

Том 53, № 3, 2023
Vol. 53, № 3, 2023

ISSN 2074-9414
ISSN 2313-1748

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Food Processing:
Techniques and Technology



1 Кемеровский
государственный
университет
Объединяем
знания и людей

Национальный, рецензируемый научный журнал, посвященный вопросам пищевой промышленности и смежных отраслей. Журнал включен в SCOPUS, RSCI, Перечень ВАК (категория K1).

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

интеллектуальной, преодоление разрыва между изданиями регионального, национального и федерального уровней. Журнал призван освещать актуальные проблемы в пищевой и смежных отраслях, продвигать новые перспективные технологии в широкую аудиторию научных и практических работников, преподавателей, аспирантов, студентов, предпринимателей, а также оказывать содействие в подготовке высококвалифицированных специалистов.

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

Главный редактор:

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

Зам. главного редактора:

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

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

Редакционная коллегия:

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

И.В. Алтухов, ООО «Промышленные технологические инновации», Иркутск, Россия;

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

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

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

И.А. Ганиева, 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, Краснообск, Россия;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

С.Л. Тихонов, Уральский государственный аграрный 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;

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

И.В. Юдаев, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0.

Выпускающий редактор: А.И. Лосева

Ответственный за выпуск: А.А. Кирякова

Литературный редактор: А.Ю. Курникова

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

Дизайн и компьютерная верстка: Е.В. Волкова

Редактор онлайн версии: Е.В. Дмитриева

Учредитель, издатель и редакция: Кемеровский государственный университет, 650000, Россия, Кемеровская обл. – Кузбасс, г. Кемерово, Красная, 6

тел.: +7 (3842) 58-80-24

e-mail: fptt98@gmail.com

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

Дата выхода в свет 29.09.23

Усл. п. л. 25,58. Тираж 500 экз.

Цена свободная. Выходит 4 раза в год

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

Свидетельство о регистрации СМИ
ПИ № ФС77-72313 выдано Роскомнадзор

© Кемеровский государственный университет, 2023. © Авторы, 2023

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

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

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

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

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

Editor-in-Chief

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

Deputy Editor-in-Chief

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

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

Editorial Board Member

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

Igor V. Altukhov, Industrial Technological Innovations LLC, Irkutsk, Russia;

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

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

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

Irina A. Ganeeva, 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, Krasnoobsk, Russia;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Sergei L. Tikhonov, Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia;

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

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

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

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

Igor V. Yudaev, Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia.

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

Executive Editor: A.I. Loseva

Publishing Editor: A.A. Kiryakova

Editor and Proofreader: A.Yu. Kurnikova

English Editor: N.V. Rabkina

Computer layout design: E.V. Volkova

Website Editor: E.V. Dmitrieva

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

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

Date of issue September 29, 2023
Printed sheet 25.58 conventional printed
Circulation 500 cop.
Open price. Issued 4 times a year
Full-texts are available online at fptt.ru/en,
elibrary.ru, e.lanbook.com, cyberleninka.ru

© 2023, Kemerovo State University
© 2023, Authors

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

4 сентября 2023 г. Кемеровский государственный университет стал учредителем и издателем ведущих отраслевых изданий молочной отрасли России – журналов «Молочная промышленность» и «Сыроделие и маслоделие».

История журнала «Молочная промышленность» насчитывает 121 год и полна блестящих и драматических страниц. 3 марта 1902 г. в свет вышел первый номер журнала «Молочное хозяйство» благодаря усилиям основоположника молочного дела в России Николая Васильевича Верецагина и его сподвижников. В первом номере редакцией была изложена перспективная программа «Молочного хозяйства». Рубрики журнала включали правительственные распоряжения, статьи и заметки по производству и сбыту молочных продуктов, луговодству и травосеянию, свиноводству и скотоводству, а также провинциальные и заграничные письма. Были представлены выдержки из сельскохозяйственных газет и журналов – хроника, торговые известия, заметки о новых книгах, вопросы подписчиков и ответы, справочный отдел и объявления. На протяжении своего более чем столетнего существования журнал следовал идеям его создателей: быть настольной книгой для всех специалистов, которые занимаются производством и переработкой молока в России.

«Молочная промышленность» на протяжении периода XX – начала XXI веков вместе со страной пережил все этапы её развития. Были сложные времена гражданской войны, когда журнал закрывался, но в середине 1920-х гг. возродился вновь. Трудным являлся период Великой Отечественной войны 1941–1945 гг., когда журнал не выходил. Издание журнала «Молочная промышленность» возобновилось только в 1948 г. В тяжелые послевоенные годы журнал выступал информационным рупором производственных задач в молочной промышленности и их решений, служил средством пропаганды повышения производительности труда. В начале 1950-х гг. журналом был взят курс на освещение вопросов технического перевооружения промышленности и подготовки специалистов. В истории журнала были и кризисные 1990-е гг., но коллектив редакции сумел его сохранить. Журнал успешно прошел сквозь исторические эпохи – имперскую и советскую – и вышел на просторы современности.

За 121 год существования журнала неоднократно менялись его названия, административная подчиненность, главные редакторы и ключевые тематики. Неизменным всегда оставался главный принцип – содействовать развитию молочного дела в России. Статьи в журнале традиционно содержат информацию

о последних инновациях отрасли, достижениях молочной науки, состоянии рынка молока и молочных продуктов, проблемах безопасности и качества, технике и технологиях, упаковке и пр., а также новости в области законодательства и технического регулирования.

За огромную научную и просветительскую работу в области отечественного молочного производства журнал «Молочная промышленность» в 2001 г. был награжден премией имени Н. В. Верецагина.

До 1998 г. статьи по сыроделию и маслоделию публиковались в «Молочной промышленности». С указанного времени появилось отдельное специализированное научно-практическое издание «Сыроделие», призванное помочь не только «новоявленным» фермерам, но и сыроделам со стажем, в получении специализированных знаний о производстве масла и сыров и освоении новейших технологий их производства.

С 2001 г. расширилась тематика принимаемых к публикации статей и журнал получил название «Сыроделие и маслоделие». За 25 лет существования, идя в ногу со временем, издание внесло весомый вклад в стабилизацию отечественного сыроделия и маслоделия. Являясь базовым изданием отраслевой науки, журнал стал настоящим учебным пособием и руководством как для ученых, так и для практиков.

Журнал «Сыроделие и маслоделие» пропагандирует самые новейшие достижения в области науки и техники сыроделия и маслоделия, знакомит специалистов с передовым опытом производства продуктов, инициирует поиск новых путей развития отрасли и её прогресса, увеличения объемов и повышения эффективности производства, улучшения качества вырабатываемой продукции. С этой целью журнал знакомит читателя с передовыми предприятиями отрасли, чей опыт может стать достоянием не только в нашей стране, но и за рубежом.

В настоящий момент подготовка и издание журналов «Молочная промышленность» и «Сыроделие и маслоделие» осуществляется Кемеровским государственным университетом.

