example of the practical use of a multi-stage dehydration method. For a number of reasons, obtaining a dry product without a preliminary concentration step was recognized as unpromising. A consistent use of vacuum evaporating and spray drying plants in the production of dry dairy products and whole milk replacers (WMR) allows to increase the efficiency of the process. It also improves their storage capacity and reducing properties due to increased resistance to milk fat oxidation and the creation of the required structure of individual particles [11, 12]. The efficiency increase of the process is explained by the fact that the specific heat consumption for product

dehydration in spray dryers is more than 10 times higher, than this indicator in vacuum evaporation plants. Thus, such scheme, being a successful solution to improve the quality of the final product and the process efficiency, became widespread in practice, and thereby opened up a promising direction to intensify dehydration processes.

The work objective is to analyze the effect of the dehydration staging in the production of concentrated, condensed and dry dairy products, as well as whole milk replacers, on the energy consumption of this process.

Study objects and methods

The objects of research were liquid, concentrated and dry dairy products: whole and skim milk, milk whey, whole milk replacers, as well as the parameters of their dehydration processes at individual stages. The determination of moisture and solids mass fraction in the products was carried out in accordance with State Standard R 54668-2011.

Results and discussion

The limiting factor that determines the rational level of the solids mass fraction in the product between evaporation and drying is viscosity. On the one hand, an increase in the degree of milk concentration as a result of vacuum evaporation contributes to the efficiency of dehydration

in general. On the other hand, an excessive increase in the viscosity of the product is limited by the technical capabilities of spray devices and the difficulty of ensuring rational values of the average particle diameter and the degree of their polydispersity [7, 8]. The choice of a specific concentration of a condensed product before drying and its viscosity depends on a number of factors: the type of product, its temperature, drying method, etc. [7–9, 13, 14]. As a result, in practice, the solids mass fraction in condensed whole and skim milk aimed for drying is maintained in the range of 46–50%, and in milk whey – 50–56%. It should be noted that one of the most important efficiency characteristics of vacuum evaporation plants is the heat transfer coefficient, which subsequently decreases with increasing concentration [3, 15]. However, evaporation costs are still lower than that of spray drying ones. Thus, the research aimed at intensifying the milk condensation process currently goes on in the field of using multi-shell vacuum evaporators, and the use of mechanical compression of steam and finishers. One should note the increasingly widespread use of reverse osmosis units at the first stage of dehydration before vacuum evaporation [16].

Unlike milk condensation in vacuum evaporators, the spray drying process has a number of specific features. It is characterized by drying curves, which are fundamentally general for liquid biological objects, including those based on milk. The drying curves of such materials have two main periods [3, 17]. In the first period, the drying rate is constant. The intensity of moisture removal in this period is determined only by the parameters of the drying agent and practically does not depend on the physical-chemical properties of the dried product.

In the second period, the intensity of the drying process decreases as the moisture content of the product decreases. In this case, the temperature of this process increases, and the temperature of the product to be dried monotonically increases, tending to approach the temperature of the spent drying agent. The reason for this is the need to remove bound moisture during the drying period. The end of this period is the achievement of an equilibrium moisture content in the dried product. As a result, the drying process practically stops.

Heat consumption during a constant drying rate remains constant, and increases during a period of a decreasing drying rate. At the final stage, starting with the mass fraction of moisture in the product, energy consumption increases many times [18–20]. This makes the spray drying process ineffective. The circumstance is the basis for using a more economical dehydration method at this stage. For example, drying in a fluidized or aerovibroboiling bed.

Taking into account the above, we will consider the process of obtaining dry milk products by assessing the relationship between the specific energy consumption relative to the amount of received products and the

change in the mass fraction of solids at various process stages. Based on the analysis of the material balance, the effectiveness of the dehydration process in the production of dry milk products was assessed [14]. Specific energy consumption at individual stages of the multi-stage dehydration process can be determined using the following expression:

$$q = \frac{\sum_{i=1}^k (M_0 - W_{i-1}) \cdot \left(1 - \frac{c_{i-1}}{c_i}\right) \cdot q_i}{G} \quad (1)$$

where q – specific energy consumption of the finished product, kJ/kg; q_i – specific energy consumption of evaporated (removed) moisture at the i -stage, kJ/kg; M_0 – initial product consumption, kg/s; W_{i-1} – productivity of evaporated (removed) moisture at the i -stage of the process, kg/s; $W_0 = 0$; c_i – mass fraction of solids in the product at the end of the i -stage of the process, %; c_0 – mass fraction of solids in the original product, %; G – finished product productivity, kg/s; k – the total number of dehydration stages.

Based on this dependence, a comparative analysis of energy consumption at different dehydration process stages was carried out. The main stages of the dehydration process of various dairy products and the specific energy consumption, reduced to the amount of moisture removed from the product, are presented in Table 1. The range of change in the mass fraction of solids at individual stages of dehydration are given in Table 2.

The data presented in Table 1 indicate that the energy consumption at the stages of spray drying significantly exceeds the energy consumption at the stages of membrane processing and vacuum evaporation. The data were obtained for the ranges of changes in the mass fraction of solids at individual stages of dehydration, shown in Table 2.

For the same range of solids mass fraction, the diagrams in Fig. 1 show the calculated values of the specific (relative to the amount of final dry products) energy consumption at dehydration individual stages. It should be noted that in the case of a one-stage process, unit costs are several times higher than similar costs when using a two-stage process (in the production of SMP – 5.2–7.5 times, WMP – 4.4–5.8 times, DCW – 8.5–14.0 times, milk replacer – 5.5–8.5 times). In this regard, the indicated data are absent in the diagrams in Fig. 1. Further, a one-stage process being unpromising is not considered.

The presented diagrams indicate the possibility of reducing the energy consumption for the dehydration process by dividing it into separate stages, the parameters of which correspond to the changing characteristics of the dried product. Further reduction of energy consumption for the dehydration process should be considered in the direction of choosing the boundaries of the mass fraction of solids at individual stages, as well as optimizing the methods and parameters of product processing within each

Table 1. Stages of the dehydration process of various dairy products

Stages of the dehydration process	The process driving force	Specific energy consumption reduced to the amount of moisture removed from the product, kJ/kg
1. Moisture removal by membrane methods (nanofiltration, reverse osmosis)	Pressure	250–420
2. Vacuum evaporation	The difference between the enthalpies of steam at the entrance to the vacuum evaporator and condensate at the exit	800–1000
3. Spray drying (1st stage of drying)	The difference in enthalpies of drying air at the inlet and outlet of the drying chamber, equivalent to the difference in enthalpies of steam at the inlet to the main steam heater for the preparation of drying air and condensate at the outlet	6400–8300
4. Drying in a fluidized bed (additional drying of the product – 2nd stage of drying)	The difference in enthalpies of drying air at the inlet and outlet of the aero- or vibro-apparatus of the fluidized bed, equivalent to the difference in enthalpies of steam at the inlet of the steam heater for air preparation of drying the product and condensate at the outlet	6000–6700

Table 2. Change range in mass fraction of solids at each stage of dehydration

Produced product	Stages of the dehydration process	Mass fraction of solids in the product by stages (beginning – end), %			
		1	2	3	4
Skimmed milk powder (SMP)	Membrane moisture separation	–	–	–	9–22
	Vacuum evaporation	–	9–48	9–48	22–48
	Spray drying	9–96	48–96	48–92	48–92
	Fluidized bed drying	–	–	92–96	92–96
Whole milk powder (WMP)	Membrane moisture separation	–	–	–	12–24*
	Vacuum evaporation	–	12–48	12–48	24*–48
	Spray drying	12–96	48–96	48–92	48–92
	Fluidized bed drying	–	–	92–96	92–96
Dry crystallized whey (DCW)	Membrane moisture separation	–	–	–	5–22
	Vacuum evaporation	–	5–52	5–52	22–52
	Spray drying	5–95	52–95	52–92	52–92
	Fluidized bed drying	–	–	92–95	92–95
Whole milk relacer (WMR)	Membrane moisture separation	–	–	–	5–22**
	Vacuum evaporation	–	8**–48	8**–48	22**–48
	Spray drying	8**–96	48–96	48–92	48–92
	Fluidized bed drying	–	–	92–96	92–96

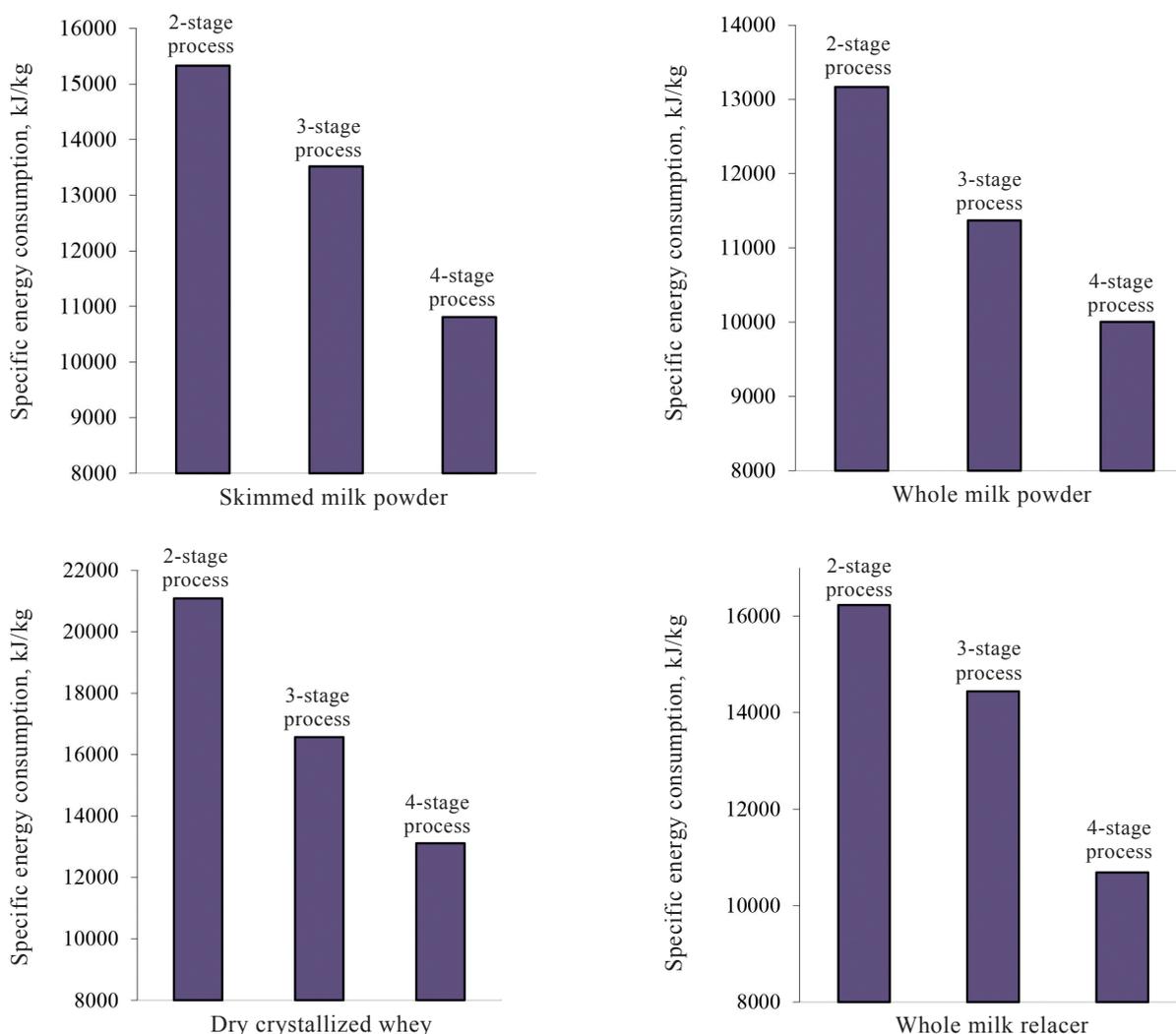
* – taking into account the solids entering the product when the mixture is normalized;

** – taking into account the solids entering the product when mixing according to the milk replacer formula (WMR).

of the stages. Hereinafter, the numbering of individual stages will be carried out in accordance with the numbering indicated in Table 1.

Dividing the dehydration process into two stages (vacuum evaporation and spray drying) provides the required quality indicators of the products produced, and allows to much reduce energy costs. Due to this, the two-stage method of dehydration is most widely used in practice.

When implementing this two-stage scheme, a vacuum evaporation of the initial product begins with a mass fraction of solids of 5–12% and ends at the level of 48–52%. It is possible to intensify the process of vacuum evaporation both by increasing the number of bodies of the vacuum apparatus, and by improving their design. It should be noted that the use of more than three or four cases is not advisable, since the metal consumption and the cost of equipment significantly increase, while the gain from reducing energy consumption is small.



2-stage process – vacuum evaporation, spray drying; 3-stage process – vacuum evaporation, spray drying, fluidized bed drying; 4-stage process – membrane separation of moisture, vacuum evaporation, spray drying, fluidized bed drying

Figure 1. Specific energy consumption at each stage of dehydration relative to the amount of various final dry products

Methods of intensifying the process of spray drying in the periods of constant and decreasing speed are carried out by increasing the monodispersity of the spray, reducing the product viscosity, etc. However, they are not directly related to the process of multi-stage dehydration, and therefore, are not considered in this work. On the other hand, this process includes the implementation of the drying process until the content of the mass fraction of moisture in the product is 6–8%, that is, slightly higher than the standard. This requires the product additional drying to a standard moisture content of 3–5%, which can be considered as the final dehydration stage (the fourth in Table 1). The estimation of the unit costs at this stage of dewatering can be considered as the difference between

the unit costs of spray drying to increased moisture content of the product and drying in two stages. Reducing the specific energy consumption for the implementation of a three-stage dehydration process (middle rows in the diagrams in Fig. 1), compared to a two-stage process (left rows in the diagrams), depending on the product being dried, is 10–15%. Considering the possibility of organizing the final drying process in a device structurally combined with a spray dryer, the cost of additional equipment is minimal and has little effect on its payback. A decrease in energy consumption when using this process will be observed with the further increase in the mass fraction of moisture up to 9–10%. At the same time, the stability of the process of additional drying of milk powder decreases

due to an increase in the plasticity of the fluidized bed. The main factors influencing the energy efficiency of the spray drying and post-drying processes are the effect of the temperature of the drying agents supplied for drying, at the outlet from the spray dryer and after completion of the drying process, as well as the effect of the mass fraction of solids in the dried products.

Another possibility to reduce energy consumption for the dehydration process of dairy products and milk replacer is the use of additional processing of the feedstock by membrane methods (reverse osmosis, nanofiltration) before the thickening stage, i.e., the organization of a four-stage process. The total energy consumption for maintenance (for example, the reverse osmosis process) depends on the hydraulic losses in the modules of the respective plants. In absolute terms, per unit of moisture removed from the product is 250–479 kJ/kg, which is 2–4 times less than the analogous indicator of the vacuum evaporation process (Table 1). Due to this, the specific energy consumption per unit of the final dry product produced according to the four-stage scheme (right categories in the diagrams in Fig. 1), depending on the type of product, is reduced by 12–33%, compared with the three-stage scheme, and by 22–38% for compared with two-stage. The calculations were carried out taking into account the fact that the maximum possible mass fraction of solids in products after membrane treatment is 20–22%. It should also be noted that the use of membrane methods at the first stage of dehydration allows several times to reduce the required productivity of vacuum evaporation plants, as well as their metal consumption and costs. In addition, during the operation of membrane plants, the moisture removed from the product is industrial water, which can be used, for example, for equipment cleaning. Consequently, the use of membrane methods at the first stage of dehydration is justified both from the point of view of reducing the energy consumption of the process as a whole, and from an environmental point of view. The application scale of the multi-stage dehydration method, especially in the case when the main basic stage of the process is spray drying, is increasing every year in this country and abroad. This is due to the ability to obtain high quality products with relatively low energy and resource consumption in comparison with the same indicators when using a traditional drying process [17, 19]. The advantage of this dehydration method also includes the possibility of obtaining products with new consumer properties and variable composition, as well as with acceptable indicators of environmental impact.

The last stage of dehydration (additional drying) can be divided into two stages: the first is carried out in a fluidized bed built into the drying chamber, and the second - in an additional vibrating convection apparatus. The installation of finishers at the last stage of vacuum evaporation also has a positive effect on the process efficiency. This allows a further increase of solids concentration in the mixture sent to the spray drying stage.

When solving the issue of the dehydration staging of multicomponent products, including whole milk, whole milk replacers, etc., it is necessary to take into account the presence of additional technological process operations for the introduction of components and appropriate processing (homogenization, emulsification, fermentation, hydrolysis, etc.). The variability of these processes, especially in view of the diversity of the component composition of the raw materials used, complicates the conditions for obtaining multicomponent products, and in most cases requires additional experimental studies.

Conclusion

We considered the issues related to the use of various dehydration methods in the production of dry dairy products and whole milk replacers. An equation was drawn up to estimate the specific energy consumption at individual stages of the multi-stage dehydration process relative to a unit of the final dry product.

Specific energy consumption in a one-stage process (spray drying) was 4.4–14.0 times higher than its costs in a two-stage process (spray drying and vacuum evaporation). The transfer of the dehydration process to a three-stage scheme (spray drying, vacuum evaporation and additional drying of the product) provides energy savings of 10–15%, in comparison with a two-stage process, while the transfer to a four-stage scheme (spray drying, vacuum evaporation, additional product drying and membrane processing initial product) – of 22–38%.

Contribution

V.D. Kharitonov and V.A. Asafov co-supervised the project. P.V. Kuznetsov prepared the design materials. V.T. Gabriellova reviewed scientific literature and prepared the manuscript.

Conflict of interest

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

References

1. Alekseev GV, Egorova OA, Moldovanov D, Egorov AN. Spray drying of food suspensions: upgrading capabilities. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(1):70–76. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-70-76>.
2. Avanesov VM, Plaksin YuM, Strelukhina AN, Larin VA. Production of disperse plant products by spray-drying method. *Storage and Processing of Farm Products*. 2016;(5):9–13. (In Russ.).

3. Shakhov SV, Magomedov GO, Magomedov MG, Saranov IA. Spray drying unit and agglomeration of food environments. Russia patent RU 2618637C1. 2017.
4. Shakhov SV, Saranov IA, Magomedov GO, Magomedov MG. Method of automatic control of the process of spray drying and agglomeration. Russia patent RU 2647745C1. 2018.
5. Shovchko AS, Kovalev VM, Stepanova AL, Levshina LYa, Kabanjuk VV. Method of control of spray drying process. Russia patent RU 2023219C1. 1994.
6. Shakhov SV, Saranov IA, Magomedov GO, Magomedov MG. Development of a system of automatic control of the process of spray drying and agglomeration. Digitalization of agroindustrial complex: Proceedings; 2018; Tambov. Tambov: Tambov State Technical University; 2018. p. 232–235. (In Russ.).
7. Kharitonov VD. Dvukhstadiynaya sushka molochnykh produktov [Two-stage drying of dairy products]. Moscow: Agropromizdat; 1986. 215 p. (In Russ.).
8. Masters K. Spray drying. Handbook. New York: Halsted Press; 1985. 696 p.
9. Dolinskiy AA, Maletskaya KD. Raspylitel'naya sushka. T. 2. Teplotekhnologii i oborudovanie dlya poluche-niya poroshkovykh materialov [Spray drying. Vol. 2. Heat technology and equipment for the production of powder materials]. Kiev: Akademperiodika; 2015. 390 p. (In Russ.).
10. Shiyanova NI, Kolyazov KA, Sirotnin PA. Elaboration of mathematical model of control of the spray drying plant type. Izvestia MAAO. 2015;(23):163–166. (In Russ.).
11. Radaeva IA, Illarionova EE, Turovskaya SN, Ryabova AE, Galstyan AG. Principles of domestic dry milk quality assurance. Food Industry. 2019;(9):54–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10145>.
12. Galstyan AG, Petrov AN, Radaeva IA, Turovskaya SN, Chervetsov VV, Illarionova EE, Semipyatnyy VK. Teoriya i praktika molochno-konservnogo proizvodstva [Theory and practice of canned milk production]. Moscow: Izdatel'skiy dom "Fedotov D.A."; 2016. 181 p. (In Russ.).
13. Kutsakova VE, Burykin AI, Makeeva IA. Sovremennoe oborudovanie dlya sushki molochnykh produktov [Modern equipment for powdered dairy products]. Moscow: AgroNIITEHIMMP; 1988. 52 p. (In Russ.).
14. Kuznetsov PV, Gabrielova VT, Mertin P. About choosing the equipment for milk and whey drying. Dairy Industry. 2015;(3):34–37. (In Russ.).
15. Khomyakov AP. Protsessy i apparaturnoe oformlenie proizvodstv dlya polucheniya poroshkoobraznykh khimi-cheskikh veshchestv [Processes and equipment for production of powdered chemicals]. Dr. Eng. Sci. diss. abstract. Ekaterinburg: Ural State Technical University; 2007. 49 p.
16. Kruchinin AG, Agarkova EYu. Ispol'zovanie membrannykh tekhnologiy pri kontsentrirovanii vtorichnogo molochnogo syr'ya [Membrane technologies in the condensation of secondary dairy raw materials]. Milk Processing. 2017;218(12):54–55. (In Russ.).
17. Maksimenko YuA, Feklunova YuS, Telichkina ER, Pshenichnaya NE. Kinetics of spray drying plant materials. Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex-Healthy Food Products. 2016;11(3):77–81. (In Russ.).
18. Kharkov VV, Kuznetsov MG. Simulation of milk spray-drying. Vserossiyskaya nauchno-tekhnicheskaya konferentsiya s mezhdunarodnym uchastiem "Oborudovanie pishchevykh proizvodstv v XXI veke": sbornik materialov konferentsii [All-Russian Scientific and Technical Conference with international participation "Equipment for Food Production in the XXI century": conference proceedings]; 2020; Kazan. Kazan: Pechat'-servis XXI vek; 2020. p. 62–66. (In Russ.).
19. Lin SXQ, Chen XD. Changes in milk droplet diameter during drying under constant drying conditions investigated using the glass-filament method. Food and Bioproducts Processing: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part C. 2004;82(3C):213–218. <https://doi.org/10.1205/fbio.82.3.213.44178>.
20. Zouari A, Mtibaa I, Triki M, Jridi M, Zidi D, Attia H, et al. Effect of spray-drying parameters on the solubility and the bulk density of camel milk powder: A response surface methodology approach. International Journal of Dairy Technology. 2020;73(3):616–624. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12690>.

Идентификация кобыльего молока и его смеси с коровьим молоком методом ВЭЖХ-анализа

В. П. Курченко^{1,*}, Е. С. Симоненко², Н. В. Сушинская¹,
Т. Н. Головач¹, А. Н. Петров³, С. В. Симоненко²



¹ Белорусский государственный университет^{ROR}, Минск, Республика Беларусь

² Научно-исследовательский институт детского питания, Истра, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования^{ROR}, Видное, Россия

Дата поступления в редакцию: 14.04.2021

Дата принятия в печать: 15.05.2021



*e-mail: Kurchenko@tut.by

© В. П. Курченко, Е. С. Симоненко, Н. В. Сушинская,
Т. Н. Головач, А. Н. Петров, С. В. Симоненко, 2021

Аннотация.

Введение. Кобылье молоко является ценным пищевым продуктом, а также обладает лечебными свойствами. При создании новых функциональных продуктов питания используется смесь кобыльего и коровьего молока. Актуальность разработки методов идентификации кобыльего, коровьего молока и их смеси связано с необходимостью предотвращения их фальсификации.

Объекты и методы исследования. Сыворотки кобыльего, коровьего молока и их смеси. Белковый состав сывороток анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием хроматографа Agilent 1200 с диодно-матричным Agilent G1315C детектором. Разделение компонентов проб проводили на колонке Machinery Nagel C18 4.6×250, 5 мкм.

Результаты и их обсуждение. Для анализа сывороточных белков кобыльего и коровьего молока была оптимизирована методика ВЭЖХ-анализа. Эффективное разделение сывороточных белков достигается за счет выбранного времени проведения хроматографии (60 мин), использовании линейного градиента концентрации ацетонитрила (от 0 до 50 %) и объема пробы для инъекции (20 мкл). Белком-маркером видовой принадлежности кобыльего и коровьего молока является α-лактоальбумин. Время удержания кобыльего α-лактоальбумина составляло 45,16 мин, коровьего – 40,09 мин. Различия времени удержания α-лактоальбуминов связано с наличием в первичной структуре кобыльего и коровьего молока 33 замен аминокислот. По площадям пиков α-лактоальбумина рассчитали содержание в кобыльем молоке количество добавленного коровьего молока и процент разведения кобыльего молока коровьим.

Выводы. Использование ВЭЖХ-анализа сывороточных белков дает возможность определить в 1 литре кобыльего молока до 50 мл добавленного коровьего молока.

Ключевые слова. Молоко, сывороточные белки, ВЭЖХ-анализ, сыворотка, белок

Для цитирования: Идентификация кобыльего молока и его смеси с коровьим молоком методом ВЭЖХ-анализа / В. П. Курченко [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 402–412. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-402-412>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

HPLC Identification of Mare's Milk and Its Mix with Cow's Milk

Vladimir P. Kurchenko^{1,*}, Elena S. Simonenko², Natalia V. Sushynskaya¹,
Tatsiana N. Halavach¹, Andrey N. Petrov³, Sergey V. Simonenko²

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

² Research Institute of Baby Food, Istra, Russia

³ All-Russian Scientific Research Institute of Canning Technology^{ROR}, Vidnoe, Russia

Received: April 14, 2021

Accepted: May 15, 2021



*e-mail: Kurchenko@tut.by

© V.P. Kurchenko, E.S. Simonenko, N.V. Sushynskaya,
T.N. Halavach, A.N. Petrov, S.V. Simonenko, 2021

Abstract.

Introduction. Mare's milk is a valuable food product with medicinal properties. In combination with cow's milk, it is used to create new functional foods. Efficient identification of mare's milk, cow's milk, and their mixes prevent falsification.

Study objects and methods. The protein composition of mare's and cow's milk whey and their mixes was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) using an Agilent 1200 chromatograph with an Agilent G1315C diode array detector. Separation was performed using a column Machinery Nagel C 18 4.6×250, 5 μm.

Results and discussion. The standard HPLC method was optimized to analyse whey proteins in the milk samples. The separation of whey proteins included the following optimal parameters: chromatography time = 60 min, linear gradient of acetonitrile concentration = 0–50%, and sample volume for injection = 20 μl. Alpha-lactoalbumin proved to be the protein of mare's milk and cow's milk. The retention time of mare's α-lactoalbumin was 45.16 min, and that of cow's milk – 40.09 min. The differences in the retention time of α-lactoalbumin were associated with the presence of 33 amino acid substitutions in the primary structure of both milks. The areas of α-lactoalbumin peaks were used to calculate the amount of cow's milk added to mare's milk and the related percentage.

Conclusion. A HPLC analysis of whey proteins made it possible to determine up to 50 mL of added cow's milk in 1 liter of mare's milk.

Keywords. Milk, whey proteins, HPLC analysis, whey, protein

For citation: Kurchenko VP, Simonenko ES, Sushynskaya NV, Halavach TN, Petrov AN, Simonenko SV. HPLC Identification of Mare's Milk and Its Mix with Cow's Milk. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):402–412. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-402-412>.

Введение

Кобылье молоко является ценным пищевым продуктом, т. к. химические вещества, входящие в его состав, близки к женскому молоку [1–7]. Отличительной особенностью кобыльего молока является его высокая биологическая ценность и усвояемость [8, 9]. Оно успешно используется для повышения иммунитета и при лечении различных заболеваний: хронического гепатита, туберкулеза и др. [8, 10–15]. Систематическое потребление кобыльего молока в течение 4 месяцев больными экземой приводит к уменьшению зуда и гиперемии у 30–55 % пациентов. Это связано с влиянием кобыльего молока на увеличение бифидобактерий микрофлоры кишечника. Регулярное использование кобыльего молока в питании больных с воспалительными заболеваниями кишечника приводит к уменьшению болевого синдрома [10, 16, 17]. Терапевтические эффекты кобыльего молока в гастроэнтерологии могут быть связаны с наличием в его составе лактоферрина, лизоцима и др. белков (табл. 1). Эти белки обладают бактерицидными свойствами и защищают организм от патогенных микроорганизмов, способствуя росту бифидобактерий. Следует отметить положительную роль лактоферрина в воспалительных процессах и стимулировании гуморального иммунитета [11, 18]. Благодаря наличию в кобыльем молоке большого количества сывороточных белков оно, как и материнское, относится к альбуминовому

типу [2]. Из-за сезонности получения кобыльего молока разработаны технологии его сушки с сохранением биологических свойств [19–21].

Кобылье молоко находит все более широкое применение при разработке функциональных продуктов питания, обладающих лечебно-профилактическим действием. Таким продуктом является кумыс, который широко используется при лечении различных заболеваний. Его отличает низкое содержание белка, что снижает его питательные свойства.

В новых формулах пищевых продуктов используется смесь кобыльего и коровьего молока. Обогащение кобыльего молока коровьим при производстве кумыса приводит к изменению его реологических свойств. Это связано с тем, что основным белком коровьего молока является казеин, который составляет 78–85 %. Он представлен рядом форм, которые различаются по содержанию: 43–55 % составляет группа α-казеинов, 24–35 % – β-казеин, 8–15 % – κ-казеин [22–24].

Первичная структура α_s1-, α_s2-, β- и κ-казеина имеет невысокую гомологию [22, 23]. Изoeлектрические точки всех форм казеинов лежат в области pH 4,6–4,7 [25]. Функциональные свойства компонентов казеиновой фракции молока также различны. α_s1-, α_s2- и β-казеин относятся к фосфопротеидам и осаждаются в присутствии кальция в отличие от κ-казеина. Однако α_s1-, α_s2-, β- и κ-казеин имеют общие уникальные свойства, выделяющие их среди других белков молока. Это фосфорилированные белки

Таблица 1. Состав и содержание сывороточных белков в кобыльем, коровьем и женском молоке [2]

Table 1. Composition and content of whey proteins in mare's milk, cow's milk, and human milk [2]

Состав сывороточных белков	Значение	Кобылье молоко	Коровье молоко	Женское молоко
Содержание сывороточных белков в молоке, %	Среднее	38,79	17,54	53,52
β -лактоглобулин	Среднее (мин–макс)	30,75 25,3–36,3	53,59 52,9–53,6	0
α -лактальбумин	Среднее (мин–макс)	28,55 27,5–29,7	20,10 18,4–20,1	42,37 30,3–45,4
Иммуноглобулины	Среднее (мин–макс)	19,77 18,7–20,9	11,73 10,1–11,7	18,15 15,1–19,7
Альбумин сыворотки	Среднее (мин–макс)	4,45 4,4–4,5	6,20 5,5–76,7	7,56 4,5–9,1
Лактоферрин	Среднее	9,89	8,38	30,26
Лизоцим	Среднее	6,59	–	1,66

с относительно высоким содержанием пролина (10 Про в α_s1 -казеине и 35 Про в β -казеине), молекулярной массой 19–25 кДа и невыраженной третичной структурой, лишенной дисульфидных мостиков [22]. к-казеин, в отличие от α - и β -казеинов, является кальций устойчивой фракцией белков молока, т. к. содержит только один фосфосериновый остаток. В связи с этим к-казеин практически не связывает ионы кальция и не теряет растворимости в их присутствии. Также растворимость к-казеина связана с наличием в его структуре галактозы, N-ацетилгалактозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты. Они содержат значительное количество гидроксильных групп, что обеспечивает молекуле белка высокий отрицательный заряд. В комплексе с α - и β -казеинами к-казеин образует стабильные мицеллы [22].

В мицелле казеины распределены нерегулярно: выделяют центральную гидрофобную и периферическую гидрофильную области, в которой располагаются основные сайты фосфорилирования. Гидрофильная область обуславливает связывание с кальцием и транспортную функцию белков.

Располагаясь на поверхности мицелл, к-казеин выступает в виде защитного коллоида по отношению к кальций неустойчивым белкам [26]. Четвертичная структура казеинов представляет собой непрочно связанные друг с другом мицеллы. Мицелла казеина состоит из субмицелл диаметром 10–20 нм, которые состоят из α_s1 -, α_s2 -, β - и к-казеинов в соотношении 3:1:3:1. Субмицеллы связываются друг с другом за счет кальций-фосфатных мостиков. Они формируются таким образом, чтобы гидрофобные участки располагались в центральной части мицеллы, а гидрофильные области к-казеина и фосфатные группы α_s1 -, α_s2 - и β -казеинов – на поверхности, создавая отрицательный заряд мицелл. В присутствии кальция, цитратов и фосфатов фракции казеинов самоассоциируются и,

взаимодействуя друг с другом, образуют ассоциаты различных размеров [26]. Исследования показали, что мицеллы казеина коровьего молока являются высокоорганизованными структурными единицами сферической формы диаметром от 40 до 300 нм.

Устойчивость мицелл казеинов зависит от pH, ионной силы и температуры. В процессе ферментации кисломолочного продукта изменяется pH в кислую область. При этом ионы водорода связываются с ионизированными COOH-группами казеинов, что ведет к уменьшению числа отрицательных зарядов на поверхности белковых частиц. Это приведет к нарушению гидратной оболочки мицелл и снижению растворимости белка. Когда величина pH становится близкой к изоэлектрической точке казеинов, то его мицеллы коагулируют и образуют сгусток молока [23, 26]. Реологические свойства такого кисломолочного продукта из коровьего молока отличаются от кумыса, изготовленного из кобыльего молока. В кобыльем молоке содержание казеина значительно меньше, чем в коровьем, и составляет 50 %. Мицеллы казеина содержат β -казеин. Доля к-казеина в кобыльем молоке меньше, чем в коровьем. Различия состава казеинов в коровьем и кобыльем молоке ведет к различиям в структурной организации их мицелл. В результате ферментации кобыльего молока коагуляция казеинов менее выражена, чем в коровьем. При добавлении к кобыльему молоку различного количества коровьего процесс ферментации приведет к образованию плотного сгустка полученного кисломолочного продукта и улучшению его реологических свойств.

Возрастающая потребность в кобыльем молоке при создании новых функциональных продуктов приводит к его фальсификации путем добавления большого количества доступного коровьего молока. Это существенно снижает качество и безопасность

таких продуктов. В связи с этим актуальной задачей является разработка метода идентификации кобыльего молока и его смеси с коровьим. Этот метод может найти применение при идентификации сухого кобыльего молока и кисломолочных продуктов из него. В настоящее время отсутствуют методы идентификации кобыльего молока и его смеси с коровьим.

Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) позволяет идентифицировать видовую принадлежность молока по белкам, входящим в его состав. Анализ может быть проведен по сывороточным белкам молока [27, 28]. Белки сыворотки кобыльего и коровьего молока различаются по аминокислотному составу. В связи с этим они имеют различное сродство к гидрофобной матрице C18, которой заполнена хроматографическая колонка. Разделение белков сыворотки молока и оценка их количественного содержания позволит идентифицировать процент разведения кобыльего молока коровьим. Для использования ВЭЖХ-анализа кобыльего и коровьего молока необходимо оптимизировать время разделения белков и условия использования линейного градиента концентрации ацетонитрила.

Целью работы являлась разработка методов идентификации кобыльего, коровьего молока и их смеси.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили сыворотки кобыльего, коровьего молока и их смесей. В работе использовали 3 образца кобыльего и коровьего питьевого молока, а также 2 образца сухого кобыльего молока (KZ.3510317.24.01788) ТОО «ЕвразияИнвест Ltd» (Республика Казахстан).

Подготовка проб сыворотки кобыльего, коровьего молока и их смесей для проведения анализа. Кобылье и коровье молоко содержит большое количество казеина, который затрудняет использование электрофоретических и хроматографических методов их идентификации. Для определения видовой принадлежности кобыльего, коровьего молока и их смесей использована сыворотка, которую получали путем кислотной коагуляции казеина. Свежее цельное кобылье или коровье молоко охлаждали до 5 °С и центрифугировали при 10 тыс. об/мин в течение 30 мин. Отделяли верхнюю фракцию липидов. Обезжиренное молоко фильтровали через капроновый фильтр. В обезжиренное молоко, которое нагревали в термостате Precitherm PFV при температуре 37 °С, постепенно вносили 50 % раствор HCl до достижения pH 4,5. При этом значении pH происходит коагуляция казеина. Через 30 мин свернувшееся молоко охлаждали до комнатной температуры и отделяли осадок казеина центрифугированием при 5 тыс. об/мин в течение

10 мин. Внесением к полученной сыворотке 1 М раствора NaOH доводили pH до 6,5. Полученные пробы хранили при 4 °С. Для ВЭЖХ-анализа использовались полученные сыворотки кобыльего и коровьего молока и их смеси в соотношениях 90:10, 75:25, 60:40, 45:55, 30:70 и 15:85 % соответственно.

Методика ВЭЖХ анализа сывороток кобыльего, коровьего молока и их смесей. Белковый состав сывороток кобыльего, коровьего молока и их смесей анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием хроматографа Agilent 1200 с диодно-матричным Agilent G1315C детектором. Разделение компонентов проб проводили на колонке Machinery Nagel C18 4.6×250, 5 мкм (США) при температуре 25 °С и скорости элюции 1 мл/мин. Поглощение элюата измеряли при 214 и 280 нм. Объем пробы для инъекции составлял 20 мкл с концентрацией белка, эквивалентной 2 мг/мл. Перед нанесением на колонку все пробы фильтровали через 0,45 мкм фильтр. Для разделения белков сывороток молока был использован градиентный режим элюирования с изменением содержания ацетонитрила подвижной фазы В от 0 до 50 % в 0,1 % трифторуксусной кислоте. Фаза А – 0,1 % трифторуксусной кислоты в воде. Время хроматографического разделения составляло 60 мин. Количественный анализ хроматограмм с диодно-матричным детектором проводили с использованием компьютерного обеспечения Agilent Technologies Inc. (США) [27, 29]. Измерения произведены в трех независимых опытах.

Результаты и их обсуждение

Пригодными методами для идентификации видовой принадлежности молока различных видов сельскохозяйственных животных являются методы разделения белков молока различными электрофоретическими методами и высокоэффективной жидкостной хроматографией.

В кобыльем и коровьем молоке существуют значительные различия в содержании сывороточных белков: β-лактоглобулина (β-лг), α-лактоальбумина (α-ла) и сывороточного альбумина (табл. 1) Для идентификации видовой принадлежности молока различных видов копытных животных удобно использовать сывороточные белки. Благодаря межвидовым различиям в первичной структуре β-лг, α-ла и сывороточного альбумина их физико-химические свойства будут существенно различаться [27–30].

Несмотря на различие в первичной, вторичной и третичной структуре белков молока различных видов копытных животных, они имеют близкие молекулярные массы. Для идентификации белковых соединений различного происхождения широко используется метод их электрофоретического разделения в

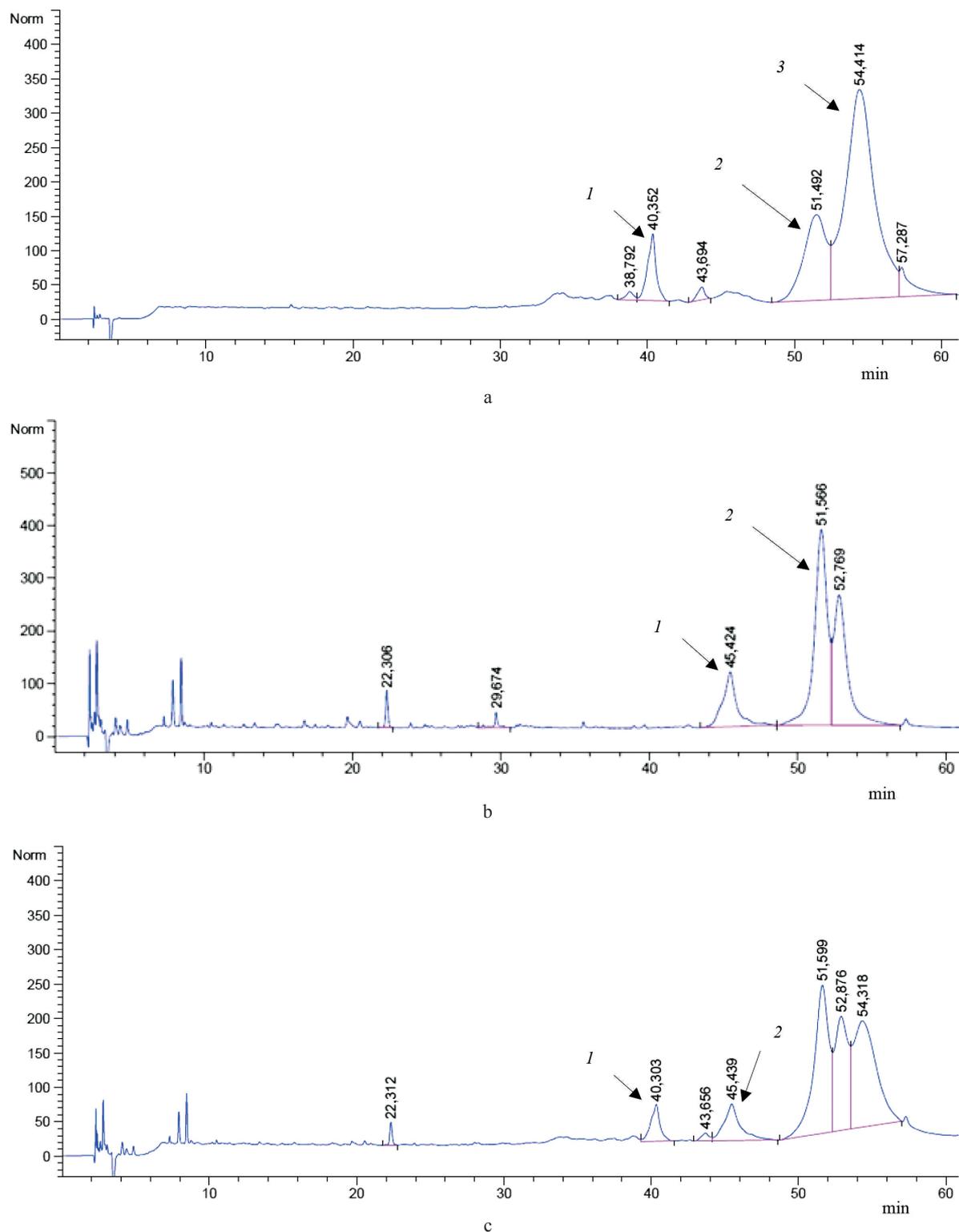


Рисунок 1. Хроматографический профиль ВЭЖХ анализа белков сыворотки:
 а – коровьего молока (1 – α -лактоальбумин, 2 – А форма β -лактоглобулина, 3 – Б форма β -лактоглобулина);
 б – кобыльего молока (1 – α -лактоальбумин, 2 – β -лактоглобулина); с – смеси кобыльего и коровьего молока при их соотношении 45:55 % (1 – α -лактоальбумин кобыльего молока 2 – α -лактоальбумин коровьего молока) при 214 нм

Figure 1. HPLC analysis of whey proteins: a – cow's milk (1 – α -lactoalbumin, 2 – A form of β -lactoglobulin, 3 – B form of β -lactoglobulin); b – mare's milk (1 – α -lactoalbumin, 2 – β -lactoglobulin); c – mix of mare's and cow's milks at a ratio of 45:55% (1 – α -lactoalbumin of mare's milk 2 – α -lactoalbumin of cow's milk) at 214 nm

Таблица 2. Время удержания на хроматографической колонке и площадь пиков белков сыворотки кобыльего и коровьего молока и их смеси в ВЭЖХ-анализе

Table 2. Retention time on the chromatographic column and the area of the peaks of proteins in the whey samples according to HPLC analysis

Сывороточные белки	Показатели ВЭЖХ-анализа	Сыворотка коровьего молока	Сыворотка кобыльего молока	Смесь сывороток кобыльего и коровьего молока, 45:55 %
α-лактоальбумин	Время удержания, мин	40,352	45,424	40,303 45,439
	Площадь пика, %	6,2980	14,629	4,642 8,187
β-лактоглобулин	Время удержания, мин, А форма Б форма	51,492 54,414	51,566	
	Площадь пика, % А форма Б форма	21,102 66,620	48,417	

полиакриламидном геле. В результате денатурации белков додецилсульфатом натрия они различаются только по их молекулярной массе и имеют близкие заряды. Ранее экспериментально показано, что метод электрофоретического разделения денатурированных белков козьего, коровьего и человеческого молока не позволяет определить их видовую принадлежность [27].