Кемеровский государственный университет является участником Программы «Приоритет-2030» – крупнейшей и беспрецедентной по масштабам государственной программы поддержки лучших российских вузов, реализующих стратегии завоевания и удержания глобального, национального, регионального (территориального) или отраслевого лидерства как центров передового знания, исследований и разработок, новых технологий и практик, соответствующих актуальным вызовам и повестке

развития. Университет является базовой организацией и грантополучателем Научно-образовательного центра мирового уровня «Кузбасс», неоднократно подтверждающего свою эффективность в течение четырех лет с момента создания. В рамках НОЦ университетом ведется работа по ряду инновационных проектов, востребованных не только экономикой региона, но и страной в целом. В число таких разработок входят три проекта Комплексной научно-технической программы полного инновационного цикла (КНТП), скоординированных по задачам, срокам и ресурсам, включающих в себя научные исследования и этапы инновационного цикла до создания технологий, продукции и оказания услуг.

Кемеровский государственный университет имеет большой опыт в подготовке специалистов высшей квалификации для отраслей АПК и перерабатывающей промышленности. Наш университет хорошо известен в стране как кузница кадров для пищевых предприятий. Выпускники работают и ценятся на предприятиях всех регионов России, а также в странах ближнего и дальнего зарубежья, граждане которых имеют возможность получать высшее образование в стенах нашего вуза. Благодаря неоценимому вкладу Ученого и Учителя Льва Александровича Остроумова в 90-х годах был открыт один из первых за Уралом Диссертационный совет, который усердно работал и выпустил несколько сотен кандидатов и докторов наук по пищевым и инженерным направлениям. Общими усилиями удалось не только сохранить Диссертационный совет, но и преобразовать его в уникальный и единственный в РФ, которому предоставлено право приема к защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и на соискание ученой степени доктора наук по научным

специальностям 4.3.3. Пищевые системы (технические науки) и 4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ (химические науки, биологические науки).

Кемеровский государственный университет имеет успешный опыт издания и продвижения журналов, соответствующих международным стандартам. Журналы не только индексируются в базах данных Scopus и Web of Science, но и отнесены к высокочастотным изданиям мирового уровня – Q1. Журналы КемГУ, посвященные вопросам АПК и пищевой промышленности, единственные в России получили столь высокую оценку.

Журналы «Молочная промышленность» и «Сыроделие и маслоделие» продолжают выходить в свет, сохранив свое уникальное название, глубокую историю и стратегию ведущих отраслевых изданий молочной отрасли. Журналы останутся местом встречи и обсуждения актуальных вопросов для бизнесменов, производителей и ученых. На наших страницах каждый может поделиться проблемами, возникающими в процессе профессиональной деятельности, и обозначить пути их решения. Мы приглашаем всех заинтересованных лиц принять участие в формировании контента: написание статей, высказывание своих предложений и рекомендаций по информационному наполнению журнала. Мы уверены, что, сохраняя преемственность и лучшие традиции Издательства «Молочная промышленность», используя прогрессивные издательские практики и профессиональные компетенции обновленной редакции, мы сможем внести весомый вклад в усиление продовольственной безопасности нашей страны и стабильное развитие отечественного агропромышленного сектора!

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

А. Ю. Просеков 

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2446>
<https://elibrary.ru/OYPVMI>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Микробная биомасса – биоресурс для получения функциональных пищевых ингредиентов (обзор)



Е. М. Серба*, Т. В. Юраскина, А. В. Римарева,
П. Ю. Таджибова, Е. Н. Соколова, Г. С. Волкова

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 11.07.2022

Принята после рецензирования: 15.09.2022

Принята к публикации: 04.10.2022

*Е. М. Серба: serbae@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-1660-2634>

Т. В. Юраскина: <https://orcid.org/0000-0002-6877-9933>

А. В. Римарева: <https://orcid.org/0000-0003-3097-0836>

П. Ю. Таджибова: <https://orcid.org/0000-0003-2760-5029>

Е. Н. Соколова: <https://orcid.org/0000-0002-6084-7786>

Г. С. Волкова: <https://orcid.org/0000-0003-4051-1828>

© Е. М. Серба, Т. В. Юраскина, А. В. Римарева,
П. Ю. Таджибова, Е. Н. Соколова, Г. С. Волкова, 2023



Аннотация.

Микробная биомасса является перспективным источником эссенциальных макро- и микронутриентов, таких как белок, витамины, незаменимые аминокислоты, полисахариды и др., которые применяются в пищевых технологиях. Цель обзора заключалась в анализе и обобщении результатов исследований, посвященных изучению свойств и состава микробной биомассы, способов получения на ее основе функциональных ингредиентов и их биологической эффективности.

Объектом исследования являлись научные публикации за 2005–2021 гг. о свойствах и биохимическом составе, методах выделения и применения функциональных и биоактивных компонентов биомассы микроорганизмов, используемых в пищевой промышленности. Поиск и отбор статей осуществлялся в библиографических базах eLIBRARY.RU, Google Scholar, Scopus, Elsevier и PubMed. Провели анализ, обобщение и систематизацию данных.

Установили, что наиболее изученной является биомасса дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и мицелиальных грибов рода *Aspergillus*. Особое значение придается хитино-глюкано-маннановому комплексу клеточных стенок и биополюсному белку протоплазмы, на основе которых могут быть реализованы технологии получения функциональных ингредиентов. Выявили основные закономерности биокаталитической конверсии полимеров микробной биомассы с переводом содержащихся в ней биологически ценных компонентов в свободное легкодоступное для пищеварительных ферментов состояние. Обобщили основные функциональные свойства биологически активных ингредиентов микробного происхождения (сорбционные, иммуномодулирующие, нейромедиаторные, антиоксидантные и антиканцерогенные).

Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о том, что ферментолиты микробной биомассы являются потенциальными источниками биологически активных соединений для использования в технологиях пищевых функциональных ингредиентов. Однако остаются недостаточно изученными вопросы о подтвержденных медико-биологических свойствах их минорных биоактивных составляющих и о направлениях создания новых видов специализированной и функциональной продукции на основе ферментолитов микробной биомассы, что делает актуальными дальнейшие исследования в данном аспекте.