Использование ВЭЖХ для разделения белков сыворотки кобыльего, коровьего молока и их смеси основано на значительных отличиях их первичной структуры. Замена аминокислот в первичной структуре белков сывороток кобыльего и коровьего молока приводит к различиям в их физико-химических свойствах, что позволяет оптимизировать процесс их разделения в ВЭЖХ-анализе. Для оптимизации разделения сывороточных белков было подобрано время проведения хроматографии (60 мин), использован линейный градиент концентрации ацетонитрила (от 0 до 50 %) и объем пробы для инъекции (20 мкл).

На рисунках 1–3 представлены результаты оптимизированного ВЭЖХ анализа нативных белков сывороток кобыльего и коровьего молока и их смеси. Из полученных хроматограмм рассчитано время удержания белков и площади их пиков, которые представлены в таблице 2.

Анализ результатов разделения белков сыворотки коровьего молока показал, что содержание α-ла и β-лг соответствует ранним полученным результатам, представленными в таблице 1 [2]. Время удержания β-лг коровьего молока А и Б форм различается (рис. 1а, пики 2 и 3). С наибольшей частотой встречаются генетические варианты β-лг А и В с молекулярной массой 18 362 Да и 18 276 Да соответственно. Отличия в аминокислотных последовательностях заключается заменой Gly→Asp в позиции 64 и Ala→Val в позиции 118

для вариантов А и В соответственно. Первичная структура β-лг представлена цепью из 162 аминокислот с 5 цистеиновыми остатками, четыре из которых образуют дисульфидные мостики (Cys66–Cys160 и Cys106–Cys119) с пятым свободным тиолом (Cys121). Вторичная структура белка содержит β-складчатые слои (43 %), α-спирали (10 %) и неорганизованные структуры (47 %), включая β-петли [22, 29, 31, 32]. В кобыльем молоке β-лг представлен одной формой и время его удержания на хроматографической колонке совпадает с временем удержанием А формы коровьего β-лг (рис. 1а пик 2, 1б пик 2). Это свидетельствует о сходстве их физико-химических свойств и первичной структуры.

Это обстоятельство не позволяет использовать сывороточный β-лг в качестве маркера кобыльего молока. В оптимизированных условиях проведения ВЭЖХ-анализа удалось добиться значительного различия времени удержания α-ла коровьего и кобыльего молока, которое составило 40,35 и 45,24 минуты соответственно (рис. 1а пик 1, 1б пик 1). Этот сывороточный белок может быть использован в качестве маркера при идентификации кобыльего молока и его смеси с коровьим.

Лактоальбумин – второй по значимости глобулярный белок сывороточной фракции кобыльего и коровьего молока (табл. 1). В отличие от β-лг α-ла присутствует в женском молоке. Молекулярная масса мономера α-ла коровьего молока составляет 14 178 Да, изоэлектрическая точка – рI 4,6. В белке не обнаружены свободные сульфгидрильные группы, но выявлены четыре дисульфидных мостика. Они расположены в аминокислотных позициях 6 и 120, 28 и 111, 61 и 77, 73 и 91 и ограничивают гибкость структуры α-ла в определенных условиях. Лактоальбумин содержит несколько участков с регулярной вторичной структурой: α-спирали (40 %), 310-спирали (20 %),

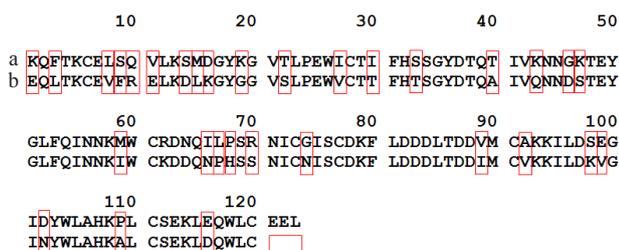


Рисунок 2. Первичная структура кобыльего (а) и коровьего (b) α-лактоальбумина [36]

Figure 2. Primary structure of mare's (a) and cow's (b) α-lactoalbumin [36]

β-структуры (6 %) и значительное количество (44 %) неорганизованных участков [22]. α-спираль является наиболее распространенной вторичной структурой белков и характеризуется плотными витками вокруг длинной оси молекулы и стабилизированными водородными связями между Н и О пептидных групп. 3₁₀-спираль очень «тугая», имеющая в сечении форму треугольника. В образовании β-складчатых структур преобладают обычно глицин и аланин.

Лактоальбумин проявляет двойную функцию: связывает β-1,4-галактозилтрансферазу с образованием регуляторной субъединицы для синтеза лактозы. Кроме того, он способен вызывать апоптоз клеток. Белок представляет собой металлопротеин, связанный с кальцием, который необходим для создания складчатости и структурной стабильности [33, 34]. Он может существовать в димерной форме с молекулярной массой 28 кДа, которая индуцирует гибель клеток, в то время как мономерный α-лактоальбумин 14 кДа неактивен [34, 35].

В процессе хроматографии время удержания α-ла кобыльего и коровьего молока связано со значительными различиями в их первичной и вторичной структуре. Сравнительный анализ первичной структуры кобыльего и коровьего α-ла показывает наличие 33 замен аминокислот (рис. 2) [36]. Такое большое количество замен аминокислот в первичной структуре лактоальбуминов приводит к изменению их вторичной структуры. В связи с этим они имеют различное сродство к гидрофобному сорбенту колонки Machinery Nagel C18, которая использовалась для разделения белков сыворотки молока. Вследствие значительных отличий первичной структуры сывороточных α-ла и различий в ВЭЖХ-анализе этот белок является белком-маркером видовой принадлежности кобыльего, коровьего молока и их смеси.

По площадям пиков хроматограмм белков сыворотки кобыльего, коровьего молока и их смеси в соотношениях 90:10, 75:25, 60:40, 45:55, 30:70 и 15:85 % соответственно дана оценка содержания α-ла в

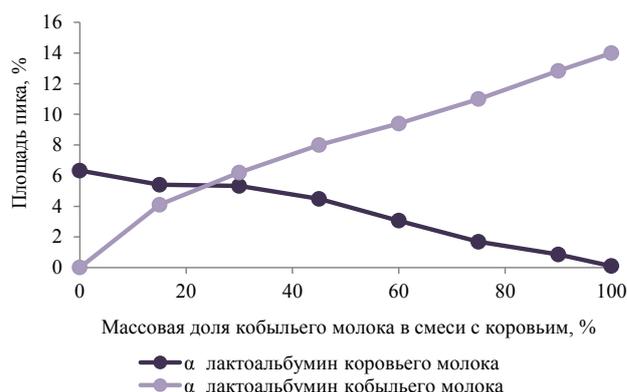


Рисунок 3. Зависимость содержания α-лактоальбумина в сыворотке кобыльего молока при добавлении в нее сыворотки коровьего молока (инъекция 20 мкл сыворотки в ВЭЖХ-анализе)

Figure 3. Effect of cow's milk whey on α-lactoalbumin content in mare's milk whey (injection of 20 μl of whey during HPLC analysis)

исследованных образцах. На рисунке 3 по результатам использования ВЭЖХ-анализа показано содержание α-ла в сыворотках кобыльего молока в зависимости от ее разведения сывороткой коровьего молока.

При оценке содержания α-ла в сыворотке кобыльего молока и ее смеси с сывороткой коровьего можно определить процент разведения кобыльего молока коровьим. Предложенная методика позволяет определить 10 % добавленного коровьего молока к кобыльему. Для понижения нижнего предела определения α-ла коровьего молока в смеси с кобыльем можно использовать для инъекции не 20 мкл сыворотки, а 40 мкл образца. Это позволит определить минимум 5 % добавленного коровьего молока. Методика может быть использована для идентификации видовой принадлежности кобыльего молока, сухого кобыльего молока и кисломолочных продуктов из него.

Выводы

По результатам проведенных исследований показана возможность использования ВЭЖХ для идентификации видовой принадлежности кобыльего молока и его смеси с коровьим молоком. Для анализа используются молочные сыворотки указанных объектов исследования. Белками-маркерами коровьего и кобыльего молока в ВЭЖХ-анализе являются α-лактоальбумины. При использовании линейного градиента концентрации ацетонитрила время удержания кобыльего α-лактоальбумина составляет 45,16 мин, коровьего – 40,09 мин. Показано, что в первичной структуре кобыльего α-ла имеется 27,5 % замен аминокислот по сравнению с первичной

структурой коровьего α -ла. Эти замены привели к изменению физико-химических свойств и уменьшению гидрофобности кобыльего α -ла. Благодаря этому явлению уменьшилось время удержания этого белка на используемом гидрофобном сорбенте в ВЭЖХ-анализе. При оценке количественного содержания сывороточного α -лактоальбумина можно определить процент разведения кобыльего молока коровьим. Методика позволяет определить минимум 5 % добавленного коровьего молока к кобыльему.

Предлагаемая методика идентификации видовой принадлежности кобыльего молока имеет большие преимущества, по сравнению с другими методами, т. к. позволяет в течение 1 часа определить состав сывороточных белков кобыльего, коровьего молока и их смеси. Использование этой методики дает возможность определить в 1 литре кобыльего молока до 50 мл добавленного коровьего.

Критерии авторства

В. П. Курченко – руководство проектом, сбор и обобщение материала. Е. С. Симоненко – сбор и обобщение материала, написание раздела статьи по методам исследования. Н. В. Сушинская и

А. Н. Петров – проведение экспериментальных работ по ВЭЖХ-анализу белков сыворотки кобыльего и коровьего молока. Т. Н. Головач – сбор, обобщение материала по свойствам белков кобыльего молока. С. В. Симоненко – руководил проектом, написание введения в статью.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.P. Kurchenko supervised the project, collected the data, and analyzed the material. E.S. Simonenko collected the data, analyzed the material, and described the methods. N.V. Sushynskaya and A.N. Petrov performed the HPLC analysis. T.N. Halavach collected and generalized the material on the properties of mare's milk proteins. S.V. Simonenko supervised the project and wrote the introduction.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Lv J.-P., Wang L.-M. Bioactive components in kefir and koumiss // Bioactive components in milk and dairy products / Y. W. Park editor. Wiley-Blackwell, 2009. P. 251–262. <https://doi.org/10.1002/9780813821504.ch10>.
2. Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species / K. Potocnik [et al.] // Mljekarstvo. 2011. Vol. 61. № 2. P. 107–113.
3. Дайырова С. М. Изучение жирно-кислотного состава сухого кобыльего молока // Фармация Казахстана. 2016. Т. 181. № 6. С. 19–21.
4. Якунин А. В., Синявский Ю. А., Ибраимов Ы. С. Оценка пищевой ценности кобыльего молока и кисломолочных продуктов на его основе и возможности их использования в детском питании // Вопросы современной педиатрии. 2017. Т. 16. № 3. С. 235–240. <https://doi.org/10.15690/vsp.v16i3.1734>.
5. Thoroughbred mare's milk exhibits a unique and diverse free oligosaccharide profile / S. Karav [et al.] // FEBS Open Bio. 2018. Vol. 8. № 8. P. 1219–1229. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12460>.
6. Chemical composition and lipid profile of mare colostrum and milk of the quarter horse breed / I. M. L. G. Barreto [et al.] // PLoS ONE. 2020. Vol. 15. № 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238921>.
7. Hill D. R., Newburg D. S. Clinical applications of bioactive milk components // Nutrition Reviews. 2015. Vol. 73. № 7. P. 463–476. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv009>.
8. Mazhitova A., Kulmyrzaev A. Физиологически функциональные компоненты кобыльего молока (обзорная статья) // Журнал технических наук Манас. 2015. Т. 3. № 2. С. 1–8.
9. Mazhitova A. T., Kulmyrzaev A. A. Determination of amino acid profile of mare milk produced in the highlands of the Kyrgyz Republic during the milking season // Journal of Dairy Science. 2016. Vol. 99. № 4. P. 2480–2487. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9717>.
10. Dietetic effects of oral intervention with mare's milk on the Severity Scoring of Atopic Dermatitis, on faecal microbiota and on immunological parameters in patients with atopic dermatitis / C. Foekel [et al.] // International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2009. Vol. 60. № 7. P. 41–52. <https://doi.org/10.1080/09637480802249082>.
11. Кобылье молоко в гастроэнтерологии (обзорная статья) / Б. П. Бимбетов [и др.] // Медицина (Алматы). 2019. Т. 207. № 9. С. 73–78.
12. Production technology, nutritional, and microbiological investigation of traditionally fermented mare milk (Chigee) from Xilin Gol in China / L. Guo [et al.] // Food Science and Nutrition. 2019. Vol. 8. № 1. P. 257–264. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1298>.

13. Comparison of the efficacy of alpha-lactalbumin from equine, bovine, and human milk in the growth of intestinal IEC-6 cells / Xijier [et al.] // *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2012. Vol. 76. № 4. P. 843–846. <https://doi.org/10.1271/bbb.110896>.
14. *In vitro* screening of mare's milk antimicrobial effect and antiproliferative activity / A. Guri [et al.] // *FEMS Microbiology Letters*. 2015. Vol. 363. № 2. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv234>.
15. Verhulst L., Kerre S., Goossens A. The unsuspected power of mare's milk // *Contact Dermatitis*. 2016. Vol. 74. № 6. P. 376–377. <https://doi.org/10.1111/cod.12541>.
16. Color stability of fermented mare's milk and a fermented beverage from cow's milk adapted to mare's milk composition / J. Teichert [et al.] // *Foods*. 2020. Vol. 9. № 2. <https://doi.org/10.3390/foods9020217>.
17. A UPLC-Q-TOF-MS-based metabolomics approach for the evaluation of fermented mare's milk to koumiss / Y. Xia [et al.] // *Food Chemistry*. 2020. Vol. 320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126619>.
18. Ganzorig K., Urashima T., Fukuda K. Exploring potential bioactive peptides in fermented bactrian camel's milk and mare's milk made by mongolian nomads // *Foods*. 2020. Vol. 9. № 12. <https://doi.org/10.3390/foods9121817>.
19. Усупкожоева А. А., Элеманова Р. III. Влияние температурного режима сушки на качественные показатели сухого кобыльего молока // *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания*. 2017. Т. 20. № 6. С. 39–45.
20. Сияневский Ю. А., Сарсембаев Х. С. Разработка и экспериментальная оценка эффективности нового специализированного пищевого продукта на основе сухого кобыльего молока при физической нагрузке // *Вопросы питания*. 2020. Т. 89. № 6. С. 91–103. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10082>.
21. Lactose-riched Mongolian mare's milk improves physical fatigue and exercise performance in mice / Y.-J. Hsu [et al.] // *International Journal of Medical Sciences*. 2021. Vol. 18. № 2. P. 564–574. <https://doi.org/10.7150/ijms.53098>.
22. Horne D. S. Casein micelle structure: models and muddles // *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 2006. Vol. 11. № 2–3. P. 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.11.004>.
23. Casein micelles and their internal structure / C. G. De Kruif [et al.] // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2012. Vol. 171–172. P. 36–52. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.01.002>.
24. Layman D. K., Lonnerdal B., Fernstrom J. D. Applications for α -lactalbumin in human nutrition // *Nutrition Reviews*. 2018. Vol. 76. № 6. P. 444–460. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy004>.
25. Usage of chitosan in dairy products production / I. A. Evdokimov [et al.] // *Foods and Raw Materials*. 2015. Vol. 3. № 2. P. 29–39. <https://doi.org/10.12737/13117>.
26. Nagy K., Varo G., Szalontai B. κ -Casein terminates casein micelle build-up by its “soft” secondary structure // *European Biophysics Journal*. 2012. Vol. 41. № 11. P. 959–968. <https://doi.org/10.1007/s00249-012-0854-0>.
27. Методы идентификации женского, козьего и коровьего молока / С. В. Симоненко [и др.] // *Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем*. 2009. Т. 4. № 2. С. 256–260.
28. *Short communication*: Caseins and α -lactalbumin content of camel milk (*Camelus dromedarius*) determined by capillary electrophoresis / H. Mohamed [et al.] // *Journal of Dairy Science*. 2020. Vol. 103. № 12. P. 11094–11099. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19122>.
29. Identification and characterization of yak α -lactalbumin and β -lactoglobulin / L. Wang [et al.] // *Journal of Dairy Science*. 2020. Vol. 104. № 3. P. 2520–2528. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18546>.
30. Production of highly purified fractions of α -lactalbumin and β -lactoglobulin from cheese whey using high hydrostatic pressure / A. Marciniak [et al.] // *Journal of Dairy Science*. 2020. Vol. 103. № 9. P. 7939–7950. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17817>.
31. Sawyer L., Kontopidis G. The core lipocalin, bovine β -lactoglobulin // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure and Molecular Enzymology*. 2000. Vol. 1482. № 1–2. P. 136–148. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(00\)00160-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00160-6).
32. α -Lactalbumin: Of camels and cows / J. M. Redington [et al.] // *Protein and Peptide Letters*. 2016. Vol. 23. № 12. P. 1072–1080. <https://doi.org/10.2174/0929866523666160517123738>.
33. Permyakov E. A., Berliner L. J. α -Lactalbumin: structure and function // *FEBS Letters*. 2000. Vol. 473. № 3. P. 269–274. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01546-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01546-5).
34. Disorder in milk proteins: α -Lactalbumin. Part B. A multifunctional whey protein acting as an oligomeric molten globular “oil container” in the anti-tumorigenic drugs, lipotides / V. N. Uversky [et al.] // *Current Protein and Peptide Science*. 2016. Vol. 17. № 6. P. 612–628. <https://doi.org/10.2174/1389203717666151203003151>.
35. Dimeric but not monomeric α -lactalbumin potentiates apoptosis by up regulation of ATF3 and reduction of histone deacetylase activity in primary and immortalised cells / J. A. Sharp [et al.] // *Cellular Signalling*. 2017. Vol. 33. P. 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2017.02.007>.
36. NCBI. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 24.03.2021).