Ключевые слова. Пищевая продукция, микробная биомасса, биокатализ, ферментолиты, функциональные ингредиенты, нутриенты, биологически активные вещества, биологическая эффективность

Финансирование. Исследование выполнено на базе Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии (ВНИИПБТ) за счет гранта Российского научного фонда (РНФ) № 22-16-00100, <https://rscf.ru/project/22-16-00100>

Для цитирования: Микробная биомасса – биоресурс для получения функциональных пищевых ингредиентов (обзор) / Е. М. Серба [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 426–444. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2446>

Microbial Biomass as a Bioresource of Functional Food Ingredients: A Review



Elena M. Serba*, Tatyana V. Yuraskina, Liubov V. Rimareva,
Polina Yu. Tadzibova, Elena N. Sokolova, Galina S. Volkova

All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology, Moscow, Russia

Received: 11.07.2022
Revised: 15.09.2022
Accepted: 04.10.2022

*Elena M. Serba: serbae@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1660-2634>
Tatyana V. Yuraskina: <https://orcid.org/0000-0002-6877-9933>
Liubov V. Rimareva: <https://orcid.org/0000-0003-3097-0836>
Polina Yu. Tadzibova: <https://orcid.org/0000-0003-2760-5029>
Elena N. Sokolova: <https://orcid.org/0000-0002-6084-7786>
Galina S. Volkova: <https://orcid.org/0000-0003-4051-1828>

© E.M. Serba, T.V. Yuraskina, L.V. Rimareva,
P.Yu. Tadzibova, E.N. Sokolova, G.S. Volkova, 2023



Abstract.

Microbial biomass is a promising source of essential macro- and micronutrients to be used in the food industry, e.g., protein, vitamins, essential amino acids, polysaccharide, etc. This article reviews scientific publications on the properties and composition of microbial biomass as a source of functional ingredients, its biological effectiveness, production methods, and composition. The review covered research articles published in 2005–2021 and indexed in eLIBRARY.RU, Google Scholar, Scopus, Elsevier, and PubMed. It relied on such general scientific methods as analysis, generalization, and systematization.

Saccharomyces cerevisiae yeast and *Aspergillus* mycelial fungi appeared to be the most popular research objects. Most studies concentrated on the chitin-glucan-mannan complex of cell walls and protoplasmic biovaluable protein. Others featured the biocatalytic conversion of microbial polymers with the transfer of biologically valuable components into an enzyme-accessible state. Bioactive ingredients of microbial origin could be divided into sorbents, immunomodulators, neurotransmitters, antioxidants, and anticarcinogenics.

Microbial fermentolysates are a potential source of bioactive compounds for functional foods. However, the medical and biological properties of their minor bioactive components remain understudied while fermentolysates can yield new functional products fortified with essential amino acids and low-molecular bioactive peptides.

Keywords. Food products, microbial biomass, biocatalysis, fermentolysates, functional ingredients, nutrients, biologically active substances, biological efficiency

Funding. The research was conducted on the premises of the All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology (VNIIPBT) and supported by the Russian Science Foundation (RSF), grant No. 22-16-00100, <https://rscf.ru/project/22-16-00100>

For citation: Serba EM, Yuraskina TV, Rimareva LV, Tadzibova PYu, Sokolova EN, Volkova GS. Microbial Biomass as a Bioresource of Functional Food Ingredients: A Review. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):426–444. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2446>

Введение

Современная концепция здорового питания – одного из важнейших факторов, способствующих снижению риска развития алиментарно-зависимых заболеваний, – предполагает, наряду с пищевой ценностью продуктов, что нужно уделять внимание физиологическому действию ингредиентов, входящих в их состав [1–4]. Как показали результаты статистических исследований, в рационах питания населения России отмечается сниженный уровень содержания биологически полноценного белка,

незаменимых аминокислот, витаминов группы В и D, микроэлементов. Это негативно сказывается на здоровье людей и качестве их жизни [2, 5, 6]. В последние годы выявлена взаимосвязь роста количества аллергических заболеваний с недостаточностью в рационах питания ряда витаминов и микроэлементов, способных влиять на различные функции организма человека, в том числе на систему иммунитета [7]. Поэтому при конструировании сбалансированной продукции необходимо учитывать наличие в ней жизненно важных

макро- и микронутриентов, натуральных биологически активных веществ (БАВ) и функциональных ингредиентов, способствующих регуляции обменных процессов, которые происходят в организме, для создания реальных предпосылок улучшения физиологического состояния и здоровья человека [8–11]. Актуальность этой проблемы подтверждается принятыми международными государственными программами, направленными на реализацию здорового образа жизни и развитие индустрии специализированных и функциональных продуктов питания, обладающих профилактическим и оздоровительным эффектами [12, 13]. В январе 2020 г. Указом Президента России № 20 была утверждена Доктрина продовольственной безопасности РФ, в которой акцент сделан не только на замещение импортной продукции и повышение самообеспеченности России, но и на достижение высоких качественных показателей отечественных продуктов питания, в т. ч. с заданными лечебно-профилактическими свойствами.

В научных работах последних лет показана возможность использования в качестве натуральных составляющих пищи функциональных ингредиентов микробного происхождения [8, 9, 14, 15]. Микробная биомасса является перспективным источником белка, витаминов, незаменимых аминокислот и других эссенциальных нутриентов [16–18]. В клеточных стенках микроорганизмов содержатся ценные полисахариды, в т. ч. β -глюканы, маннаны и аминополисахариды [19–23]. Сырьевая база может пополняться вторичными биоресурсами бродильных производств в виде остаточной биомассы дрожжей и грибов, метаболиты которых применяются в пищевой промышленности [9, 24–27]. Поэтому исследования, направленные на получение функциональных ингредиентов пищи на основе микробной биомассы – источника биологически полноценного белка и БАВ, являются актуальными.

Цель работы – систематизация и обобщение результатов исследований, посвященных изучению свойств и биохимического состава микробной биомассы, способов получения на ее основе функциональных ингредиентов и их биологической эффективности.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись актуальные данные научных статей о свойствах, биохимическом составе, методах выделения и применения функциональных и биоактивных компонентов биомассы микроорганизмов, применяемых в пищевой промышленности.

Поиск и отбор статей для составления обзора по тематике использования микробной биомассы в качестве биоресурса для получения биологически активных добавок и функциональных ингредиентов

осуществляли по ключевым словам и их комбинациям в библиографических базах eLIBRARY.RU, Google Scholar, Scopus, Elsevier и PubMed. В качестве временного периода взяли интервал 2005–2021 гг. Анализ научных статей более раннего периода осуществляли в случае отсутствия новых публикаций по отдельным аспектам исследуемой тематики.

Результаты и их обсуждение

Микроорганизмы – источники биологически активных веществ. Биообъекты, применяемые в бродильных производствах, наиболее изучены в биотехнологиях ферментных препаратов и ферментированных продуктов, белоксодержащих добавок и функциональных ингредиентов. К ним относятся молочнокислые, пропионово-кислые и бифидобактерии, непатогенные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и мицелиальные грибы, особенно рода *Aspergillus* [28–32].

Микроорганизмы с пробиотическими свойствами, такие как лактобациллы (*Lactobacillus*), бифидобактерии (*Bifidobacterium*) и пропионовокислые бактерии (*Propionibacterium*), применяют в пищевой промышленности не только как заквасочные культуры, обеспечивающие стабилизацию технологических процессов и формирование консистенции и структуры пищевой продукции, но и в качестве симбионтов кишечной микрофлоры в составе функциональных продуктов для поддержания микробиоценоза человека [30–36]. Процесс ферментации с использованием пробиотиков изменяет органолептические показатели целевой продукции, придает ей характерный вкус и снижает pH. Это предотвращает заражение потенциальными патогенами и способствует улучшению функционирования кишечника и стимулированию иммунной системы (МУ 2.3.2.2789-10) [30, 33–36].