References

1. Lv J-P, Wang L-M. Bioactive components in kefir and koumiss. In: Park YW, editor. Bioactive components in milk and dairy products. Wiley-Blackwell; 2009. pp. 251–262. <https://doi.org/10.1002/9780813821504.ch10>.
2. Potocnik K, Gantner V, Kuterovac K, Cividini A. Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo*. 2011;61(2):107–113.
3. Daiyrova SM. Evaluation of the chemical composition of dry mare's milk. *Farmatsiya Kazakhstana [Pharmacy of Kazakhstan]*. 2016;181(6):19–21. (In Russ.).
4. Yakunin AV, Sinyavskiy YuA, Ibraimov YS. Assessment of the nutritional value of mare's milk and fermented mare's milk products and the possibility of their use in baby food. *Current Pediatrics*. 2017;16(3):235–240. (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vsp.v16i3.1734>.
5. Karav S, Salcedo J, Frese SA, Barile D. Thoroughbred mare's milk exhibits a unique and diverse free oligosaccharide profile. *FEBS Open Bio*. 2018;8(8):1219–1229. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12460>.
6. Barreto IMLG, Urbano SA, Oliveira CAA, Macêdo CS, Borba LHF, Chags BME, et al. Chemical composition and lipid profile of mare colostrum and milk of the quarter horse breed. *PLoS ONE*. 2020;15(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238921>.
7. Hill DR, Newburg DS. Clinical applications of bioactive milk components. *Nutrition Reviews*. 2015;73(7):463–476. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv009>.
8. Mazhitova A, Kulmyrzaev A. Review: Physiologically functional components of mare's milk. *MANAS Journal of Engineering*. 2015;3(2):1–8. (In Russ.).
9. Mazhitova AT, Kulmyrzaev AA. Determination of amino acid profile of mare milk produced in the highlands of the Kyrgyz Republic during the milking season. *Journal of Dairy Science*. 2016;99(4):2480–2487. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9717>.
10. Foekel C, Schubert R, Kaatz M, Schmidt I, Bauer A, Hipler U-C, et al. Dietetic effects of oral intervention with mare's milk on the Severity Scoring of Atopic Dermatitis, on faecal microbiota and on immunological parameters in patients with atopic dermatitis. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009;60(7):41–52. <https://doi.org/10.1080/09637480802249082>.
11. Bimbetov BR, Zhangabylov AK, Benberin VV, Aitbaeva SYe, Bakytzhanuly A, Ospanova LZh. Mare's milk in gastroenterology (review article). *Medicine (Almaty)*. 2019;207(9):73–78. (In Russ.).
12. Guo L, Xu W-L, Li C-D, Ya M, Guo Y-S, Qian J-P, et al. Production technology, nutritional, and microbiological investigation of traditionally fermented mare milk (Chigee) from Xilin Gol in China. *Food Science and Nutrition*. 2019;8(1):257–264. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1298>.
13. Xijier, Mori Y, Fukuoka M, Cairangzhuoma, Inagaki M, Iwamoto S, et al. Comparison of the efficacy of alpha-lactalbumin from equine, bovine, and human milk in the growth of intestinal IEC-6 cells. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2012;76(4):843–846. <https://doi.org/10.1271/bbb.110896>.
14. Guri A, Paligot M, Crèvecoeur S, Piedboeuf B, Claes J, Daube G, et al. *In vitro* screening of mare's milk antimicrobial effect and antiproliferative activity. *FEMS Microbiology Letters*. 2015;363(2). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv234>.
15. Verhulst L, Kerre S, Goossens A. The unsuspected power of mare's milk. *Contact Dermatitis*. 2016;74(6):376–377. <https://doi.org/10.1111/cod.12541>.
16. Teichert J, Cais-Sokolińska D, Danków R, Pikul J, Chudy S, Bierzuńska P, et al. Color stability of fermented mare's milk and a fermented beverage from cow's milk adapted to mare's milk composition. *Foods*. 2020;9(2). <https://doi.org/10.3390/foods9020217>.
17. Xia Y, Yu J, Miao W, Shuang Q. A UPLC-Q-TOF-MS-based metabolomics approach for the evaluation of fermented mare's milk to koumiss. *Food Chemistry*. 2020;320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126619>.
18. Ganzorig K, Urashima T, Fukuda K. Exploring potential bioactive peptides in fermented bactrian camel's milk and mare's milk made by mongolian nomads. *Foods*. 2020;9(12). <https://doi.org/10.3390/foods9121817>.
19. Usupkozhoeva AA, Elemanova RSh. The influence of temperature drying mode to quality indicators of dry mare's milk. *Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex-Healthy Food Products*. 2017;20(6):39–45. (In Russ.).
20. Sinyavskiy YuA, Sarsembayev KhS. The development and experimental evaluation of the effectiveness of a new specialized food based on dried mare's milk during exercise. *Problems of Nutrition*. 2020;89(6):91–103. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10082>.
21. Hsu Y-J, Jhang W-L, Lee M-C, Bat-Otgon B, Narantungalag E, Huang C-C. Lactose-riched Mongolian mare's milk improves physical fatigue and exercise performance in mice. *International Journal of Medical Sciences*. 202;18(2):564–574. <https://doi.org/10.7150/ijms.53098>.
22. Horne DS. Casein micelle structure: models and muddles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 2006;11(2–3):148–153. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.11.004>.

23. De Kruif CG, Huppertz T, Urban VS, Petukhov AV. Casein micelles and their internal structure. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2012;171–172:36–52. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.01.002>.
24. Layman DK, Lonnerdal B, Fernstrom JD. Applications for α -lactalbumin in human nutrition. *Nutrition Reviews*. 2018;76(6):444–460. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy004>.
25. Evdokimov IA, Alieva LR, Varlamov VP, Kharitonov VD, Butkevich TV, Kurchenko VP. Usage of chitosan in dairy products production. *Foods and Raw Materials*. 2015;3(2):29–39. <https://doi.org/10.12737/13117>.
26. Nagy K, Varo G, Szalontai B. κ -Casein terminates casein micelle build-up by its ‘soft’ secondary structure. *European Biophysics Journal*. 2012;41(11):959–968. <https://doi.org/10.1007/s00249-012-0854-0>.
27. Simonenko SV, Gavrilenko NV, Chervyakovskiy EM, Kurchenko VP. Metody identifikatsii zhenskogo, koz’ego i korov’ego moloka [Methods for identification of human, goat’s, and cow’s milk]. *Proceedings of the Belarusian State University. Series of Physiological, Biochemical and Molecular Biology Sciences*. 2009;4(2):256–260. (In Russ.).
28. Mohamed H, Johansson M, Lundh Å, Nagy P, Kamal-Eldin A. *Short communication*: Caseins and α -lactalbumin content of camel milk (*Camelus dromedarius*) determined by capillary electrophoresis. *Journal of Dairy Science*. 2020;103(12):11094–11099. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19122>.
29. Wang L, Ma Y, Li H, Yang F, Cheng J. Identification and characterization of yak α -lactalbumin and β -lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*. 2020;104(3):2520–2528. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18546>.
30. Marciniak A, Suwal S, Touhami S, Chamberland J, Pouliot Y, Doyen A. Production of highly purified fractions of α -lactalbumin and β -lactoglobulin from cheese whey using high hydrostatic pressure. *Journal of Dairy Science*. 2020;103(9):7939–7950. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17817>.
31. Sawyer L, Kontopidis G. The core lipocalin, bovine β -lactoglobulin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Protein Structure and Molecular Enzymology*. 2000;1482(1–2):136–148. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(00\)00160-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00160-6).
32. Redington JM, Breydo L, Almeshdar HA, Redwan EM, Uversky VN. α -Lactalbumin: Of camels and cows. *Protein and Peptide Letters*. 2016;23(12):1072–1080. <https://doi.org/10.2174/0929866523666160517123738>.
33. Permyakov EA, Berliner LJ. α -Lactalbumin: structure and function. *FEBS Letters*. 2000;473(3):269–274. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01546-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01546-5).
34. Uversky VN, Permyakov SE, Breydo L, Redwan EM, Almeshdar HA, Permyakov EA. Disorder in milk proteins: α -Lactalbumin. Part B. A multifunctional whey protein acting as an oligomeric molten globular “oil container” in the anti-tumorigenic drugs, lipotides. *Current Protein and Peptide Science*. 2016;1(6):612–628. <https://doi.org/10.2174/1389203717666151203003151>.
35. Sharp JA, Brennan AJ, Polekhina G, Ascher DB, Lefevre C, Nicholas KR. Dimeric but not monomeric α -lactalbumin potentiates apoptosis by up regulation of ATF3 and reduction of histone deacetylase activity in primary and immortalised cells. *Cellular Signalling*. 2017;33:86–97. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2017.02.007>.
36. NCBI [Internet]. [cited 2021 Mar 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

Региональный анализ рынка сыра и сырных продуктов на примере города Москвы и Московской области

С. Н. Чеботарев^{ORCID}, Ж. Н. Диброва^{ORCID}, Н. М. Сурай*^{ORCID}

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

Дата поступления в редакцию: 27.04.2021

Дата принятия в печать: 18.05.2021



*e-mail: natalya.mixajlovna.1979@mail.ru

© С. Н. Чеботарев, Ж. Н. Диброва, Н. М. Сурай, 2021

Аннотация.

Введение. Производство сыра – перспективная производственная ниша, которая характеризуется высокой доходностью и перспективами роста потребления. Москва и Московская область являются крупнейшими производителями сыров и сырных продуктов в России. В статье рассмотрены перспективные направления развития сыроделия в Московской области, т. к. наблюдается интерес потребителей к сырам функционального назначения и комбинированного состава. Сыры, выработанные по традиционным технологиям, пользуются приоритетным спросом. Цель работы – анализ современного состояния рынка сыров и сырных продуктов в Москве и Московской области, а также представление прогноза его развития.

Объекты и методы исследования. Научные статьи ученых по теме исследования за последние десять лет, нормативные и законодательные документы. В качестве методов применяли методы анализа, систематизации и обобщения. Форматирование информации предусматривается с трех позиций: законодательный, статистический и диагностический форматы.

Результаты и их обсуждение. Московская область по объемам валового производства молока в категориях всех хозяйств стабильно на протяжении многих лет занимает второе место в Центральном федеральном округе. По итогам 2020 г. она вошла в рейтинг с показателем более 700 тыс. тонн. Регионами-лидерами с наибольшими объемами производства сыров и сырных продуктов за период с 2016 по 2020 гг. стали Алтайский край, Москва и Московская область, Брянская, Белгородская и Воронежская области. В Москве и Московской области в структуре производства сыров по типам наибольшую долю занимают полутвердые сыры, на втором месте – плавленые, на третьем – мягкие. Регион является одним из лидеров по ежегодному потреблению сыров и сырных продуктов – 7 кг на душу населения.

Выводы. Представлены основные направления развития регионального рынка сыров и сырных продуктов, исходя из возможностей производителей при активном внедрении новейших технологий в производственную и ассортиментную политику сыродельных предприятий.

Ключевые слова. Продовольственная безопасность, рынок, сыроделие, экспорт сыров, потребление сыров

Для цитирования: Чеботарев С. Н., Диброва Ж. Н., Сурай Н. М. Региональный анализ рынка сыра и сырных продуктов на примере города Москвы и Московской области // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 413–422. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-413-422>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Cheese Market in Moscow and the Moscow Region: A Regional Analysis

Sergei N. Chebotarev^{ORCID}, Zhanna N. Dibrova^{ORCID}, Natalya M. Suray*^{ORCID}

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

Received: April 27, 2021

Accepted: May 18, 2021



*e-mail: natalya.mixajlovna.1979@mail.ru

© S.N. Chebotarev, Zh.N. Dibrova, N.M. Suray, 2021

Abstract.

Introduction. Cheese production is a promising niche with high profitability and excellent growth prospects. The city of Moscow

and the Moscow region are the largest producers of cheeses and cheese products in Russia. Cheese production is developing there as part of the import substitution policy. The article describes some promising development directions of the local cheese industry.

Study objects and methods. The paper analyzes and generalizes recent research publications, as well as regulatory and legislative documents, from legislative, statistical, and diagnostic positions.

Results and discussion. The Moscow Region ranks second in the Central Federal District in terms of gross milk production; its indicator was 700 000 tons by the end of 2020. In 2016–2020, the list of leading cheese-producing areas included the regions of Altai, Moscow, Bryansk, Belgorod, and Voronezh. In Moscow and the Moscow region, the largest share in the structure of cheese production belongs to semi-hard cheeses followed by whizzed and soft cheese, with the annual consumption of cheese of 7 kg.

Conclusion. The article features the current state of cheese market in the city of Moscow and the Moscow region, its development prospects, structure, production dynamics, consumption rate, etc. The paper also contains a forecast of the regional cheese production based on new production technologies and assortment policy.

Keywords. Food security, market, cheesemaking, cheese export, cheese consumption

For citation: Chebotarev SN, Dibrova ZhN, Suray NM. Cheese Market in Moscow and the Moscow Region: A Regional Analysis. *Food Processing: Techniques and Technology.* 2021;51(2):413–422. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-413-422>.

Введение

В настоящее время рынок сыра является одним из наиболее динамично развивающихся сегментов продовольственного рынка в России. Молочная промышленность является ключевой отраслью в агропромышленном комплексе Московской области и решает проблему по обеспечению населения области, города Москвы и других регионов Российской Федерации продукцией первой необходимости. Московский регион считается наиболее перспективной территорией для производства продуктов переработки молока, поскольку граничит с одним из крупнейших продовольственных рынков страны и обладает территориальными преимуществами логистического центра. Московская область является одним из передовых регионов-производителей продукции молочного животноводства. По объемам производства молока анализируемому региону принадлежит второе место в Центральном федеральном округе России. За счет активного привлечения инвестиций в крупные ресурсоемкие проекты в сфере сыродельной подотрасли регион имеет лидирующее положение по объемам производства сыра и сырных продуктов, что способствует обеспечению продовольственной безопасности страны [1].

Сыр – один из наиболее питательных и калорийных пищевых продуктов, который содержится в ежедневном рационе питания населения. Питательная ценность его обусловлена высокой концентрацией белка и жира, наличием незаменимых аминокислот, витаминов, солей кальция и фосфора, которые необходимы для нормального развития организма человека [2]. В целях поддержания здоровья населения, профилактики заболеваний и улучшения демографической ситуации в 2016 г. Министерство здравоохранения РФ утвердило рекомендуемую норму потребления сыра на одного человека в год, которая составляет 7 кг [3].

Московская область является привлекательным регионом для компаний-производителей молока, т. к. имеется высокий спрос на сырье для производства широкого ассортимента молочной продукции, в том числе для активно развивающегося сырного кластера. Относительно экспорта большой интерес представляет не только сегмент сыров, но и сегмент сыворотки – побочный продукт производства сыров [4].

Россия занимает седьмое место в мире по объемам производства сыра. Крупнейшими производителями сыров и сырных продуктов в России являются Москва и Московская область; в этой отрасли им принадлежит второе место среди российских регионов. В рамках политики импортозамещения в регионе активно развивается сырное производство. Благодаря сырному кластеру Дмитровского округа регион планирует по итогам 2021 г. занять первое место в России по объемам производства сыра.

Московская область испытывает зависимость от привозной молочной продукции, в том числе импортной, поскольку собственного сырья – сырого молока – недостаточно для их производства [5]. Уровень самообеспеченности по молочному сырью в Московской области составляет около 35 %, а по сырам – 50 %.

По итогам 2020 г. Москва и Московская область заняли первое место в рейтинге регионов-лидеров по переработке молока. Объем переработки молока на сыр составил 16,5 тыс. тонн. В рамках государственной программы Московской области «Сельское хозяйство Подмосковья» запланирована общая мощность по переработке молока при производстве сыра на 2021 г. в объеме 16,8 тыс. тонн [6]. В настоящее время Московская область испытывает острую потребность в современных агропромышленных технологиях.

Президент Российской Федерации В. В. Путин в майском указе поставил задачу достичь к 2024 г.

увеличения экспорта продукции АПК до 45 млрд долл. [6]. По прогнозам Министерства сельского хозяйства России, вклад молочной отрасли в достижение этого показателя может составить 1 млрд долл. Опыт работы молокоперерабатывающих предприятий Москвы и Московской области в решении этой задачи может сыграть важную роль. По объемам экспорта молочной продукции Московская область занимает первое место в России среди регионов. В Москве по итогам 2020 г. данный показатель составил 57,23 млн долл. Лидирующей категорией по объемам экспорта молочной продукции в Москве и Московской области являются сыры. Главным импортером молочной продукции стал Казахстан, на второй позиции – США, затем следуют Белоруссия, Киргизия, Китай и Канада. Москва экспортировала сыров в 2020 г. на сумму 11,06 млн долл., что на 59,9 больше, чем в 2019 г. Московская область экспортировала сыров на сумму в размере 45,5 млн долл. Ведущими покупателями в этом сегменте остаются Казахстан, Белоруссия и Киргизия.

Цель работы – анализ современного состояния рынка сыров и сырных продуктов в Москве и Московской области, а также представление перспектив его развития.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования является региональный рынок сыров и сырной продукции на примере города Москвы и Московской области.

Значительный интерес представляли исследования, опубликованные в сборниках статей по материалам докладов международных конференций по проблемам развития рынка сыров и сырных продуктов в России и на региональном уровне. Различные аспекты развития рынка сыров и сырных продуктов представлены в работах отечественных исследователей, таких как

Таблица 1. Динамика производства молока-сырья в хозяйствах всех категорий по Российской Федерации, Центральному федеральному округу и областям-лидерам за 2018–2020 гг., тыс. тонн [7]

Table 1. Production rate of raw milk in the Russian Federation, the Central Federal District, and the leading regions for 2018–2020, thousand tons [7]

Наименование	2018 г.	2019 г.	2020 г.
Российская Федерация	30640	31300	32216
Центральный Федеральный округ, всего в том числе (области-лидеры)	5814	5947	6440
Воронежская область	904,2	980,5	1023,1
Московская область	750,0	679,0	715,0
Белгородская область	623,3	682,8	686,4
Владимирская область	390,0	408,9	424,5
Брянская область	291,7	293,0	295,3

А. А. Майоров, Г. Л. Горощенко, Т. И. Рыбалова, Г. М. Свириденко и др. Из зарубежных исследователей следует отметить П. Аббота, Б. Вайнио Морса, Д. Сальваторе и Д. Скалли.

Несмотря на значительную актуальность темы, проблема заключается в том, что не в достаточной мере имеются научные исследования, касающиеся вопросов анализа развития рынка сыров и сырных продуктов в Москве и Московской области.

В процессе исследования применялись следующие методы: экономико-статистический, монографический, методы сравнения и группировки, анализа, систематизации и обобщения. Также использовались данные научных электронных библиотек Elibrary.ru и Scielo, сведения из журналов, входящих в базы данных Scimago Journal Country Rank и Scopus.

Информационной базой исследования послужили законодательные и нормативно-правовые акты Российской Федерации, официальные данные Федеральной службы государственной статистики РФ, материалы Министерства сельского хозяйства РФ, материалы интервью и данные управлений сельского хозяйства обследованных регионов.

Научная новизна данного исследования заключается в обобщении результатов исследования современного состояния развития рынка сыров и сырной продукции в Москве и Московской области, а также систематизации направлений его развития.

Результаты и их обсуждение

По результатам исследований Московская область по объемам валового производства молока

Таблица 2. Производство сыров и сырных продуктов по регионам-лидерам РФ за период 2016–2020 гг., тонн [8]

Table 2. Production of cheeses and cheese products in the leading regions of the Russian Federation in 2016–2020, tons [8]

Наименование региона	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.
Алтайский край	83434	85700	91200	94300	97000
Московская область и г. Москва	65031	59250	61900	68000	70000
Брянская область	35480	38640	39300	48100	50000
Белгородская область	35700	36000	37000	38700	40000
Воронежская область	66831	72972	63000	36400	39000
Омская область	32728	37700	33000	33000	35000
Республика Татарстан	25599	28900	31500	32900	35000
Удмуртская Республика	27799	26083	28900	30100	34000

Таблица 3. Видовая структура производства сыров в Российской Федерации за период 2016–2020 гг., тыс. тонн [9]

Table 3. Specific structure of cheese production in the Russian Federation in 2016–2020, thousand tons [9]

Тип сыра	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г. (прогноз)
Сыр полутвердый	125	217	214	240	255	270
Сыр плавленый	106	102,3	111,8	132,7	140	150
Сыр мягкий	33,1	61	64	72,8	79,2	85
Сыр твердый	137	56	48	55	59,4	61
Сыры прочие	58,1	29	29	29	32,4	24
Всего сыров	459,2	463,9	472,6	540	566	590
Сырные продукты	146	184	193,5	172,5	174	190
Сыры и сырные продукты	605,2	647,9	666,1	712,5	740	780

в категориях всех хозяйств стабильно на протяжении многих лет занимает второе место в Центральном федеральном округе, а по итогам 2020 г. вошла в рейтинг с показателем более 700 тыс. тонн (табл. 1).

Положительная тенденция относительно объемов производства молока наблюдается в результате комплексной работы по развитию молочного животноводства в области, в том числе по повышению культуры производства и улучшению качества кормов. По итогам 2020 г. Московская область включена в топ-10 лучших субъектов по надою молока в категориях всех хозяйств на 1 корову. Данный показатель составил 6837 кг в год.

Российское производство сыров сосредоточено в тех регионах, которые обеспечены собственным натуральным сырьем. Основные производители сыра сосредоточены в Центральном, Приволжском и Сибирском федеральных округах России. Проведенное исследование компанией Intesco Research Group свидетельствует о том, что в структуре российского производства сыра крупнейшими федеральными округами являются Центральный, Приволжский, Сибирский и Южный (рис. 1) [7].

Как видно из данных рисунка 1, наибольшую долю от общего годового объема производства сыров и сырных продуктов занимает Центральный федеральный

округ – 45 %, затем Приволжский федеральный округ – 20 %, на третьем месте Сибирский федеральный округ – 15 %.

Регионами-лидерами с наибольшими объемами производства сыров и сырных продуктов за период с 2016 по 2020 гг. стали Алтайский край, Москва и Московская область, Брянская, Белгородская и Воронежская области (табл. 2).

В России по видовой структуре сыра производится значительная доля полутвердых сыров (табл. 3).

Анализ проведенных исследований показал, что в Москве и Московской области в структуре производства сыров по типам наибольшую долю занимают полутвердые сыры, на втором – плавленые, на третьем месте – мягкие (рис. 2.).

Центральный федеральный округ занимает первое место по объемам производства плавленых и мягких сыров, второе – рассольных и полутвердых, третье – твердых сыров. Лидером по объемам производства плавленых сыров по итогам 2020 г. стал Центральный федеральный округ с долей 73,2 %. При этом в производстве твердых сыров в Центральном федеральном округе за последние три года не наблюдалось роста, что способствует увеличению мощностей по их производству. Производство мягких, полутвердых и рассольных сыров сосредоточено в Брянской области; производство плавленого сыра – в

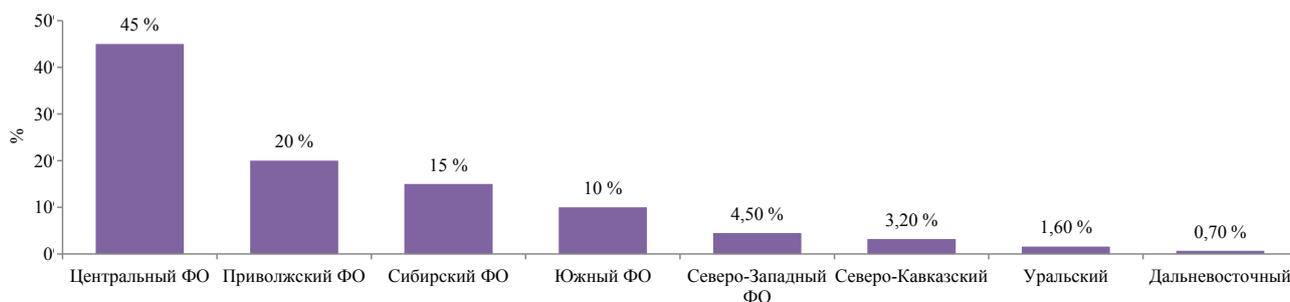


Рисунок 1. Структура производства сыров и сырных продуктов по Федеральным округам РФ за 2020 г.

Figure 1. Production structure of cheeses and cheese products in the Federal Districts of the Russian Federation, 2020



Рисунок 2. Структура производства сыров по типам в г.Москве и Московской области за 2020 г.

Figure 2. Cheese production structure by type in Moscow and the Moscow region, 2020

Московской области; производство твердого сыра – в Воронежской области.

В Москве и Московской области функционируют более 20 крупных производств сыров и порядка 100 фермеров. Сыродельные предприятия выпускают более 200 видов и сортов сыра. В Москве и Московской области производится широкий ассортимент сыров, а именно твердые и полутвердые, мягкие сыры, плавленые, зрелые и быстрые, голубые сыры с плесенью и пикантным вкусом, вегетарианские, диетические. В ассортиментной политике региональных сыродельных предприятий необходимо отметить следующие положительные тенденции [10]:

- внедрение в производственный процесс европейских технологий полутвердых сыров и сыров типа Моцареллы;
- активное включение твердых сыров в ассортимент сыродельной продукции;
- увеличение доли мягких сыров, в т. ч. творожных сыров, поскольку именно мягкие сыры обладают наилучшими перспективами для дальнейшего роста продаж;

– промышленное освоение технологий элитных сыров с белой и голубой плесенью.

Результаты исследований в области региональных потребительских предпочтений на рынке сырной продукции свидетельствуют о том, что значительная доля потребителей отдает предпочтения сегменту твердых и полутвердых сыров с традиционными наименованиями. В связи с этим главной задачей на рынке сыров является сохранение традиционных технологий сыров, таких как Российский, Пошехонский, Костромской и Голландский. По данным исследований, проведенным Министерством потребительского рынка и услуг Московской области, можно отметить, что наибольшей популярностью у населения данного региона пользуются мягкие молодые сыры, такие как Адыгейский, Сулугуни, Осетинский и Моцарелла. Вторую позицию занимают полутвердые сорта сыра: Чеддер, Гауда и Маасдам. Сыроварни Московской области успешно осваивают технологии производства таких «сырных» сыров, как Пармезан и Грюйер.

Одной из актуальных особенностей современного сыроделия является развитие фермерского или ремесленного производства сыров. Исследования свидетельствуют о том, что в Московской области увеличилось не только производство массовых, но и фермерских сыров. Производители промышленных и фермерских сыров не ведут активную конкурентную борьбу, поскольку производство таких сыров имеет различное социальное предназначение. Задачей промышленного сыроделия является обеспечение доступной сыродельной продукцией широких слоев населения. Сыры, изготовленные в условиях небольших производств, ориентированы на индивидуального покупателя, а также на гурманов или приверженцев «натурального» производства. Однако по ценовой политике они доступны не каждому потребителю. В условиях малых производств имеет место освоение эксклюзивных технологий производства сыров

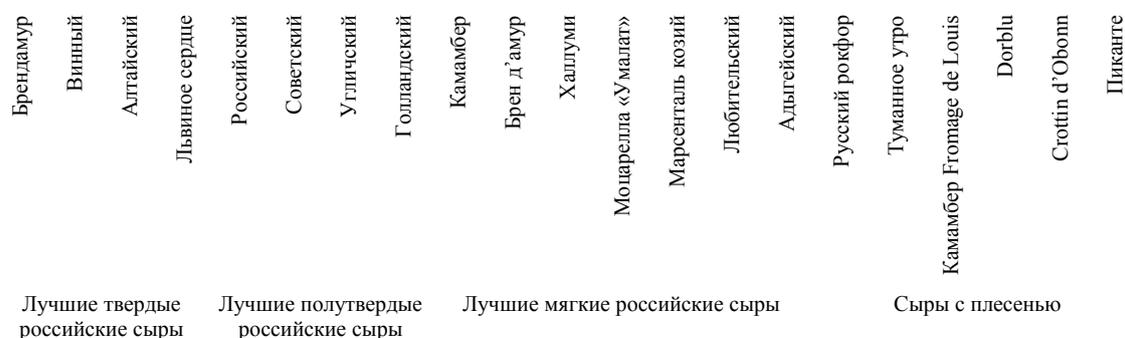


Рисунок 3. Наиболее популярные виды сыров в России за 2020 г.

Figure 3 The most popular types of cheese in Russia in 2020

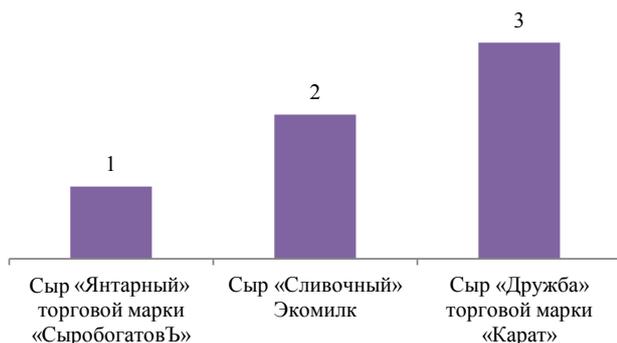


Рисунок 4. Рейтинг пастообразных сыров

Figure 4. Rating of pasty cheeses

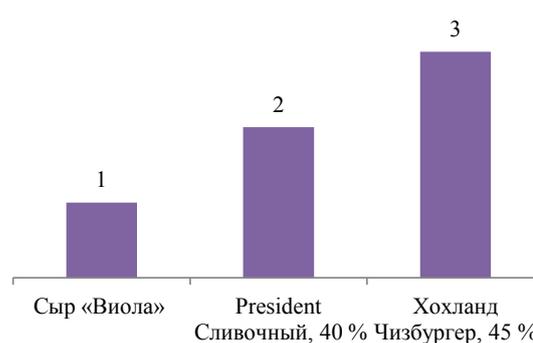


Рисунок 5. Рейтинг сыров в виде ломтиков

Figure 5. Rating of sliced cheeses

за относительно короткий промежуток времени. Но в этом направлении наблюдается недостаток необходимых профессиональных знаний на фоне отсутствия многолетних традиций, а также трудности с выводом продукции на торговые полки и ряд других проблем.

Можно сделать вывод о том, что существующее положение на региональном рынке сыра характеризуется двумя основными тенденциями: насыщение рынка традиционными сортами сыра и развитие сегмента экзотических продуктов. Отметим, что потребительский спрос на твердые и плавленые сыры устойчив, а объемы производства постоянно наращиваются. На элитные сорта спрос также растет, что является следствием повышения покупательской способности населения.

По результатам исследований можно выделить основные виды сыров, которые пользуются наибольшим спросом у населения в регионе (рис. 3).

По итогам конкурса «Лучший сыр России 2020», в котором приняло участие 170 сыроварен и представлено 712 образцов сыра в 12 категориях, лучшим сыром отмечен твердый сыр «Гранд Премьер» от «Группы компаний Молоко групп» из Калужской области. Рейтинг лучших плавленых сыров на 2021 г. в России представлен на рисунках 4 и 5 [11].

Москва и Московская область являются одними из лидеров среди регионов по ежегодному потреблению сыров и сырных продуктов (рис. 6).

В целях укрепления здоровья детского и взрослого населения, профилактики заболеваний и состояний, обусловленных недостатком микронутриентов, министерством здравоохранения РФ в 2016 г. утверждены рациональные нормы потребления пищевых продуктов, отвечающие современным требованиям здорового питания. Согласно этим рекомендациям норма потребления сыра на человека в год составляет 7 кг. Фактическое потребление сыра на

душу населения в России по итогам 2020 г. составило 5,7 кг. В Москве и Московской области потребление сыров на душу населения по итогам 2020 г. составило 6 кг. В европейских странах потребление сыра в несколько раз превосходит российское значение: во Франции – 25,9 кг/чел., в Исландии – 25,2 кг/чел., в Финляндии – 24,7 кг/чел. Низкое потребление сыра в РФ объясняется его высокой стоимостью. В регионе наблюдается рост объемов потребления сыров. Данная тенденция обусловлена несколькими факторами:

- увеличился спрос на ряд категорий доступных сырных продуктов, например, на молодые сыры;
- развитие тренда на здоровое и безопасное питание;
- переориентация спроса потребителей с сырных продуктов на традиционные сыры;
- ужесточение требований законодательства в отношении сыроподобных продуктов. Изменилась

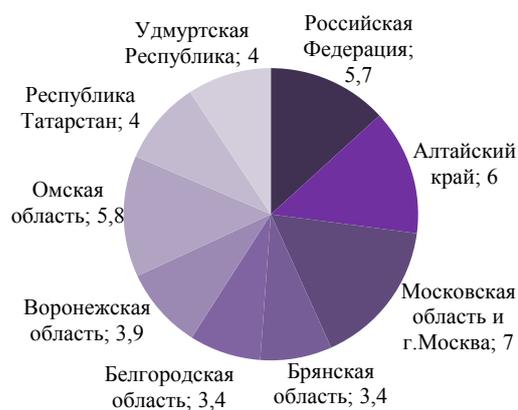


Рисунок 6. Потребление сыров и сырных продуктов на душу населения по регионам-лидерам РФ за 2020 год, кг

Figure 6. Consumption of cheeses and cheese products per capita in the leading regions of the Russian Federation in 2020, kg

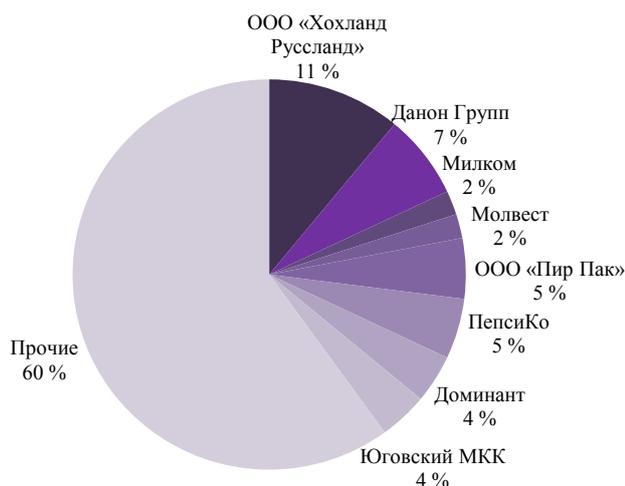


Рисунок 7. Крупнейшие производители сыров и сырных продуктов в Московской области и Москве по итогам 2020 г.

Figure 7. The largest producers of cheeses and cheese products in the Moscow region and Moscow by the end of 2020

маркировка продукции, а также ограничен импорт этих продуктов из третьих стран, прежде всего из Украины.

Крупнейшие производители сыров и сырных продуктов в Московской области и Москве по итогам 2020 г. представлены на рисунке 7.

Согласно данным ООО «Streda Consulting» около 80 % объемов производства твердых сыров обеспечивают 15 производителей. На рынке плавленых сыров три четверти рынка приходится на 5 компаний, а 10 крупнейших игроков в категории молодых сыров занимают 55 % рынка.

Крупнейшие компании по выручке и объемам производства являются АО «Вимм-Билль-Данн», ООО «Данон Индустрия», ООО «Хохланд Руссланд», ГК «Фудлэнд», ООО «Лакталис Истра» и ООО «Валио». На долю данных производителей приходится свыше 60 % отраслевой выручки в регионе. ООО «Русагро» произвела около 2 % российского сыра.

На рынок сыров и сырной продукции постоянно входят новые производители продукции, такие как АО «Агрокомплекс» имени Н. И. Ткачева, ГК «ЭкоНива». Перспективы по производству твердых сыров имеют компании, активно работающие в сегменте плавленых и молодых сыров: ПАО «Карат», ООО ТД «Сыробогатов» и ООО «Hochland».

Действующие на рынке компании одновременно вводят новые проекты, которые способствуют усилению их позиции. Например, в сегменте твердых сыров DMK Group анонсировала строительство второго завода, мощность которого составляет 14 тыс. тонн в год. На рынке мягких сыров крупные проекты реализуют такие компании, как НАО «Умалат», ООО «Hochland», ПАО «Карат», ООО «Экомилк» и «Savencia F&D». Кроме того, в различные категории продолжают инвестировать и другие крупные компании, в том числе ГК «Фудлэнд», ГК «Доминант», ООО «Молвест», ООО «Нева-Милк».

В Московской области, благодаря созданию сырного кластера «Сырная долина» на базе ООО «Озерецкий молочный комбинат» мощностью 20 тыс. тонн продукции в год, планируется по итогам 2021 г. вывести регион в лидеры по производству сыров в Российской Федерации.

Общий объем производства молочной продукции в Московском регионе составляет 1,2 млн тонн в год, свыше 55 % приходится на кисломолочную продукцию. Московская область является лидером по производству цельномолочной продукции. По производству кисломолочной продукции (без учета творога), творога и творожных продуктов регион занимает первое место в Российской Федерации.

В Московской области в 2020 г. общий объем финансовых вложений в отрасль «Производство сыра и сырных продуктов» составил более 25 млрд руб. Эффективной мерой поддержки малых предприятий, занимающихся молочным животноводством, является грантовая поддержка производителей сыра. Гранты на поддержку сыроваров предоставляются только в Московской области и только за счет регионального бюджета. За период с 2017–2020 гг. общий объем поддержки составил 300 млн руб.

Таблица 4. Производство молочной продукции в Москве и Московской области, тонн

Table 4. Production of dairy products in Moscow and the Moscow region, tons

Товарные категории	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.
Цельномолочная продукция	836648	913900	1008650	961610	980000
Кисломолочные продукты	686500	632800	–	–	–
Молоко (КРС)	657000	676400	684000	694000	700000
Сливки	28400	30100	–	–	–
Масло сливочное	760	1500	2630	2400	2400

Выводы

Рынок сыра является перспективным как с позиции внутреннего потребления, так и с позиции их экспорта, особенно в парном сегменте «сыр и сыворотка». Тренд, направленный на укрупнение производства сыров и консолидацию рынка, будет актуален в ближайшие два года.

Основными проблемами производства сыров и сырных продуктов как в России, так и на региональном уровне являются:

- постоянное снижение сырьевого обеспечения сыродельных предприятий, ухудшение качества молока-сырья. Поэтому для насыщения рынка сыров необходимо значительное увеличение его производства;
- низкая конкурентоспособность сыров и сырной продукции по себестоимости и качеству;
- импортозависимость по бактериальным закваскам;
- недостаточный технологический уровень производств;
- слабая техническая оснащенность сыродельных предприятий;
- рост производства «сырных продуктов» как результат смещения основного потребления в самый низкий ценовой сегмент;
- сложности с привлечением инвестиций в сыродельную индустрию вследствие длительных сроков окупаемости проектов и дефицита сырья. Для насыщения рынка сыров необходимо значительное увеличение производства молока-сырья;
- усиление конкуренции с импортерами, в частности с белорусскими компаниями;
- рост цен на сыродельную продукцию вследствие удорожания молока-сырья;
- низкий уровень брендованности сырной продукции;
- сезонность производства молока;
- низкая производительность труда;
- недостаток квалифицированных кадров;
- появление фальсифицированной сырной продукции.

Проанализировав имеющиеся проблемы на рынке сыров и сырной продукции, целесообразно отметить следующие направления его развития:

1. Упорядочение ассортимента сыров и совершенствование их видовой структуры позволит обеспечить высокую рентабельность производства сыродельным предприятиям [12];

2. Совершенствование технологий и объемов производства мягких сыров, способствующее увеличению рентабельности производства. Производство мягких сыров сокращает расходы на сырье;

3. Внедрение в производственный процесс молокоперерабатывающих предприятий ресурсосберегающих технологий производства полутвердых и твердых сыров;

4. Разработка учеными-практиками конкурентоспособных технологий плавящихся сыров;

5. Организация производства комбинированных сыров в деятельности сыродельных предприятий;

6. Организация на молокоперерабатывающих предприятиях массовой переработки подсырной сыворотки в целях повышения рентабельности производства. Комплексное использование всех составных частей молока для производства сыра (сыворотки, пахты);

7. Разработка технологий и развитие производства сыров с лечебно-профилактическими свойствами, особенно в области детского питания;

8. Применение инновационных мембранных методов при производстве мягких сыров, позволяющих увеличить выпуск продукта из единицы сырья на основе использования всего белкового состава молока [13];

9. Улучшение качественных показателей сыров;

10. повышение доли на рынке твердых и мягких сыров и сокращение доли плавящихся сыров;

11. Усиление неценовой конкуренции на рынке;

12. Повышение доли фасованной продукции и снижение доли развесной;

13. Повышение роли влияния вузовской и отраслевой науки на развитие сыродельной промышленности;

14. Включение в ассортиментную линейку сыров функционального назначения. Ассортимент таких сыров является в настоящий момент самым устойчивым трендом в мире.

Создание и развитие сырного кластера в Московской области направлено на поддержку производства молока, а также предусматривает предоставление субсидий сельскохозяйственными товаропроизводителям и организациям агропромышленного комплекса на 1 кг реализованного и отгруженного на собственную переработку коровьего и козьего молока, отвечающего установленным требованиям по безопасности к сырному молоку. Развитие сырного кластера позволит создать благоприятные инвестиционные условия для производителей сыров, увеличить долю экспорта молочной продукции Московской области в общем валовом объеме экспорта Российской Федерации, а также обеспечит достижение показателя мощности по переработке молока при производстве сыра – 70 тыс. тонн. Расширение мощностей и разработка новых сортов сыров позволяет позиционировать отечественных производителей как перспективных и конкурентоспособных представителей своей отрасли.