Биопрепараты, полученные на основе пищевых дрожжей *S. cerevisiae*, используют в качестве функциональных ингредиентов для восполнения дефицита рациона питания по белку и аминокислотам и создания специализированной пищевой продукции, обогащенной незаменимыми аминокислотами, витаминами и микроэлементами [28, 29, 37–39]. В таблице 1 приведен витаминный и минеральный состав дрожжевой биомассы на основании усредненных данных ряда исследователей, который подтверждает, что она является богатым источником эссенциальных нутриентов: витаминов группы В, эргостерина, макро- и микроэлементов [15, 27, 28, 38, 40, 41]. Анализ минерального состава показал, что наиболее высокая доля от общего количества идентифицированных элементов приходится на калий, фосфор и магний.

Дрожжевой белок, состоящий из 466 аминокислотных остатков, характеризуется хорошей сбалансированностью незаменимых аминокислот, а при добавлении метионина и цистеина не уступает белкам мяса (табл. 2) [9, 15, 29, 40].

Таблица 1. Содержание витаминов и минеральных веществ в биомассе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*Table 1. Vitamins and minerals in *Saccharomyces cerevisiae*

Компоненты	Содержание
Витамины, мг/%	
Тиамин (В ₁)	2,10–2,85
Рибофлавин (В ₂)	2,50–3,94
Ниацин (В ₃)	16,75–17,23
Пантотеновая кислота (В ₅)	2,00–20,00
Пиридоксин (В ₆)	2,15–2,37
Эргостерин (провитамин D)	550–1080
Минеральные вещества, %	
Фосфор	0,65–2,74
Калий	0,89–2,58
Магний	0,04–0,70
Медь	0,003–0,059
Кремний	0,02–0,81
Кальций	0,01–0,05

Таблица 2. Характеристика биохимического состава микробной биомассы

Table 2. Biochemical composition of microbial biomass

Показатели	Биохимический состав биомассы	
	Грибной	Дрожжевой
Полисахариды (ОРВ), %	29,0–33,0	17,0–25,0
Хитин, %	9,5–18,5	2,0–5,0
Редуцирующие углеводы, %	2,7–5,3	0,2–0,5
Сырой протеин, %	19,5–39,5	47,5–53,5
Аминный азот, %	0,4–1,4	0
Аминокислоты в свободной форме, %	1,6–5,5	0
Незаменимые аминокислоты, г/100 г белка, в т. ч.	51,9–57,2	38,0–41,9
Треонин	5,9–6,2	4,7–4,9
Валин	5,4–6,0	3,8–4,6
Метионин	2,1–3,2	1,9–2,3
Изолейцин	3,0–3,5	3,5–4,1
Лейцин	10,2–11,0	6,0–6,4
Фенилаланин	3,9–4,0	3,5–3,8
Лизин	6,2–6,5	6,1–6,9
Триптофан	15,5–16,8	8,5–8,9

Клеточные стенки дрожжей *S. cerevisiae*, масса которых может достигать до 25 % от массы всей клетки, содержат ценные полисахариды глюкано-маннановой природы [41]. По данным ряда исследователей, клеточная стенка состоит практически на 50 % из β -глюкана, который является важным структурным компонентом, ответственным за поддержание ее прочности, приблизительно на 40 % из маннопротеинов, содержащих порядка 3/4 маннана и 1/4 белков, и на 2–5 % из хитина [22, 40, 41]. Дрожжевой глюкан, объединяющий несколько типов молекул полисахарида, из которых в наиболее

активной форме представлен β -1,3/1,6-глюкан, представляет интерес для создания биопрепаратов иммуномодулирующего действия [41–45].

Проводятся исследования в области использования мицелиальной биомассы грибов – продуцентов промышленно значимых метаболитов (ферментов, органических кислот и др.), которые находят широкое применение в сельском хозяйстве, медицине и пищевой промышленности [46–57]. Микромицеты быстро растут практически на любых субстратах, устойчивы к микробной контаминации, содержат больше белка, чем зерно злаковых культур. Они богаты витаминами (тиамин, рибофлавин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота, пиридоксин, фолиевая кислота, а также холин, инозит и др.) и полисахаридами [16, 23, 58–60].

В отличие от дрожжей *S. cerevisiae* грибная биомасса (на примере *Aspergillus oryzae*) содержала меньше белка, но являлась источником ценных полисахаридов, в т. ч. хитина (табл. 2). Биологическая ценность грибного белка выше, чем у дрожжевого: доля незаменимых аминокислот по усредненным данным исследователей составила более 50 % от общего количества аминокислот; высокое содержание отмечено у триптофана и лейцина (табл. 2) [9, 15, 18, 29, 31, 40, 41, 57, 58, 61]. Различия в структурном и биохимическом составе дрожжевой и грибной биомассы позволяют получать биологически активные пептидно-аминокислотные добавки, обогащенные ценными полисахаридами и незаменимыми аминокислотами. Это расширяет спектр функциональных свойств создаваемой на их основе продукции.

Результаты последних исследований показали возможность повышения содержания белка в биомассе гриба *A. oryzae* путем твердофазного культивирования. Исследователи установили, что доля белка в поверхностной культуре гриба составила порядка 60,0–80,0 %, что практически в 2–3 раза превысило показатели в глубинной культуре [62, 63]. Состав питательной среды влиял на содержание белка и полисахаридов, что позволило регулировать их соотношение. На средах с соевым сырьем был достигнут более высокий уровень синтеза белка, а на средах с пшеничными отрубями – полисахаридов [63]. Как показали результаты исследований корейских микробиологов, твердофазная ферментация грибов *Aspergillus awamori* и *A. oryzae* на отрубях черного риса способствовала повышению содержания фенольных кислот и антиоксидантов [64].

Таким образом, данные, опубликованные в научной литературе, позволяют сформировать новые представления о перспективности использования микробной биомассы как эффективного биоресурса для получения ингредиентов, которые формируют функциональные свойства пищевых продуктов. Особое значение придается хитино-глюкано-

маннано-комплекс клеточных стенок и биополюсному белку протоплазмы биомассы дрожжей и мицелиальных грибов, на основе которых могут быть реализованы технологии получения функциональных ингредиентов и биодобавок с заданными целевыми свойствами.

Пути получения функциональных ингредиентов на основе микробной биомассы. Несмотря на все плюсы, питательная ценность микробной биомассы ограничена малой доступностью содержимого клетки для действия пищеварительных ферментов. В отличие от сырья животного и растительного происхождения биокаталитическая деструкция полимеров микробной биомассы затруднена из-за наличия в ней клеточной оболочки, основной структурной составляющей которой являются β -глюканы и маннанопротеины, связанные ковалентными связями в единую сеть [20–22, 41, 65]. Поэтому для повышения биодоступности клеточного содержимого подобраны ферментные системы, катализирующие расщепление субклеточных структур микроорганизмов с переводом содержащихся в них биологически ценных компонентов в свободное состояние.

В результате проведенных исследований установлено, что использование комплекса протеаз и β -глюканаз для направленного гидролиза белков и полисахаридов клетки, а также регуляция длительности их воздействия обеспечивают получение биопрепаратов с различным биохимическим и структурно-фракционным составом, оказывающим влияние на их функциональные свойства [17, 18, 31, 38, 63]. Ферментолитаты микробной биомассы содержали незаменимые аминокислоты, низкомолекулярные биоактивные пептиды, витамины группы В, микро- и макроэлементы в легкодоступной для организма человека форме.

В протоплазме микробной клетки содержится биологически полноценный белок, аминокислотный

скор которого приближается к животному белку [38, 57, 66]. Однако исследования по получению пептидно-аминокислотных ингредиентов на основе микробного белка проводились недостаточно широко.

Особая роль в работах исследователей отводится протеолитическим ферментам с различным механизмом действия (протеиназам и пептидазам), что обусловлено их каталитической способностью к деструкции белка по определенным пептидным связям. В результате этого могут образовываться физиологически активные пептиды и свободные аминокислоты, являющиеся не только конструктивной основой всех формирующих тканей в живом организме, но и биорегуляторами процессов метаболизма [17, 18, 67–70]. В зависимости от степени биокаталитической деструкции внутриклеточных белков возможно получение ферментолитатов с заданным фракционным составом и функциональными свойствами [15, 71–73].

Структурные изменения, происходящие в микробной клетке под действием ферментов с различной субстратной специфичностью, были исследованы с помощью электронной микроскопии [17, 38]. Учитывая, что полисахариды находятся в комплексе с белками, то для эффективной деструкции клеточных стенок в состав ферментативной системы вводили β -глюканазы и протеолитические ферменты, которые представлены протеиназами, катализирующими частичный гидролиз белка клеточных стенок, т. е. важно было не разрушить полимерную структуру белковых веществ протоплазмы (рис. 1) [17]. В результате происходило частичное высвобождение деполимеризованных субклеточных структур, которые имели вид отдельных фрагментов различной величины и формы (рис. 1а), а внутриклеточные мембраны приобретали более «рыхлую» структуру (рис. 1б). Для более глубокого гидролиза белков протоплазмы в составе ферментных систем

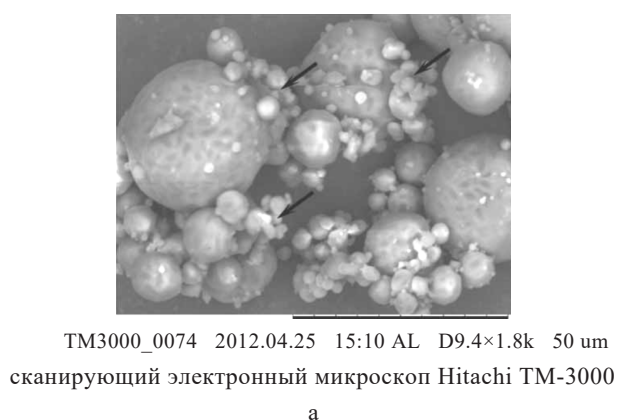


Рисунок 1. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* после частичного гидролиза полимеров клеточных стенок под действием β -глюканазы и протеиназ

Figure 1. *Saccharomyces cerevisiae* after partial hydrolysis of cell-wall polymers by β -glucanase and proteinases

дополнительно использовали пептидазы, способствующие деструкции субклеточных структур до нанофрагментов, которые содержат высокое количество незаменимых аминокислот, низкомолекулярных пептидов и углеводов в свободной форме.

Интактная клетка *S. cerevisiae* не обладала такими функциональными свойствами, которые проявляли бы ее субклеточные структуры после ферментативной деструкции [29, 31, 38, 71–74].

В работах, посвященных исследованиям в области получения функциональных ингредиентов на основе остаточной биомассы грибов рода *Aspergillus* – вторичного ресурса ферментного производства, использовали методы биокаталитической конверсии полимеров мицелиальной биомассы, которые способствовали повышению доступности биологически ценных компонентов клетки [9, 18, 31, 56–58, 75]. Изучена возможность применения для этих целей как автолитических процессов конверсии под действием внутриклеточных ферментов гриба, так и эндогенных ферментов β -глюканазного и протеолитического действия.

Наиболее подробно исследована биомасса гриба *A. oryzae* – продуцента комплекса протеаз – в качестве субстрата для получения пептидно-аминокислотных ингредиентов [18, 31, 56, 75]. Установлено наличие в остаточной биомассе внутриклеточных ферментов протеолитического, β -глюканолитического, хитинолитического и маннанолитического действия (табл. 3), что позволило осуществить автолиз основных полимеров гриба [31].

Однако в ходе исследований было выявлено, что для повышения степени конверсии полисахаридов клеточных стенок уровня активности внутриклеточной β -глюканазы недостаточно. Поэтому в состав ферментной системы дополнительно вводились экзогенные гидролазы. Полученные результаты позволили разработать условия регулируемого процесса ферментативной деструкции полимеров остаточной биомассы гриба *A. oryzae* и подобрать ферментную систему, включающую внутриклеточные протеиназы и пептидазы, которые катализируют глубокое разрушение белковых веществ, а также комплекс экзогенных ферментов для гидролиза полисахаридов (рис. 2) [31, 75].

Таким образом, результаты мониторинга состояния проблемы подтвердили перспективность использования микробной биомассы в пищевых технологиях в качестве источника не только полноценных белков и полисахаридов, но и пептидно-аминокислотных ингредиентов с преобладающим содержанием свободных аминокислот и коротких биоактивных пептидов.