Критерии авторства

С. Н. Чеботарев руководил проектом и участвовал в написании аннотации, результатов исследования и выводов. Ж. Н. Диброва участвовала в написании введения, объектов и методов исследования, результатов исследования и выводов. Н. М. Сурай

участвовала в написании введения, результатов исследования, аннотации и выводов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

S.N. Chebotarev supervised the project and

wrote the abstract, research results, and conclusions. Zh.N. Dibrova wrote the introduction, study objects and methods, research results, and conclusions. N.M. Suray wrote the introduction, research results, abstract, and conclusion.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. Мамчур В. А. Рынок сыра как составляющий институт продовольственной безопасности // *Аэкономика: экономика и сельское хозяйство*. 2017. Т. 18. № 6.
2. Рынок сыра является перспективным с точки зрения потребления и экспорта. URL: https://milknews.ru/interviu-i-blogi/artiom-belov-syr.html?utm_source=uxnews&utm_medium=desktop (дата обращения: 01.05.2021).
3. Молочная отрасль является ведущей в агропромышленном комплексе Подмосковья – Минсельхоз региона. URL: <https://360tv.ru/news/obschestvo/molochnaja-otrasl-javljaetsja-veduschej-v-agropromyshlennom-komplekse-podmoskovja-minselhoz-regiona/> (дата обращения: 01.05.2021).
4. Развитие молочной отрасли в Московском регионе. URL: <https://fira.ru/issledovaniya/razvitie-molochnoj-otrasli-v-moskovskom-regione/> (дата обращения: 01.05.2021).
5. Современное состояние и перспективы развития рынка молока и молочной продукции в Московской области / Н. М. Сурай [и др.] // *Вопросы экономики и права*. 2018. № 122. С. 74–81.
6. Исачиков Д. А., Ижмулкина Е. А. Анализ потребительского рынка сыров в России и Кемеровской области // *Современные проблемы и перспективы агропромышленного комплекса Сибири: Материалы XVI региональной научно-студенческой конференции аграрных вузов СФО. Кемерово, 2017*. С. 371–376.
7. Barukcic I., Jakopovic K. L., Bozanic R. Valorisation of whey and buttermilk for production of functional beverages – An overview of current possibilities // *Food Technology and Biotechnology*. 2019. Vol. 57. № 4. P. 448–460. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.04.19.6460>.
8. Exploring country-of-origin perceptions and ethnocentrism: The case of U.S. dairy marketing in China / X. Xu [et al.] // *Journal of Food Products Marketing*. 2020. Vol. 26. № 2. P. 79–102. <https://doi.org/10.1080/10454446.2020.1722778>.
9. Rude J., Goddard E. Canadian dairy regulations as a driver of foreign direct investment: the case of Saputo // *International Food and Agribusiness Management Review*. 2021. Vol. 24. № 3. P. 421–437. <https://doi.org/10.22434/IFAMR2020.0116>.
10. Регионы России. Основные характеристики субъектов Российской Федерации. 2020: Статистический сборник. М.: Росстат, 2020. 766 с.
11. Characterization of dairy innovations in selected milksheds in Kenya using a categorical principal component analysis / E. Wairimu [et al.] // *Tropical Animal Health and Production*. 2021. Vol. 53. № 2. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02596-4>.
12. Hayer S. S., Staduto J. A. R., Darr D. Vertical coordination in the Brazilian milk supply chain: The case of 3B Agro LTDA // *International Food and Agribusiness Management Review*. 2019. Vol. 22. № 3. P. 435–449. <https://doi.org/10.22434/IFAMR2018.0080>.
13. Мордвинова В. А., Свириденко Ю. Я. Актуальные направления развития современного сыроделия (по материалам юбилейной конференции ВНИИМС) // *Переработка молока*. 2019. Т. 242. № 12. С. 6–9. <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2019-12-6-8>.
14. Российский статистический ежегодник. 2020: Статистический сборник. М.: Росстат, 2020. 700 с.
15. Сценарии развития молочной промышленности России / А. А. Кузин [и др.] // *Экономические и социальные перемены: факты, тенденции, прогноз*. 2018. Т. 11. № 6. С. 73–88. <https://doi.org/10.15838/esc.2018.6.60.5>.
16. Тихомиров И. А., Андрияшина О. Л., Скоркин А. В. Ресурсосберегающие технологии производства высококачественного молока // *Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства*. 2017. Т. 28. № 4. С. 92–98.
17. Бородин К. Г. Модель рынка дифференцированной продукции для формирования прогнозов его развития (на примере рынка сыра) // *Экономика и математические методы*. 2020. Т. 56. № 3. С. 68–78. <https://doi.org/10.31857/S042473880010497-5>.
18. Camilleri M. A. Pricing and revenue management // *Travel marketing, tourism economics and the airline product* / M. A. Camilleri editor. Cham: Springer, 2018. P. 155–163. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49849-2_9.
19. Козлова Л. В. Рынок сыра в Китае // *Сыроделие и маслоделие*. 2016. № 3. С. 10–11.
20. Nguyen V. B., Nguyen A. T. The role of selected marketing mix elements in consumer based brand equity creation:

milk industry in Vietnam // *Journal of Food Products Marketing*. 2021. Vol. 27. № 2. P. 72–88. <https://doi.org/10.1080/1045446.2021.1892007>.

References

1. Mamchur VA. The cheese market as a composing institute of food security. *Aekonomika: economics and agriculture*. 2017;18(6). (In Russ.).
2. Rynok syra yavlyaetsya perspektivnym s tochki zreniya potrebleniya i ehksporta [The cheese market is promising in terms of consumption and export] [Internet]. [cited 2021 May 01]. Available from: https://milknews.ru/interviu-i-blogi/artiom-belov-syr.html?utm_source=yxnews&utm_medium=desktop.
3. Molochnaya otrasl' yavlyaetsya vedushchey v agropromyshlennom komplekse Podmoskov'ya – Minsel'khoz regiona [The dairy industry is the leading one in the agro-industrial complex of the Moscow region, according to the local Department of Agriculture] [Internet]. [cited 2021 May 01]. Available from: <https://360tv.ru/news/obschestvo/molochnaya-otrasl-javljaetsja-veduschej-v-agropromyshlennom-komplekse-podmoskovja-minselhoz-regiona>.
4. Razvitiye molochnoy otrasli v Moskovskom regione [Development of the dairy industry in the Moscow region] [Internet]. [cited 2021 May 01]. Available from: <https://fira.ru/issledovaniya/razvitiye-molochnoj-otrasli-v-moskovskom-regione/>.
5. Surai NM, Bobkov AN, Zhukova NV, Abramov YuV, Fedorov BK. Current state and development prospects of market of milk and dairy products in Moscow region. *Economic and Law Issues*. 2018;(122):74–81. (In Russ.).
6. Isaychikov DA, Izhmulkina EA. Analiz potrebitel'skogo rynka syrov v Rossii i Kemerovskoy oblasti [An analysis of the consumer market for cheeses in Russia and the Kemerovo region]. *Sovremennye problemy i perspektivy agropromyshlennogo kompleksa Sibiri: Materialy XVI regional'noy nauchno-studencheskoy konferentsii agrarnykh vuzov SFO* [Modern problems and prospects of the agro-industrial complex of Siberia: Proceedings of the XVI regional scientific-student conference of agricultural universities of the Siberian Federal District]; 2017; Kemerovo. Kemerovo: Kemerovo State Agricultural Institute; 2017. p. 371–376. (In Russ.).
7. Barukcic I, Jakopovic KL, Bozanic R. Valorisation of whey and buttermilk for production of functional beverages – An overview of current possibilities. *Food Technology and Biotechnology*. 2019;57(4):448–460. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.04.19.6460>.
8. Xu X, Comello MLG, Lee S, Clancy R. Exploring country-of-origin perceptions and ethnocentrism: The case of U.S. dairy marketing in China. *Journal of Food Products Marketing*. 2020;26(2):79–102. <https://doi.org/10.1080/10454446.2020.1722778>.
9. Rude J, Goddard E. Canadian dairy regulations as a driver of foreign direct investment: the case of Saputo. *International Food and Agribusiness Management Review*. 2021;24(3):421–437. <https://doi.org/10.22434/IFAMR2020.0116>.
10. Regiony Rossii. Osnovnye kharakteristiki sub'ektov Rossiyskoy Federatsii. 2020: statisticheskiy sbornik [Regions of Russia. The main characteristics of the constituent entities of the Russian Federation. 2020: Statistics]. Moscow: Rosstat; 2020. 766 p. (In Russ.).
11. Wairimu E, Mburu J, Gachui CK, Ndambi A. Characterization of dairy innovations in selected milksheds in Kenya using a categorical principal component analysis. *Tropical Animal Health and Production*. 2021;53(2). <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02596-4>.
12. Hayer SS, Staduto JAR, Darr D. Vertical coordination in the Brazilian milk supply chain: The case of 3B Agro LTDA. *International Food and Agribusiness Management Review*. 2019;22(3):435–449. <https://doi.org/10.22434/IFAMR2018.0080>.
13. Mordvinova VA, Sviridenko YuYa. Aktual'nye napravleniya razvitiya sovremennogo syrodeliya (po materialam yubileynoy konferentsii VNIIMS) [Actual directions of development of modern cheese industry (based on the materials of the anniversary conference of the All-Russian Research Institute of Metrological Service)]. *Milk Processing*. 2019;242(12):6–9. (In Russ.). <https://doi.org/10.33465/2222-5455-2019-12-6-8>.
14. Russian statistical yearbook. 2020: Statistical handbook. Moscow: Rosstat; 2020. 700 p. (In Russ.).
15. Kuzin AA, Medvedeva NA, Zadumkin KA, Vakhrusheva VV. Development scenarios for Russia's dairy industry. *Economic and Social Changes: Facts, Trends, Forecast*. 2018;11(6):73–88. (In Russ.). <https://doi.org/10.15838/esc.2018.6.60.5>.
16. Tihomirov IA, Andruhina OL, Skorkin AV. The resource-saving technologies of high quality milk production. *Journal of VNIIMZH*. 2017;28(4):92–98. (In Russ.).
17. Borodin KG. The model of differentiated products market for its development forecasting (on the example of the cheese market). *Economics and Mathematical Methods*. 2020;56(3):68–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S042473880010497-5>.
18. Camilleri MA. Pricing and revenue management. In: Camilleri MA, editor. *Travel marketing, tourism economics and the airline product*. Cham: Springer; 2018. pp. 155–163. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49849-2_9.
19. Kozlova LV. Cheese market in China. *Cheesemaking and buttermaking*. 2016;(3):10–11. (In Russ.).
20. Nguyen VB, Nguyen AT. The role of selected marketing mix elements in consumer based brand equity creation: milk industry in Vietnam. *Journal of Food Products Marketing*. 2021;27(2):72–88. <https://doi.org/10.1080/10454446.2021.1892007>.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432>
Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* as a source of geroprotectors

Lyubov S. Dyshlyuk^{ORCID}, Anastasiya M. Fedorova*^{ORCID},
Anna I. Loseva^{ORCID}, Natalya I. Ereemeeva

Kemerovo State University^{ORCID}, Kemerovo, Russia

Received: March 15, 2021

Accepted: May 15, 2021



*e-mail: anastasija.fedorova-af2014@yandex.ru

© L.S. Dyshlyuk, A.M. Fedorova, A.I. Loseva, N.I. Ereemeeva, 2021

Abstract.

Introduction. Geroprotectors are biologically active substances that inhibit the aging process. Many plant species are natural geroprotectors. For instance, *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* are callus cultures with strong geroprotective properties.

Study objects and methods. The present research featured *T. vulgaris* and *T. pratense* grown *in vitro* on various nutrient media. Their extracts were obtained by aqueous-alcoholic extraction using the following parameters: water-ethanol solvent $S_e = 30, 50, \text{ and } 70 \%$; temperature $T_e = 30, 50, \text{ and } 70^\circ\text{C}$; time $\tau_e = 2, 4, \text{ and } 6 \text{ h}$. The quantitative and qualitative analysis was based on high-performance liquid mass spectrometry, gas mass spectrometry, and thin-layer chromatography.

Results and discussion. The optimal extraction parameters for *T. vulgaris* were $\tau_e = 4 \text{ h}$, $T_e = 50^\circ\text{C}$, $S_e = 70 \%$, for *T. pratense* – $\tau_e = 6 \text{ h}$, $T_e = 70^\circ\text{C}$, $S_e = 70 \%$. The chromatography detected flavonoids, phenylpropanoids, simple phenols, higher fatty acids, mono- and sesquiterpenes, and aliphatic hydrocarbons. *T. vulgaris* appeared to have the highest content of thymol ($23.580 \pm 1.170 \text{ mg/mL}$); its thymol, apigenin, gallic, chlorogenic, and caffeic components demonstrated geroprotective properties. The extract of *T. pratense* possessed the highest rutin content ($10.05 \pm 0.35 \text{ mg/mL}$), and it owed its geroprotective characteristics to rutin, chlorogenic and *p*-coumaric acids.

Conclusion. The callus cultures of *T. vulgaris* and *T. pratense* proved to be promising sources of geroprotective biologically active substances.

Keywords. Extraction, geroprotectors, *Thymus vulgaris*, *Trifolium pratense*, biologically active substances

Funding. The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka) ^{ORCID}, project No. FZSR-2020-0006, “Screening of biologically active substances of plant origin with geroprotective properties and development of technology for producing nutraceuticals that inhibit aging”.

For citation: Dyshlyuk LS, Fedorova AM, Loseva AI, Ereemeeva NI. Callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* as a source of geroprotectors. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(2):423–432. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432>.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432>
УДК 615.322(616-003.725+615.281.9)

Оригинальная статья
<http://fptt.ru>

Каллусные культуры *Thymus vulgaris* и *Trifolium pratense* – перспективные источники активных веществ геропротекторного действия

Л. С. Дышлюк^{ORCID}, А. М. Федорова*^{ORCID}, А. И. Лосева^{ORCID}, Н. И. Еремеева

Кемеровский государственный университет^{ORCID}, Кемерово Россия

Дата поступления в редакцию: 15.03.2021

Дата принятия в печать: 15.05.2021



*e-mail: anastasija.fedorova-af2014@yandex.ru

© Л. С. Дышлюк, А. М. Федорова, А. И. Лосева, Н. И. Еремеева, 2021

Аннотация.

Введение. Естественными источниками биологических активных веществ (БАВ) являются различные виды растений, обладающие геропротекторными свойствами, замедляющие процессы старения. *Thymus vulgaris* и *Trifolium pratense* обладают высоким содержанием БАВ. Данная работа посвящена исследованию экстрактов каллусных культур *T. vulgaris* и *T. pratense* на наличие веществ геропротекторной направленности.

Объекты и методы исследования. Для получения экстрактов использовались каллусные культуры *T. vulgaris* и *T. pratense*, выращенные в условиях *in vitro* на питательных средах различного состава. Для извлечения веществ выбран метод жидкостной водно-спиртовой экстракции. В качестве растворителя использовалась водно-этанольная смесь ($C_3 = 30, 50, 70 \%$). Также варьировали следующие параметры экстракции: температуру $T_3 = 30, 50, 70 \text{ }^\circ\text{C}$, время $\tau_3 = 2, 4, 6 \text{ ч}$. Количественный и качественный анализ экстрактов каллусных культур *T. vulgaris* и *T. pratense* исследовали с применением высокоэффективной жидкостной, газовой с масс-спектрометрией и тонкослойной хроматографии.

Результаты и их обсуждение. Для получения экстрактов каллусных культур рекомендованы следующие рабочие параметры: для *T. vulgaris* – $\tau_3 = 4 \text{ ч}$, $T_3 = 50 \text{ }^\circ\text{C}$, $C_3 = 70 \%$, для *T. pratense* – $\tau_3 = 6 \text{ ч}$, $T_3 = 70 \text{ }^\circ\text{C}$, $C_3 = 70 \%$. По результатам хроматографического исследования экстрактов установлено наличие флавоноидов, фенилпропаноидов, простых фенолов, высших жирных кислот, моно- и сескитерпенов и алифатических углеводов. В *T. vulgaris* наибольшее содержание тимола ($23,580 \pm 1,170 \text{ мг/мл}$), а в *T. pratense* наибольшее содержание рутина ($10,05 \pm 0,35 \text{ мг/мл}$). Из найденных веществ в экстракте *T. vulgaris* геропротекторной активностью обладают тимол, апигенин, галловая, хлорогеновая и кофейная кислоты; а в *T. pratens* рутин, хлорогеновая и *n*-кумаровая кислоты.

Выводы. Каллусные культуры *T. vulgaris* и *T. pratense* являются источниками БАВ геропротекторной направленности.

Ключевые слова. Экстракция, геропротекторы, *Thymus vulgari*, *Trifolium pratense*, биологические активные вещества

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)^{RFBR} (проект FZSR-2020-0006 «Скрининг биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих геропротекторными свойствами, и разработка технологии получениянутрицевтиков, замедляющих старение»).

Для цитирования: Каллусные культуры *Thymus vulgaris* и *Trifolium pratense* – перспективные источники активных веществ геропротекторного действия / Л. С. Дышлюк [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 2. С. 423–432. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-423-432>.

Introduction

Environment directly affects human health [1]. Urban environment is a reliable source of various noxious factors [2, 3]. One's health status depends on how well the body has adapted to the environment, while one's functional capabilities are based on the physiological profile, age, and character [4]. Any disease comes from this or that violation of adaptive mechanisms, i.e. when the body fails to resist unfavorable environmental conditions, e.g. air pollution, water contamination, vibration, radiation, noise, electromagnetic, etc. [5–7].

Plant materials can resolve various health issues and inhibit early aging [8]. Plant extracts are the sources of beneficial biological active compounds that can prevent aging, increase life expectancy, improve physical, mental, emotional, and social state, etc. [9–14].

Biologically active compounds of plant origin can be divided into several chemical groups. Glycosides include cardiac glycosides, cyanogenic glycosides, glucosinolates, saponins, and anthraquinone glycosides. Phenolic compounds involve phenolic and hydroxycinnamic acids, stilbenes, flavonoids, and anthocyanins. Tannins are divided into condensed tannins, e.g. large polymers of flavonoids, and hydrolysable tannins, which consist of a monosaccharide nucleus with several catechin derivatives attached. The list of biologically active

compounds also includes mono-, di- and sesquiterpenoids, phenylpropanoids, lignans, resins, alkaloids, furocoumarins and naphthodianthrons, proteins, and peptides [15, 16].

Secondary plant metabolites are potential geroprotectors. Their list includes flavonoids, polyphenols, glycosides, tannins, and vitamins. Other compounds that are believed to possess geroprotective properties are rutin, ononin, genistein, rapamycin, carvacrol, resveratrol, apigenin, metformin, terpenene, thymol, gallic acid, isoquercetin, oleanolic acid, *p*-coumaric acid, and various senolytics. Experiments on mice confirmed that these compounds improve cognitive, neuromuscular, metabolic, and immune systems, inhibit cataracts, sarcopenia, osteoarthritis, osteoporosis, atherosclerosis, Alzheimer's disease, and various age-related tissue dysfunctions [17].

Extraction is the main technological process that produces biologically active compounds from plant raw materials [18]. Extraction process includes three main stages: (1) interaction of plant material with the extractant, (2) destruction of plant cell components, and (3) transfer of solutes to the extractant [19, 20].

Extractants have to be able to penetrate cell walls and selectively dissolve biologically active compounds inside the cell. Therefore, a good extractant has to meet certain requirements, e.g. maximum solubility of active substances; selectivity; high penetrating power;

safety for the human body; volatility, and a low boiling point [21].

All extraction solvents are divided according to polarity. Polar extractants include water, glycerin, etc. They dissolve salts, alkaloids, glycosides, saponins, traglycosides, furocoumarins, organic acids, etc. Aqueous-alcoholic solutions have similar properties. Low-polarity extractants include ethanol, isopropyl, and butyl. They extract salts, alkaloids, flavones, carotenoids, essential oils, pigments, chlorophyll, glycosides, etc. Non-polar extractants include chloroform, hexane, benzene, etc. They extract flavones, essential oils, alkaloids, saponins, waxes, fats, etc. Ethanol and water are the most common solvents [22, 23]. As a rule, extraction and isolation of biologically active substances from natural sources follow a well-established procedure: exhaustive extraction (maceration, steam or hydrodistillation, pressing, decoction, infusion, percolation, and Soxhlet extraction); additional chemical processing to isolate the target compounds [13].

Plants are known to synthesize and accumulate secondary metabolites of various phytochemical groups [24, 25]. Callus, suspension, and root cultures are induced for analytical and quantitative comparative analyses of the secondary synthesis of metabolites between plant material and callus, suspension, and root extracts [22, 23].

Among all the medicinal wild plants of the Siberian Federal District, *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* contain the most impressive amount of geroprotective biologically active substances, including such antioxidants as flavonoids, coumarins, etc. [26].

T. vulgaris has antiseptic, antimicrobial, and antioxidant properties [27]. Its extracts are used to treat dyspepsia and gastrointestinal disorders, cough, whooping cough, bronchitis, laryngitis, and tonsillitis, since it contains benzyl alcohol, rutin, apigenin, thymol, gallic acid, luteolin, etc. [28, 29]. *T. vulgaris* owes its high antimicrobial and antifungal activity to such phenolic compounds as thymol and carvacrol [26]. The yield of essential oil ranges from 0.3 to 6.3% [30]. The content of thymol in the essential oil can reach 60%, which is significantly higher than the content of carvacrol (up to 6%) [31]. The antiseptic effect of thymol is 30 times higher than that of phenol, while its toxic effect is 4 times lower [32]. Phenolic compounds of *T. vulgaris* can form oxygen free radicals [33].

T. pratense is used as animal feed. This melliferous plant is very popular in agriculture [34]. As a result, its biologically active substances have become focus of constant scientific attention. *T. pratense* contains some flavonoids, isoflavonoids, and phenolic compounds, e.g. quercetin, rutin, genistein, formononetin, etc. [32]. This plant is used as an antioxidant, antimicrobial and diuretic medicine, as well as a remedy against coronary and nephric edema [34–36].

The research objective was to perform a quantitative and qualitative analysis of callus extracts of *T. vulgaris* and *T. pratense* to evaluate their geroprotective prospects.