Биологическая эффективность функциональных ингредиентов, полученных на основе микробной биомассы. Ферментолизаты биомассы дрожжей *S. cerevisiae*. Дрожжи традиционно использовали

Таблица 3. Активность внутриклеточных ферментов биомассы гриба *Aspergillus oryzae*

Table 3. Intracellular enzymes in *Aspergillus oryzae*

Активность	Ед. активности/г	Показатели уровня активности
Протеолитическая (ПС)	ед. ПС/г	37,0
β -глюканазная (β -ГКС)	ед. β -ГКС/г	12,0
Хитиназная (ХС)	ед. ХС/г	0,2
Манназная (МС)	ед. МС/г	1,0

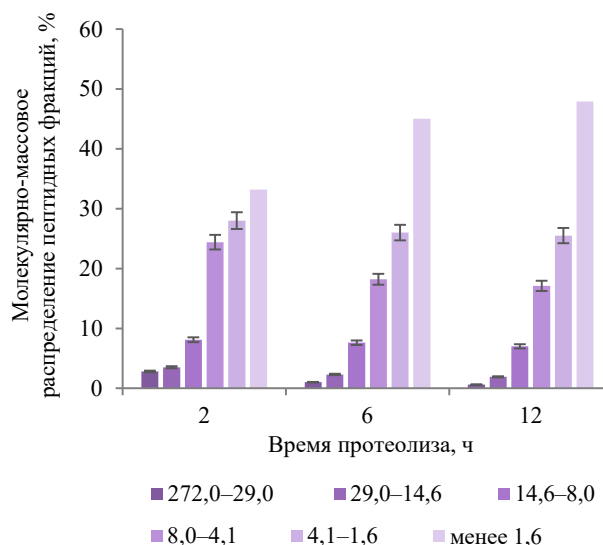


Рисунок 2. Изменение молекулярной массы пептидов в процессе ферментативной деструкции белков грибной биомассы *Aspergillus oryzae*

Figure 2. Molecular weight of peptides during the enzymatic degradation of *Aspergillus oryzae* proteins

в лечебно-профилактических целях как источник витаминов группы В (табл. 1). Проведенные исследования подтвердили сохранность ряда витаминов в процессе ферментативной обработки [15]. Однако глубоких исследований, результаты которых достоверно подтвердили бы уровень их остаточного содержания, практически не проводилось.

Витамины обладают высокой биологической активностью. Основная их часть поступает в организм с пищей, а некоторые синтезируются микробной флорой кишечника. Современные научные исследования свидетельствуют о многообразном участии витаминов в процессе обеспечения жизнедеятельности человеческого организма. Однако отмечается наличие их дефицита в рационах питания и необходимость расширения ассортимента обогащенных витаминами пищевых продуктов [1, 2, 5, 6]. Получаемые на основе ферментолизатов дрожжевой биомассы белково-пептидно-аминокислотные

ингредиенты и биологически активные добавки (БАД) могут служить дополнительным источником витаминов и способствовать коррекции витаминного статуса и нормализации жизнедеятельности организма человека.

Дрожжевая биомасса является перспективным источником витаминов, играющих важную регуляторную роль в метаболических процессах организма человека [1, 2, 5, 6, 15, 28, 40, 73]:

- витамина В₁ (тиамин), который необходим для нормального функционирования центральной и периферической нервной системы. Он участвует в углеводном, жировом, белковом и минеральном обмене и способствует укреплению защитных функций организма в условиях неблагоприятной экологической обстановки;
- витамина В₂ (рибофлавин), входящего в состав ферментов, которые катализируют процессы дыхания клеток и тканей организма, что способствует их росту и регенерации. Рибофлавин играет важную роль в защите сетчатки глаз от избыточного воздействия ультрафиолетовых лучей, а также здоровья кожи, ногтей и волос;
- витамина В₃ (ниацин), участвующего в качестве кофермента в окислительно-восстановительных реакциях энергетического метаболизма. Он необходим для нормального функционирования центральной нервной системы, пищеварительных органов, печени и кожных покровов;
- витамина В₅ (пантотеновая кислота), недостаток которого в пищевом рационе приостанавливает нормальный рост и нарушает деятельность нервной системы и желез внутренней секреции;
- витамина В₆ (пиридоксин), основная роль которого – участие в обмене аминокислот и формировании гормонов и гемоглобина в эритроцитах. Он необходим для улучшения функции кроветворения, нормальной деятельности центральной нервной системы и профилактики атеросклероза;
- эргостерина (провитамин D₂), предшественника эргокальциферола – одного из витаминов группы D, участвующего в регуляции иммунной системы и фосфорно-кальциевого обмена. Он способствует повышению сопротивляемости организма инфекциям и активизации мышечной деятельности человека.

На основе клеточных стенок дрожжей *S. cerevisiae* создают биопрепараты с высокой сорбционной способностью, предназначенные для регуляции деятельности желудочно-кишечного тракта, а также биопрепараты – источники дрожжевого β -1-3-глюкана, который является неспецифичным активатором макрофагов и стимулятором иммунной системы человека [42–45].

В функциональном питании важная регуляторная роль принадлежит микроэлементам [5, 13]. Как видно из результатов исследований, среди биогенных элементов, выявленных в биопрепаратах дрож-

жевой биомассы, особая роль принадлежит фосфору, который является органогенным элементом, входящим в состав всех живых организмов, а также калию и магнию, содержащихся в ряде важных ферментов, которые оказывают регуляторное влияние на обменные процессы [9, 27, 29, 38, 40]. Сахаромикеты могут эффективно аккумулировать минеральные вещества, такие как селен, хром, цинк и др., при целенаправленном обогащении ими среды для выращивания или в процессе биокаталитической конверсии белковых полимеров дрожжей [27, 77–78]. Такие способы позволяют получать новые обогащенные эссенциальными макро- и микроэлементами пищевые ингредиенты, которые предназначены для регуляции обменных процессов в организме, поддержания здоровья человека и профилактики недостаточности нутриентов, особенно у людей, испытывающих интенсивные физические нагрузки [27, 78–80].

В связи с этим следует отметить, что продукция, получаемая на основе пищевых дрожжей, может рассматриваться как перспективный источник не только биополюценного белка, но и витаминов и микроэлементов.

В последнее время получено много экспериментальных данных, характеризующих взаимосвязь биохимического и фракционного составов ферментолитатов дрожжевой биомассы с их функциональными и медико-биологическими свойствами [17, 27, 29, 37, 38]. Выявленные закономерности зависимости степени деструкции полипептидов от механизма каталитического действия протеаз и длительности ферментолитиза позволили разработать регулируемый процесс получения пептидно-аминокислотных ингредиентов с заданным составом. Результаты исследований показали наличие в них низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот в разных соотношениях (рис. 3) [17, 38, 73]. По данным Е. М. Serba и др., через 6 ч гидролиза дрожжей (ферментолитат-1) доля пептидов с молекулярной массой более 1000 Да снизилась практически в 4 раза, по сравнению с исходной биомассой, и образовались низкомолекулярные пептиды и свободные аминокислоты. В ферментолитате-2 после 12 ч гидролиза 85 % от общей массы веществ белковой природы составили пептиды с молекулярной массой менее 500 Да [74]. Практически половина аминокислот высвободилась в свободное состояние, что повысило биодоступность ферментолитатов дрожжей для действия пищеварительных ферментов (рис. 3).

В ряде исследований показано, что образовавшиеся в результате биокаталитической конверсии белковых веществ дрожжевой клетки низкомолекулярные пептиды проявляли антиоксидантные и антиканцерогенные свойства [31, 38, 71–74]. В ферментолитатах дрожжевой биомассы исследователи отмечали высокое содержание незаменимых аминокис-

кислот (табл. 4), играющих важную роль в обменных процессах, особенно триптофана [9, 15, 17, 27, 37, 38, 73]. Триптофан как прекурсор серотонина оказывает стрессозащитное действие и является компонентом антиоксидантной системы организма. Также он необходим для синтеза витамина В₃ (ниацина), дефицит которого приводит к нарушению функции ЖКТ и развитию аллергического дерматита [81].

Результаты испытаний острой токсичности и биологической эффективности ферментоллизатов дрожжевой биомассы подтвердили, что однократное пероральное введение широкого диапазона доз (200–2000 мг/кг массы тела) исследуемых биопрепаратов опытным животным не вызывало негативных побочных эффектов, но обеспечивало быстрый прирост их массы тела при стабильном физиологическом и динамичном состоянии мышей [73]. Использо-

вание биопрепарата в рационах животных на протяжении двух недель способствовало повышению их аппетита, активности и выносливости.

Медико-биологические исследования показали наличие у ферментоллизатов дрожжей *S. cerevisiae* ряда антиоксидантных эффектов, выраженных в нормализации уровня активности глутатион-зависимого звена [71, 73]. Содержащиеся в препарате растворимые биологически активные вещества быстро преодолевали гематоэнцефалический барьер и легко всасывались в кровь, а затем вступали в биохимические процессы в организме, нормализуя систему клеточного и гуморального иммунитета [37, 38, 82]. По данным С.-Л. Chang и Т.-Н. Као, биопрепараты на основе дрожжевой биомассы позволяют бороться с ожирением, уменьшать уровень триглицеридов в печени и сыворотки крови, повышать антиоксидантную активность [40].

Выявлен цитотоксический эффект ферментоллизатов дрожжевой биомассы на клетках перевиваемых опухолей. Установлено, что ферментоллизат с более глубокой степенью деструкции субклеточных структур дрожжевой биомассы обладал способностью к активации каспазы-3 на линиях HeLa, U937, MCF7 и L929 и влиял на их клеточный цикл, вызывая увеличение числа апоптотирующих клеток и уменьшая способность клеток к митозу [72, 73]. Эффект противоопухолевой активности заключался в способности вызывать селективный апоптоз только на раковых клетках, не подавляя нормальные.

Рациональное питание играет особое значение в профессиональном спорте [83]. Использование в спортивном питании биологически активных добавок и специализированных продуктов с заданными функциональными свойствами, способных избирательно влиять на метаболические процессы, занимает ключевые позиции в обеспечении спортивных результатов, поскольку профессиональный спорт характеризуется высоким эмоциональным напряжением и большим объемом физических

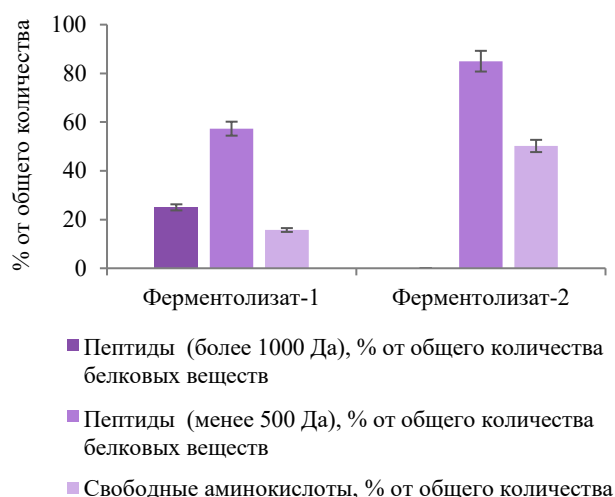


Рисунок 3. Содержание свободных аминокислот и пептидов в ферментоллизатах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* через 6 и 12 ч гидролиза

Figure 3. Free amino acids and peptides in enzyme lysates of *Saccharomyces cerevisiae* after 6 and 12 h of hydrolysis

Таблица 4. Содержание незаменимых аминокислот в ферментоллизатах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* через 6 и 12 ч гидролиза

Table 4. Essential amino acids in enzyme lysates of *Saccharomyces cerevisiae* after 6 and 12 h of hydrolysis

Незаменимые аминокислоты	Общие незаменимые аминокислоты, %	Незаменимые аминокислоты в свободной форме, %	
		Ферментоллизат-1	Ферментоллизат-2
Треонин	1,61	0,49	1,32
Валин	2,34	0,39	1,15
Метионин	0,76	0,17	0,40
Изолейцин	1,42	0,35	1,05
Лейцин	2,41	0,48	1,50
Фенилаланин	1,56	0,39	1,17
Лизин	2,97	0,50	1,53
Триптофан	5,15	0,61	2,05
Всего	18,22	3,38	10,17

нагрузок [84]. Результаты исследований спортивно-потребительских свойств ферментализатов дрожжей, проведенные в Российском государственном университете физической культуры, спорта и туризма, показали, что их использование в спортивно-физкультурной практике повышало эффективность тренировочной и соревновательной деятельности спортсменов за счет выявленных эффектов стимуляции работоспособности и оздоровления спортсменов [73]. Данные неспецифической антиинфекционной резистентности, полученные в результате эксперимента, подтвердили улучшение иммунной защиты организма в условиях цикла стимуляции работоспособности спортсменов [73].

Исследования иммуномодулирующего действия ферментализатов дрожжей у детей с нарушениями противоинфекционной защиты с пониженной резистентностью к вирусным и бактериальным инфекциям показали выраженный терапевтический эффект, подтвердивший высокую значимость этих биопрепаратов для повышения иммунного статуса и функциональной выносливости организма, а также улучшения обменных процессов [73, 74, 82].

Результаты клинических исследований использования ферментализатов дрожжевой биомассы при реабилитации больных с черепно-мозговой травмой показали, что испытанные препараты влияли на коррекцию здоровья, улучшая функциональное состояние организма и повышая эффективность лечебных процедур у больных, и способствовали снижению напряжения сердечно-сосудистой системы при нагрузках в условиях занятий физкультурно-оздоровительными упражнениями. Все пациенты хорошо переносили ноотропную и антибиотиковую терапию, не наблюдалось осложнений, быстрее умень-

шались симптомы интоксикации, по сравнению с контрольной группой, отмечалось отсутствие обострений сопутствующей патологии [73].

По результатам собственных исследований и анализа источников литературы систематизировали данные о влиянии действия ферментативных систем различной субстратной специфичности на степень деструкции субклеточных структур дрожжей, а также перспективы создания функциональных ингредиентов с заданными структурно-функциональными свойствами (табл. 5) [15, 17, 37, 71–74, 85, 86].

Анализ результатов биохимических и медико-биологических исследований показал, что ферментализаты биомассы дрожжей *S. cerevisiae* являются источником свободных аминокислот и биологически активных низкомолекулярных пептидов, обладают высокой усвояемостью, способствуют нормализации белкового обмена человека, регуляции массы тела и восстановлению работоспособности, оказывают общеукрепляющее и иммуномодулирующее действие. Это позволяет использовать их в качестве биологически активных добавок к пище и функциональных ингредиентов для формирования специализированных продуктов питания.