Study objects and methods

The research featured callus cultures obtained from seeds of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense* grown *in vitro*. The seeds were washed in soapy water for 30 min and then washed in bidistilled water three times for 20 min. After that, they were treated with 70% ethanol for 1 min and washed three times in bidistilled water for 20 min. Finally, the seeds were washed with 5% sodium hypochlorite solution for 50 min and washed three times in bidistilled water for 20 min [37]. After sterilization, the seeds were planted on agar media. Table 1 shows the composition of the nutrient media.

The first seedlings of *T. pratense* appeared on week 1–2, and those of *T. vulgaris* – on week 4–5. The experiment featured sterile seedlings that were 2–5 weeks old. The explants were cut into pieces and planted in agar media. The first calli appeared during 14 days of cultivation. Further callus formation involved Murashige-Skoog (MS), Gamborg (B5), and Schenck Hildebrandt (SH) mineral bases with casein hydrolyzate (0.5 g/L), inositol (0.1 g/L), 3% sucrose or glucose, and 2% agar. The media varied in the composition of growth regulators, which included indoleacetic acid, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, kinetin, and 6-benzylaminopurine (Table 2). The explants were incubated for 25 days.

The primary callus was separated from the remains of the explants and transferred to a fresh nutrient medium to grow for 4–5 weeks.

The callus cultures were extracted by the standard method of liquid aqueous-alcoholic extraction using ethanol (State Standard 5962-2013. Rectified ethyl

Table 1. Nutrient media for seedlings of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense*

Components	Per 1 l of distilled water	
	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Trifolium pratense</i>
B5 macrosalts (20×)*, mL	50.00	50.00
B5 microsals (20×)*, mL	10.00	10.00
Fe-EDTA, mL	5.00	5.00
Sucrose, g	30.00	30.00
Nicotinic acid, mg	1.00	0.50
Pyridoxine, mg	1.00	0.10
Thiamine, mg	10.00	0.10
Inositol, mg	100.00	100.00
6-benzylaminopurine, mg	–	1.00
Activated carbon, g	–	20.00
Agar, g	20.00	20.00
pH	5.4–6.0	5.4–6.0

* see T.A. Murashige [38].

Table 2. Mineral and hormone composition of the culture medium for the cultivation of callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense*

Components	Per 1 mL of distilled water					
	<i>Thymus vulgaris</i>			<i>Trifolium pratense</i>		
	Medium 1	Medium 2	Medium 3	Medium 1	Medium 2	Medium 3
MS macrosalt (20×)**, mL	50.00	50.00	50.00	50.0	50.00	50.00
MS macrosalt (20×)**, mL	1.00	1.00	1.00	10.0	10.00	10.00
Fe-EDTA, mL	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Thiamine, mg	0.10	0.10	0.10	10.00	10.00	10.00
Pyridoxine, mg	0.50	0.50	0.50	1.00	1.00	1.00
Nicotinic acid, mg	0.50	0.50	0.50	1.00	1.00	1.00
Sucrose, g	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
Casein hydrolyzate, mg	500.00	500.00	500.00	–	–	–
Inositol, mg	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Kinetin, mg	–	2.00	1.00	–	1.00	2.00
6-benzylaminopurine, mg	–	0.50	–	0.05	–	0.10
Indoleacetic acid, mg	–	–	2.00	1.00	–	2.00
Peoxyethanolic acid, mg	–	3.00	–	–	–	–
2,4-dichlorophenoxyacetic acid, mg	–	–	–	–	1.00	2.00
Agar, g	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
pH	5.4–6.0	5.4–6.0	5.4–6.0	5.4–6.0	5.4–6.0	5.4–6.0

** see O.L. Gamborg [39].

alcohol from edible raw material. Specifications) and distilled water (State Standard 6709-72. Distilled water. Specifications) as solvent [41]. The water was purified in a BS brand bidistiller (Labinvest, Russia).

The extraction parameters were as follows: extraction temperature – 30, 50, and 70°C; time – 2, 4, and 6 h, ethanol concentration – 30, 50, and 70%.

The callus cultures of *T. vulgaris* and *T. pratense* were dried and ground in an LZM-1M rotary mill (Olis, Russia). The extraction samples weighed 3.000 ± 0.001 g.

The volume of ethanol was 260 mL. The extraction was carried out in a water bath (Elmasonic S60H, Germany) with an ascending refrigerator at a given temperature, time, and ethanol concentration. The obtained extracts *T. vulgaris* and *T. pratense* were stored at room temperature in the dark.

The antioxidant activity of the extracts was determined to define the total biologically active substances. It was expressed as the content of the sum of biologically active substances of a reducing nature in terms of quercetin

Table 3. Antioxidant activity of *Thymus vulgaris* callus extracts

Temperature, °C	Volume fraction of ethanol, %		
	30	50	70
	Extraction time, 2 h		
30	0.2080 ± 0.0020	0.1250 ± 0.0012	0.1640 ± 0.0029
50	0.2250 ± 0.0023	0.1920 ± 0.0017	0.2240 ± 0.0030
70	0.1980 ± 0.0011	0.2180 ± 0.0030	0.2270 ± 0.0033
Extraction time, 4 h			
30	0.1576 ± 0.0016	0.2182 ± 0.0022	0.2048 ± 0.0036
50	0.1940 ± 0.0026	0.2134 ± 0.0030	0.2956 ± 0.0047
70	0.2687 ± 0.0031	0.2430 ± 0.0050	0.2873 ± 0.0050
Extraction time, 6 h			
30	0.2253 ± 0.0055	0.1939 ± 0.0030	0.2831 ± 0.0060
50	0.1811 ± 0.0046	0.2584 ± 0.0036	0.2752 ± 0.0049
70	0.1711 ± 0.0013	0.2388 ± 0.0050	0.2643 ± 0.0030

Table 4. Antioxidant activity of *Trifolium pratense* callus extracts

Temperature, °C	Volume fraction of ethanol, %		
	30	50	70
	Extraction time, 2 h		
30	0.1906 ± 0.0014	0.1464 ± 0.0010	0.1630 ± 0.0018
50	0.2122 ± 0.0030	0.2143 ± 0.0045	0.1703 ± 0.0040
70	0.1475 ± 0.0010	0.1847 ± 0.0032	0.1942 ± 0.0021
Extraction time, 4 h			
30	0.1741 ± 0.0030	0.1743 ± 0.0027	0.1460 ± 0.0040
50	0.1494 ± 0.0022	0.1852 ± 0.0016	0.1737 ± 0.0045
70	0.1046 ± 0.0010	0.1057 ± 0.0011	0.2392 ± 0.0056
Extraction time, 6 h			
30	0.1621 ± 0.0032	0.1329 ± 0.0010	0.1636 ± 0.0010
50	0.1419 ± 0.0018	0.1637 ± 0.0034	0.1813 ± 0.0021
70	0.1547 ± 0.0010	0.1386 ± 0.0026	0.1918 ± 0.0030

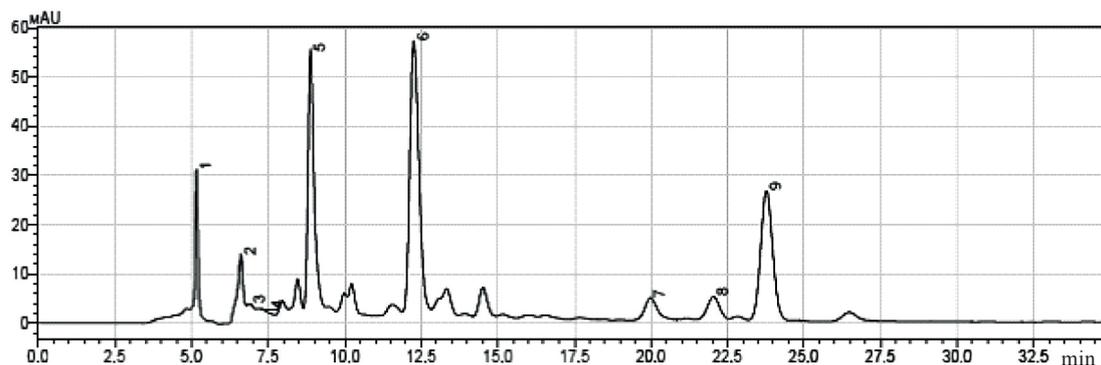


Figure 1. Chromatogram of the aqueous-alcoholic composition of *Thymus vulgaris* callus cultures: 1 – gallic acid; 2 – oleanolic acid; 3 – chloric acid; 4 – ursolic acid; 5 – apigenin-7-glucoside; 6 – caffeic acid; 7 – apigenin; 8 – carvacrol; 9 – thymolic acid

in 1 mL of the extract by the method developed by T.V. Maksimova [43].

The experiment involved a liquid chromatograph (Shimadzu LC-20 Prominence, Japan) with a Shimadzu SPD-20-MA diode array detector and a RID-10A refractometric detector, a chromatographic column Kromasil 5 μm C18, 250 \times 4.6 mm, a Guard Column Security Guard Gartridge (C18) Phenomenex (USA) with injection volume 20 μL . The column temperature was 30 $^{\circ}\text{C}$; the elution mode was isocratic; the mobile phase consisted of AcCN:isopropyl alcohol:H₂O–H₃PO₄ (20:5:75, pH 3.5).

Gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS) and thin layer chromatography (TLC) were carried out at the same time as HPLC [44].

The analysis of biologically active substances involved Sorbfil PTS-AF-A TLC plates. The obtained extract was applied to the start line, dried, and placed in a chromatographic chamber filled with a mix of *n*-butanol, acetic acid, and water at a ratio of 60:15:25. After 10 min, a 25% solution of phosphoric-tungstic acid was added at 95 $^{\circ}\text{C}$. The densitometric analysis of the plate was performed using a Handycam HDR-CX405 densitometer with a Sony photofixation system (OOO IMID, Russia).

The *T. vulgaris* callus extracts underwent a GC-MS using a 30 m column with an inner diameter of 0.25 mm and helium as a carrier gas. The main parameters for GC-MS were as follows: carrier gas flow rate – 1.4 mL/min; interface temperature – 280 $^{\circ}\text{C}$; injector temperature – 240 $^{\circ}\text{C}$; column temperature – 100–270 $^{\circ}\text{C}$; volume of the injected sample – 3 μL . The sample was introduced without dividing the carrier gas flow.

Results and discussion

Nutrient medium 2 proved optimal for the callusogenesis of *Thymus vulgaris*, which included

the following growth hormones: kinetin – 2 mg, 6-benzylaminopurine – 0.5 mg, peoxyethanolic acid – 3 mg. When the callus culture of *Trifolium pratense* was cultivated on nutrient medium 2, which contained 1 mg of kinetin and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, the callus growth was slow. Nutrient medium 3 proved optimal for *T. pratense* callus culture: it contained the following growth hormones: kinetin – 2 mg, 6-benzylaminopurine – 0.1 mg, indoleacetic acid – 2 mg, and 2,4- dichlorophenoxyacetic acid – 2 mg.

Tables 3 and 4 show the total content of biologically active substances in terms of quercetin in 1 mL of the extract under different extraction conditions.

The obtained data demonstrated in Tables 3 and 4 made it possible to recommend the following optimal extraction parameters for *T. vulgaris*: τ_c – 4 h, T_c – 50 $^{\circ}\text{C}$, S_c – 70%; for *T. pratense*: τ_c – 6 h, T_c – 70 $^{\circ}\text{C}$, S_c – 70%.

After establishing the optimal extraction parameters, the next step was to analyze the qualitative and quantitative composition of biologically active substances in aqueous-alcoholic extracts.

Table 5. Component composition of *Thymus vulgaris* callus extract

Peak	Retention time, min	Component	Quantitative content, mg/mL
1	5.162	gallic acid	5.720 \pm 0.320
2	6.610	oleanolic acid	5.290 \pm 0.400
3	6.910	chloric acid	1.920 \pm 0.300
4	7.240	ursolic acid	2.200 \pm 0.200
5	8.860	apigenin-7-glucoside	11.460 \pm 0.760
6	12.240	caffeic acid	18.930 \pm 0.880
7	19.980	apigenin	3.180 \pm 0.320
8	22.045	carvacrol	8.170 \pm 0.490
9	23.930	thymolic acid	23.580 \pm 1.170

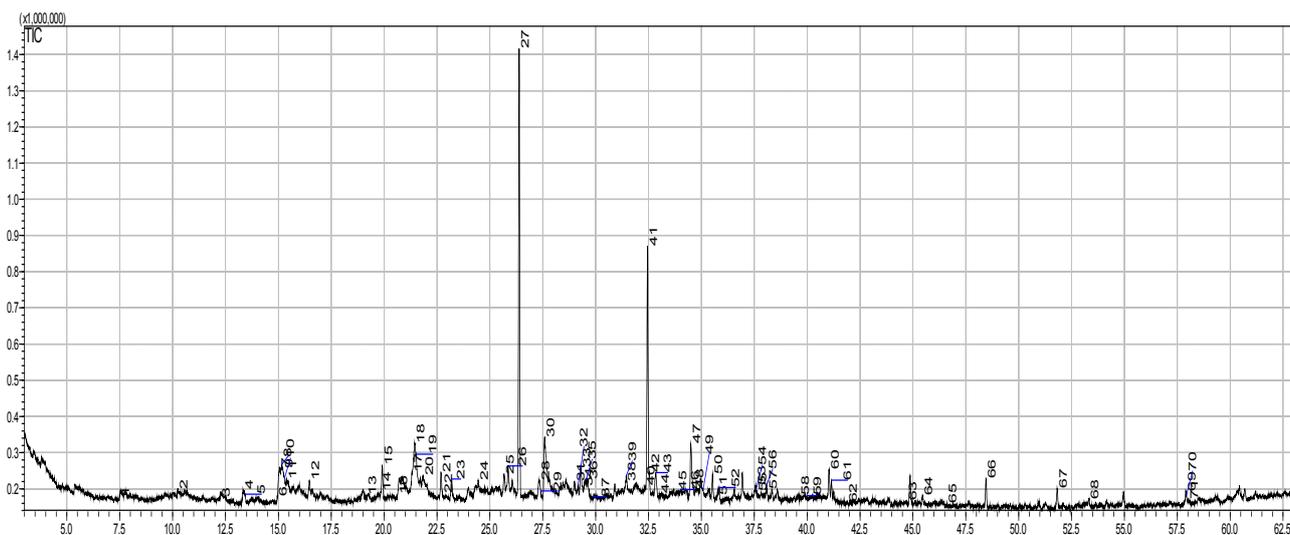
Figure 2. GC-MS chromatogram of *Thymus vulgaris* callus culture fraction

Figure 1 shows the results of HPLC analysis for *T. vulgaris* callus extract, while Table 5 demonstrates the results of the qualitative and quantitative analysis of biologically active substances.

The HPLC analysis (Fig. 1, Table 5) of *T. vulgaris* callus extracts revealed that the samples contained flavonoids, phenylpropanoids, and simple phenols.

Figure 2 illustrates the GC-MS analysis of *T. vulgaris* callus extract and displays other individual biologically active substances.

The GC-MS analysis of the composition of biologically active substances in the aqueous-alcoholic callus extracts of *T. vulgaris* revealed the following composition: mono- and sesquiterpenes – tricyclene, thuyenne, terpene, cubeben, verbenone, verbenol, eucalyptol, linalool, bourbonene, borneol, isborneol, caryophyllene, kadinen, farnesene, cadinol; higher fatty acids – 3-ketopentatriacontanic *n*-heneicosan; aliphatic hydrocarbons – heptadecane,

nonadecane, heneicosan, heptanol, octanol, 1-dodecanol, 3-octanone (Fig. 2).

The extracts of *T. pratense* callus culture underwent HPLC and TLC chromatography. Figure 3 demonstrates the HPLC chromatogram.

The HPLC analysis revealed biologically active substances that belong to phenolcarboxylic acids: *p*-coumaric acid, *p*-coumaroyl-3-quinic acid, and chlorogenic acid; flavones: rutin, isoquercitrin; isoflavones: daidzein, genistein. Table 6 demonstrates the qualitative and quantitative HPLC analysis of the sample.

The content of biologically active substances in *T. pratense* samples changed depending on the extraction method, which was the main peculiarity of this extract. After ultrasonic extraction, the amount of flavanoids was 2.13%, isoflavonoids – 4.42%; after heat maceration, the yield of flavonoids was 1.64%, isoflavonoids – 3.24% [40, 42]. Figure 4 shows the densitogram of the TLC analysis of the *Trifolium pratense* callus extract.

Table 6. Components of *Trifolium pratense* callus extract

Peak	Retention time, min	Component	Quantitative content, mg/mL
1	4.49	rutin	10.05 ± 0.35
2	6.15	chlorogenic acid	7.29 ± 0.42
3	7.25	<i>p</i> -coumaroylquinic acid	23.10 ± 0.74
4	9.03	<i>p</i> -coumaric acid	1.26 ± 0.10
5	9.70	isoquercitrin	1.55 ± 0.08
6	10.30	biochanin A	8.89 ± 0.35
7	13.50	ononin	2.51 ± 0.20
8	13.97	daidzein	1.36 ± 0.07
9	17.20	genistein	9.05 ± 0.13
10	47.01	melilotic acid	3.61 ± 0.19

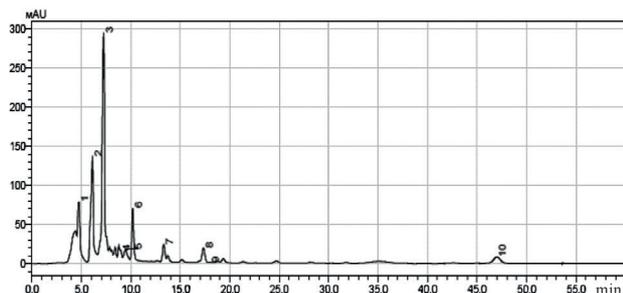


Figure 3. HPLC chromatogram of *Trifolium pratense* callus extract: 1 – rutin; 2 – chlorogenic acid; 3 – *p*-coumaroylquinic acid; 4 – *p*-coumaric acid; 5 – isoquercitrin; 6 – biochanin A; 7 – ononin; 8 – daidzein; 9 – genistein; 10 – melilotic acid

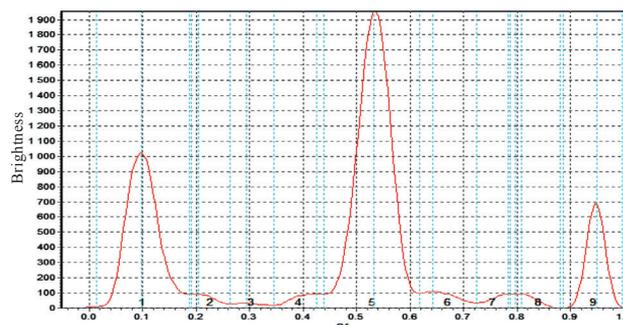


Figure 4. Densitogram of *Trifolium pratense* callus extract under TLC separation on a Sorbfil plate: Rf 0.1 – quercetin-3-O-rutinoside (rutin); Rf 0.53 – chlorogenic acid; Rf 0.95 – isoquercitrin

The TLC analysis showed that the *T. pratense* callus extracts contained such biologically active substances as quercetin-3-O-rutinoside (rutin), chlorogenic acid, and isoquercitrin.

Based on scientific publications and the chromatography performed, the *T. vulgaris* and *T. pratense* callus extracts proved to contain secondary metabolites with geroprotective properties. The callus culture of *T. vulgaris* contained gallic, oleanolic, chlorogenic, and caffeic acids, apigenin, carvacrol, thymol, terpene, verbenone, verbenol, isoborneol, caryophyllene, kadinen, farnesene, and cadinol [45–47]. The callus culture of *T. pratense* contained such geroprotectors as rutin, chlorogenic, and *p*-coumaric acid [48–51].

Conclusion

The present research featured the quantitative and qualitative content of biologically active substances in aqueous-alcoholic extracts of callus cultures of *Thymus vulgaris* and *Trifolium pratense*. The optimal extraction parameters for *T. vulgaris* callus culture were as follows: τ_e – 4 h, T_e – 50°C, S_e – 70%; for *T. pratense*: τ_e – 6 h, T_e – 70°C, S_e – 70%.

The qualitative and quantitative analyses of biologically active substances in the aqueous-alcoholic callus extracts of *T. vulgaris* and *T. pratense* were based on chromatography. The HPLC test revealed gallic, oleanolic, chlorogenic, and ursolic acids, apigenin-7-glucoside, caffeic acid, apigenin, carvacrol, and thymol in the *T. vulgaris* callus

extracts. The selected extraction parameters resulted in a high yield of thymol (23.580 ± 1.170 mg/mL). The GC-MS analysis revealed mono- and sesquiterpene (tricyclene, thujene, terpenene, cubebene, verbenone, verbenol, eucalyptol, linalool, bourbonene, borneol, isoborneol, caryophyllene, kadinene, farnesene, and cadinol), higher fatty 3-ketopentatriacontanic acid, aliphatic hydrocarbons (heptadecane, nonadecane, heneicosan, heptenol, octanol, 1-dodecanol, and 3-octanone).

As for the *T. pratense* callus extracts, the HPLC analysis revealed rutin, chlorogenic acid, *p*-coumaroyl-3-quinic acid, *p*-coumaric acid, isoquercitrin, biochanin A, ononin, daidzein, genistein, and melilotic acid. The selected extraction parameters produced a high yield of rutin (10.05 ± 0.35 mg/mL). According to the TLC chromatography, the *T. pratense* callus extracts contained rutin, chlorogenic acid, and isoquercitrin.

Therefore, the callus cultures of *T. vulgaris* and *T. pratense* proved to be sources of geroprotective biologically active substances.

Contribution

The authors are equally responsible for the information published in this article and any possible cases of plagiarism.

Conflict of interest

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

References

- Wallace DR, Buha A, Powell JJ, Tsatsakis A. Editorial overview: The environment and man: A Study in mechanistic toxicology. *Current Opinion in Toxicology*. 2020;19. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2020.03.007>.
- Vesnina A, Prosekov A, Kozlova O, Atuchin V. Genes and eating preferences, their roles in personalized nutrition. *Genes*. 2020;11(4). <https://doi.org/10.3390/genes11040357>.

3. Dyshlyuk L, Babich O, Prosekov A, Ivanova S, Vasilchenko N, Atuchin V, et al. Antimicrobial potential of ZnO, TiO₂ and SiO₂ nanoparticles in protecting building materials from biodegradation. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2020;146. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104821>.
4. Kumar P, Druckman A, Gallagher J, Gatersleben B, Allison S, Eisenman TS, et al. The nexus between air pollution, green infrastructure and human health. *Environment International*. 2019;133. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105181>.
5. Jacobson TA, Kler JS, Hernke MT, Braun RK, Meyer KC, Funk WE. Direct human health risks of increased atmospheric carbon dioxide. *Nature Sustainability*. 2019;2(8):691–701. <https://doi.org/10.1038/s41893-019-0323-1>.
6. Claßen T, Bunz M. Contribution of natural spaces to human health and wellbeing. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz*. 2018;61(6):720–728. <https://doi.org/10.1007/s00103-018-2744-9>.
7. Asyakina LK, Fotina NV, Izgarysheva NV, Slavyanskiy AA, Neverova OA. Geroprotective potential of in vitro bioactive compounds isolated from yarrow (*Achillea millefolium* L.) cell cultures. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):126–134. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-126-134>.
8. Dmitrieva AI, Belashova OV, Milenteva IS, Ivanova SA, Prosekov AYu. Assessment of the content of heavy metals in medicinal plants of genus *Trifolium* from the growing area on the example of the Siberian Federal District. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(3):1880–1893. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.262>.
9. Vardanyan LR, Vardanyan RL, Galstyan AG, Atabekyan LV. Kinetics of the combined anti-oxidant action of the extractions of herb material and their mixtures. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2019;(4):5–12. (In Russ.).
10. Vesnina AD, Dmitrieva AI, Asyakina LK, Velichkovich NS, Prosekov AYu. Relevance of the use of plant extracts in the creation of functional products that have a geroprotective effect. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(3):1865–1879. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.261>.
11. Fotina NV, Dmitrieva AI, Milenteva IS, Prosekov AYu. Optimization of parameters for extracting biologically active substances *Medicago sativa* L. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(3):1857–1864. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.260>.
12. Bubaloa MC, Vidovic S, Redovnikovic IR, Jokic S. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioproducts Processing*. 2018;109:52–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.03.001>.
13. Bilal M, Iqbal HMN. Biologically active macromolecules: Extraction strategies, therapeutic potential and biomedical perspective. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;151:1–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.037>.
14. Chupakhin E, Babich O, Krasavin M, Prosekov A, Asyakina L. Spirocyclic motifs in natural products. *Molecules*. 2019;24(22). <https://doi.org/10.3390/molecules24224165>.
15. Kumar M, Dahuja A, Tiwari S, Punia S, Tak Y, Amarowicz R, et al. Recent trends in extraction of plant bioactives using green technologies: A review. *Food Chemistry*. 2021;353. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129431>.
16. Görgüç A, Gençdağ E, Yılmaz FM. Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments – A review. *Food Research International*. 2021;136. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109504>.
17. Moskalev A, Chernyagina E, Kudryavtseva A, Shaposhnikov M. Geroprotectors: A unified concept and screening approaches. *Aging and Disease*. 2017;8(3):354–363. <https://doi.org/10.14336/AD.2016.1022>.
18. Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2017;4(3). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>.
19. Ameer K, Shahbaz HM, Kwon J-H. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017;16(2):295–315. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253>.
20. Tyskiewicz K, Konkol M, Roj E. The application of supercritical fluid extraction in phenolic compounds isolation from natural plant materials. *Molecules*. 2018;23(10). <https://doi.org/10.3390/molecules23102625>.
21. Leonova MV, Klimochkin YuN. Ekhstraktsionnye metody izgotovleniya lekarstvennykh sredstv iz rastitel'nogo syr'ya [Extraction methods in the production of medicinal products from plant raw materials]. Samara: Samara State Technical University; 2012. 118 p. (In Russ.).
22. Lozano-Grande MA, Gorinstein S, Espitia-Rangel E, Dávila-Ortiz G, Martínez-Ayala AL. Plant sources, extraction methods, and uses of squalene. *International Journal of Agronomy*. 2018;2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1829160>.
23. Gonçalves S, Romano A. Green approaches for the extraction of bioactives from natural sources for pharmaceutical applications. In: Inamuddin, Boddula R, Ahamed MI, Asiri A, editors. *Green sustainable process for chemical and environmental engineering and science. Solvents for the pharmaceutical industry*. Elsevier; 2020. pp. 249–267. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821885-3.00013-X>.
24. Jacoby RP, Koprivova A, Kopriva S. Pinpointing secondary metabolites that shape the composition and function of the plant microbiome. *Journal of Experimental Botany*. 2021;72(1):57–69. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa424>.

25. Harhaun R, Kunik O, Saribekova D, Lazzara G. Biologically active properties of plant extracts in cosmetic emulsions. *Microchemical Journal*. 2020;154. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104543>.
26. Bhattacharya A. High-temperature stress and metabolism of secondary metabolites in plants. In: Bhattacharya A, editor. *Effect of high temperature on crop productivity and metabolism of macro molecules*. Academic Press; 2019. pp. 391–484. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817562-0.00005-7>.
27. Kalashnikova EA, Zaytseva SM, Doan TT, Kirakosyan RN. Study of biological activity of extracts obtained from microclonal medicinal plants of different taxonomic groups in vitro. *Veterinary, Zootechnics and Biotechnology*. 2018;(12):50–58. (In Russ.).
28. Leite KCDS, Garcia LF, Lobón GS, Thomaz DV, Moreno EKG, Carvalho MFD, et al. Antioxidant capacity evaluation of dried herbal extracts: an electroanalytical approach. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2018;28(3):325–332. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.04.004>.
29. Pavlic B, Šojic B, Teslic N, Putnik P, Kovačević DB. Extraction of bioactive compounds and essential oils from herbs using green technologies. In: Galanakis CM, editor. *Aromatic herbs in food. Bioactive compounds, processing, and applications*. Academic Press; 2021. pp. 233–262. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822716-9.00007-X>.
30. Manjare SD, Dhingra K. Supercritical fluids in separation and purification: A review. *Materials Science for Energy Technologies*. 2019;2(3):463–484. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2019.04.005>.
31. Freitas IR, Cattelan MG. Antimicrobial and antioxidant properties of essential oils in food systems – An overview. In: Holban AM, Grumezescu AM, editors. *Microbial contamination and food degradation. A volume in handbook of food bioengineering*. Academic Press; 2018. pp. 443–470. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811515-2.00015-9>.
32. Malik NR, Yadav KC, Verma A. Optimization of process parameters in extraction of thyme oil using response surface methodology (RSM). *International Journal of Science, Engineering and Technology*. 2016;4(1):248–256.
33. Šojić B, Tomović V, Kocić-Tanackov S, Kovačević DB, Putnik P, Mrkonjić Ž, et al. Supercritical extracts of wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) by-product as natural antioxidants in ground work parties. *LWT*. 2020;130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109661>.
34. Bendif H, Adouni K, Miara MD, Baranauskienė R, Kraujalis P, Venskutonis PR, et al. Essential oils (EOs), pressurized liquid extracts (PLE) and carbon dioxide supercritical fluid extracts (SFE-CO₂) from Algerian *Thymus munbyanus* as valuable sources of antioxidants to be used on an industrial level. *Food Chemistry*. 2018;260:289–298. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.108>.
35. Mozdzen K, Barabasz-Krasny B, Stachurska-Swakon A, Zandi P, Pula J, Wang YS, et al. Allelopathic interaction between two common meadow plants: *Dactylis glomerata* L. and *Trifolium pratense* L. *Biologia*. 2020;75(5):653–663. <https://doi.org/10.2478/s11756-020-00438-6>.
36. Novoselov MYu, Starshinova OA, Drobysheva LV. The possibility of using self-compatible forms of meadow clover (*Trifolium pratense* L.) in breeding to increase seed productivity. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;663(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/663/1/012016>.
37. Erkoyuncu MT, Yorgancilar M. Optimization of callus cultures at *Echinacea purpurea* L. for the amount of caffeic acid derivatives. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2021;51:17–27. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2021.02.003>.
38. Murashige T, Scoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*. 1962;15(3):473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
39. Gamborg OL, Miller RA, Ojima O. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*. 1968;50(1):151–158. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5).
40. Andreeva VYu, Kalinkina GI, Poluektova TV, Gulyaeva VA. The comparative study of phenolic compounds in *Trifolium* L. species in Siberia. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2018;(1):97–104. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018011846>.
41. Nguen TSh, Kaukhova IE, Sorokin VV. Vybor metoda ehkstragirovaniy flavonoidov iz travy klevera lugovogo [Selecting the method for extracting flavonoids from meadow clover]. *Garmonizatsiya podkhodov k farmatsevticheskoy razrabotke: Sbornik tezisov II Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [Harmonization of approaches to pharmaceutical development: Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference]; 2019; Moscow. Moscow: RUDN University; 2019. p. 204–206. (In Russ.).
42. Popova OS, Skrypnik LN. Comparative characteristic of the efficiency of various extraction methods of polyphenols from plants of the family Lamiaceae. *Advances in Current Natural Sciences*. 2017;(6):34–38. (In Russ.).
43. Maksimova TV, Nikulina IN, Pakhomov VP, Shkarina EI, Chumakova ZV, Arzamastsev AP. Method for determining antioxidation activity. Patent RU 2170930AC1. 2001.
44. Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T. *Thin layer Chromatography in phytochemistry*. Boca Raton: CRC Press; 2008. 896 p. <https://doi.org/10.1201/9781420046786>.
45. Gedikolu A, Sökmen M, Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Science and Nutrition*. 2019;7(5):1704–1714. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1007>.

46. Bazarnova YuG, Ivanchenko OB. Investigation of the composition of biologically active substances in extracts of wild plants. *Problems of Nutrition*. 2016;85(5):100–107. (In Russ.).
47. Dauqan EMA, Abdullah A. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 2017;5(2):17–22. <https://doi.org/10.7324/JABB.2017.50203>.
48. Hanganu D, Benedec D, Vlase L, Olah N, Damian G, Silaghi-Dumitrescu R, et al. Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities from two trifolium species. *Farmacia*. 2017;65(3):449–453.
49. Ertaş A, Boğa M, Haşimi N, Yılmaz MA. Fatty acid and essential oil compositions of *Trifolium angustifolium* var. *angustifolium* with antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2015;14(1):233–241.
50. Chiriac ER, Chişescu CL, Borda D, Lupoae M, Gird CE, Geană E-I, et al. Comparison of the polyphenolic profile of *Medicago sativa* L. and *Trifolium pratense* L. sprouts in different germination stages using the UHPLC-Q exactive hybrid quadrupole Orbitrap high-resolution mass spectrometry. *Molecules*. 2020;25(10). <https://doi.org/10.3390/Molecules25102321>.
51. Zeb A, Hussain A. Chemo-metric analysis of carotenoids, chlorophylls, and antioxidant activity of *Trifolium hybridum*. *Heliyon*. 2020;6(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03195>.

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 «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)», рассматривается ответственным за выпуск на предмет соответствия профилю журнала, требования к оформлению, проверяется оригинальность представленного текста в системе «Антиплагиат», регистрируется.

В журнале публикуются только рукописи, текст которых рекомендован рецензентами.

Редакция организует «двухстороннее слепое» (анонимное) рецензирование представленных рукописей с целью их экспертной оценки. Выбор рецензента осуществляется решением главного редактора или его заместителя. Для проведения рецензирования рукописей статей в качестве рецензентов могут привлекаться как члены редакционной коллегии 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 на статью 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 – редколлекцией в целом.

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 не хранит рукописи, не принятые к печати. Рукописи, принятые к публикации, не возвращаются. Рукописи, получившие отрицательный результат от рецензента, не публикуются и также не возвращаются обратно автору.

Рукописи печатаются, как правило, в порядке очередности их поступления в редакцию. В исключительных случаях, редакционная коллегия имеет право изменить очередность публикации статей.

Все материалы журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» распространяются на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЬИ

Объем статьи должен быть не менее 20–25 тыс. знаков (не включая списки литературы на русском и английском языках). Объем обзорной рукописи – более 25 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. Индекс УДК, 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. Список литературы (References);

15. Сведения об авторах (на русском и английском языках).

Подать рукопись можно на сайте журнала <http://fptt.ru> или отправив на e-mail fptt98@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 сайте журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» <http://fptt.ru>.

<i>Моисеева Н. С., Чекрыга Г. П., Мотовилов О. К., Голуб О. В.</i> Использование флуоресценции при определении глубины просаливания крупнокускового цельномышечного мяса индейки.....	209	<i>Колпакова В. В., Куликов Д. С., Уланова Р. В., Чумикина Л. В.</i> Пищевые и кормовые белковые препараты из гороха и нута: производство, свойства, применение	333
<i>Короткий И. А., Неверов Е. Н., Владимиров А. А., Неверова О. А., Проскурякова Л. А.</i> Определение теплофизических характеристик тропических фруктов для их использования при производстве сухих молочных продуктов.....	220	<i>Чеснокова Н. Ю., Приходько Ю. В., Кузнецова А. А., Кушнаренко Л. В., Герасимова В. А.</i> Использование пленок, обогащенных антоциановым пигментом, в качестве индикатора свежести рыбного фарша	349
<i>Громов Д. А., Борисова А. В., Бахарев В. В.</i> Пищевые аллергены и способы получения гипоаллергенных пищевых продуктов.....	232	<i>Шалунов А. В., Хмелев В. Н., Терентьев С. А., Нестеров В. А., Голых Р. Н.</i> Обезвоживание пищевых продуктов под действием ультразвуковых колебаний с удалением влаги без фазового перехода.....	363
<i>Миллер Ю. Ю., Киселева Т. Ф., Арышева Ю. В.</i> Формирование качественных характеристик соевого солода посредством использования активатора роста органической природы.....	248	<i>Рудометова Н. В., Кулишова К. Е.</i> Разработка способа экстракции бета-каротина для его определения в комплексных пищевых добавках	374
<i>Волкова Г. С., Серба Е. М.</i> Создание многоштаммового бактериального консорциума для технологии пробиотических препаратов кормового назначения	260	<i>Кригер О. В., Бабич О. О., Долганюк В. Ф., Козлова О. В., Сухих С. А., Ларичев Т. А.</i> Разработка способа биоконверсии целлюлозы <i>Miscanthus sinensis</i> для получения биоэтанола.....	387
<i>Патишина М. В., Ворошилин Р. А., Осинцев А. М.</i> Анализ мирового рынка биоматериалов с целью определения потенциальных возможностей сырья животного происхождения.....	270	<i>Харитонов В. Д., Асафов В. А., Кузнецов П. В., Габриелова В. Т.</i> Анализ энергетических затрат при реализации многостадийного метода получения сухих молочных продуктов	395
<i>Наумов В. А.</i> Оценка влияния вязкости жидких пищевых продуктов на нагрузочные характеристики одновинтовых насосов.....	290	<i>Курченко В. П., Симоненко Е. С., Сушинская Н. В., Головач Т. Н., Петров А. Н., Симоненко С. В.</i> Идентификация кобыльего молока и его смеси с коровьим молоком методом ВЭЖХ-анализа	402
<i>Баженова Б. А., Бурханова А. Г., Забалуева Ю. Ю., Добрецкий Р. А.</i> Исследование возможности иммобилизации антиоксидантов шиповника Даурского включением в белково-липидный комплекс	301	<i>Чеботарев С. Н., Диброва Ж. Н., Сурай Н. М.</i> Региональный анализ рынка сыра и сырных продуктов на примере города Москвы и Московской области	413
<i>Лутков И. П., Ермолин Д. В., Задорожная Д. С., Луткова Н. Ю.</i> Перспективные расы дрожжей для молодых игристых вин с мускатным ароматом.....	312	<i>Дышлюк Л. С., Федорова А. М., Лосева А. И., Еремеева Н. И.</i> Каллусные культуры <i>Thymus vulgaris</i> и <i>Trifolium pratense</i> – перспективные источники активных веществ геропротекторного действия	423
<i>Алехина Н. Н., Пономарева Е. И., Жаркова И. М., Гребеничиков А. В.</i> Оценка функциональных свойств и показателей безопасности зернового хлеба с амарантовой мукой	323		

✎ CONTENTS ✎

<i>Moiseeva Natalia S., Chekryga Galina P., Motovilov Oleg K., Golub Olga V.</i> Fluorescence Method in Measuring the Degree of Brine Penetration into Boneless Whole-Muscle Turkey Meat	209	<i>Kolpakova Valentina V., Kulikov Denis S., Ulanova Rusalia V., Chumikina Ludmila V.</i> Food and Feed Protein Preparations from Peas and Chickpeas: Production, Properties, Application	333
<i>Korotkiy Igor A., Neverov Evgeny N., Vladimirov Alexander A., Neverova Olga A., Proskuryakova Larisa A.</i> Thermophysical Characteristics of Tropical Fruits in Milk Powder Products.....	220	<i>Chesnokova Natalya Yu., Prikhodko Yury V., Kuznetsova Alla A., Kushnarenko Liudmila V., Gerasimova Valeria A.</i> Anthocyanin Films in Freshness Assessment of Minced Fish.....	349
<i>Gromov Danil A., Borisova Anna V., Bakharev Vladimir V.</i> Food Allergens and Methods for Producing Hypoallergenic Foods	232	<i>Shalunov Andrey V., Khmelev Vladimir N., Terentiev Sergey A., Nesterov Viktor A., Golykh Roman N.</i> Ultrasonic Dehydration of Food Products with Moisture Removal without Phase Transition	363
<i>Miller Yuliya Yu., Kiseleva Tatyana F., Arysheva Iulia V.</i> Forming Soy Malt Quality with Organic Growth Promoters	248	<i>Rudometova Natalia V., Kulishova Kseniia E.</i> Beta-Carotene Extraction in Complex Food Additives.....	374
<i>Volkova Galina S., Serba Elena M.</i> New Multistrain Bacterial Consortium for Feed Probiotics.....	260	<i>Kruger Olga V., Babich Olga O., Dolganyuk Vyacheslav F., Kozlova Oksana V., Sukhikh Stanislav A., Larichev Timothy A.</i> Bioethanol Production from <i>Miscanthus sinensis</i> Cellulose by Bioconversion	387
<i>Patshina Marina V., Voroshilin Roman A., Osintsev Alexey M.</i> Global Biomaterials Market: Potential Opportunities for Raw Materials of Animal Origin	270	<i>Kharitonov Vladimir D., Asafov Vladimir A., Kuznetsov Pavel V., Gabriellova Valentina T.</i> Multi-Stage Method of Milk Powder Production: Energy Costs Analysis	395
<i>Naumov Vladimir A.</i> Effect of Liquid Food Viscosity on the Load Characteristics of Single-Screw Pumps	290	<i>Kurchenko Vladimir P., Simonenko Elena S., Sushynskaya Natalia V., Halavach Tatsiana N., Petrov Andrey N., Simonenko Sergey V.</i> HPLC Identification of Mare's Milk and Its Mix with Cow's Milk ...	402
<i>Bazhenova Bayana A., Burkhanova Anastasia G., Zabaluева Yuliya Yu., Dobretsky Roman A.</i> Immobilization of Daurian Rosehip Antioxidants by Protein-Lipid Inclusion.....	301	<i>Chebotarev Sergei N., Dibrova Zhanna N., Suray Natalya M.</i> Cheese Market in Moscow and the Moscow Region: A Regional Analysis	413
<i>Lutkov Igor P., Yermolin Dmitry V., Zadorozhnaya Daria S., Lutkova Nataliya Yu.</i> Perspective Yeast Races for Young Sparkling Wines with a Muscat Aroma	312	<i>Dyshlyuk Lyubov S., Fedorova Anastasiya M., Loseva Anna I., Eremeeva Natalya I.</i> Callus cultures of <i>Thymus vulgaris</i> and <i>Trifolium pratense</i> as a source of geroprotectors.....	423
<i>Alekhina Nadezhda N., Ponomareva Elena I., Zharkova Irina M., Grebenshchikov Andrej V.</i> Assessment of Functional Properties and Safety Indicators of Amaranth Flour Grain Bread.....	323		