Ферментализаты биомассы грибов рода *Aspergillus*. На современном этапе для решения проблемы полноценного обеспечения потребностей населения в биологически активных веществах может быть использована грибная биомасса как источник биологически ценного белка, витаминов и полиаминосахаридов [56, 58, 75, 85, 86]. Интерес биотехнологов к грибам рода *Aspergillus* обусловлен не только способностью микромицетов синтезировать вещества, имеющие промышленное значение, но и возможностью использовать их биомассу в качестве субстрата

Таблица 5. Влияние ферментативных систем различной субстратной специфичности на степень деструкции полимеров дрожжевой биомассы и структурно-фракционные и функциональные свойства ферментализатов

Table 5. Effect of enzyme systems of different substrate specificity on degradation of yeast biomass polymers and structural-fractional and functional properties of enzyme lysates

Показатель	Ферментативные системы		
Состав ферментов	β -глюканаза и маннаназа	β -глюканаза, маннаназа, протеиназы	β -глюканаза, маннаназа, протеиназы, пептидазы
Биокаталитическое действие	Деструкция полисахаридного комплекса клеточных стенок дрожжей	Глубокая деструкция белково-полисахаридного матрикса клеточных стенок и частичная деструкция белковых веществ протоплазмы	Глубокая конверсия белковых веществ протоплазмы до низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот
Фракционный состав белковых веществ, %	От 20 до 60 кДа – 100	Более 1000 Да – 75; 300–1000 Да – 22; до 300 Да – 3	300–1000 Да – 11; до 300 Да – 89
Функциональные свойства ферментализатов дрожжевой биомассы	Энтеросорбенты, обладающие селективной сорбционной способностью. Белковые обогатители пищи	Белково-пептидные ингредиенты и биологически активные добавки (БАД), обогащенные витаминами	Пептидно-аминокислотные ингредиенты и БАД с функциональными свойствами (антиоксидантными, иммуно-модулирующими, антиканцерогенными)

для получения функциональных пищевых ингредиентов и биологически активных добавок. Учитывая, что грибы секретируют целевые продукты в культуральную жидкость, положительным фактором являются перспективы создания безотходных технологий на основе многоцелевого использования промышленных штаммов микромицетов.

Для грибной биомассы свойственно высокое содержание полисахаридов (31,6 %), представленных в виде хитино-глюканового комплекса и ценных маннанных (табл. 1). В последнее время полиаминосахариды находят все более широкое применение в медицине, сельском хозяйстве, косметологии и пищевой промышленности. Это обусловлено такими их свойствами, как биосовместимость и биodeградируемость, низкая токсичность, высокая способность к комплексообразованию и сорбции, антимикробная активность. Работами многих исследователей доказана перспективность использования грибной биомассы для получения хитозан-глюкановых био-препаратов [87–89]. Установлено, что ингредиенты клеточных стенок грибов рода *Aspergillus* обладали сорбционными, антиоксидантными и другими ценными свойствами, позволяющими эффективно использовать их в промышленности [55, 65, 90–93]. Экспериментами *in vitro* и результатами широких исследований на животных подтверждено, что β -глюканы, содержащиеся в клеточных стенках микроорганизмов, обладали иммуномодулирующими, противоопухолевыми и радиопротекторными свойствами и проявляли способность к снижению уровня холестерина в крови [86, 94–96].

Особое значение придается мицелиальным грибам как источнику биологически ценного белка [26, 31, 57, 77]. Грибной белок богат незаменимыми аминокислотами (52,6 % от общего количества), особенно триптофаном, треонином, метионином, валином и лизином (табл. 2). Как показали результаты исследований, использование ферментативной системы гриба *A. oryzae*, включающей внутриклеточные протеиназы, пептидазы и комплекс экзогенных β -глюканаз, а также регуляция длительности их воздействия обеспечивают получение ферментолізатов с заданным структурно-фракционным составом [31]. Сравнительный анализ спектров пептидов с молекулярной массой менее 1000 Да в ферментолізатах гриб-

ной биомассы после 6 и 12 ч гидролиза показал, что с увеличением его длительности содержание пептидов с молекулярной массой менее 500 Да и аминокислот в свободной форме повысилось в 1,6 раза (табл. 6) [31].

Результаты собственных исследований и анализ данных научной литературы об аминокислотном составе грибной биомассы и ее ферментолізатов позволили нам сделать предположение о том, что микромицеты являются потенциальным источником биологически активных соединений белковой природы (незаменимых аминокислот и низкомолекулярных пептидов), обладающих регуляторными свойствами и оказывающих стимулирующее воздействие на многие функции организма (табл. 6 и 7) [31, 97]. Некоторые из них выполняют нейромедиаторную функцию, т. е. участвуют в формировании веществ, отвечающих за передачу нервного импульса. Это значит, что при их дефиците будут наблюдаться проблемы со стороны нервной системы [97, 98].

По мнению многих ученых, один из главных сигнальных путей, объединяющих нервную, эндокринную и иммунную системы в единую, определяют именно регуляторные пептиды, состоящие из аминокислотных остатков [98, 99]. Биоактивные пептиды образуются из неактивных пептидных предшественников под действием комплекса протеаз, в котором основную роль играют пептидазы. Возможно одновременное образование нескольких регуляторных пептидов, функции которых различаются и зависят от их первичной структуры. По данным исследователей, биологически активные пептиды обладают низкой молекулярной массой, количество аминокислотных остатков в них может варьироваться от 3 до 50 [98, 100–103]. Спектр их биологических функций широк и разнообразен: одни воздействуют на иммунные процессы организма, некоторые связаны с деятельностью центральной нервной системы и обладают антигипертензивной активностью, другие оказывают регуляторное влияние на функции пищеварительной системы, проявляют пребиотическое действие и т. д. [102–104].

Не менее важная регуляторная роль отводится аминокислотам, наличие которых, в т. ч. в свободной биодоступной форме, отмечено в ферментолізатах

Таблица 6. Фракционный состав низкомолекулярных пептидов и содержание свободных аминокислот в ферментолізатах грибной биомассы

Table 6. Fractional composition of low molecular weight peptides vs. free amino acids in enzymatic fungal biomass

Время гидролиза, ч	Содержание пептидов, % от общего количества низкомолекулярных пептидов		Свободные аминокислоты, % от общего количества аминокислот
	500–1000 Да	Менее 500 Да	
6	43	57	23,5
12	11	89	39,5

Таблица 7. Содержание аминокислот в ферментолізатах биомассы гриба *Aspergillus oryzae*Table 7. Amino acids in *Aspergillus oryzae* enzyme lysates

Аминокислоты	Содержание аминокислот в ферментолізатах, мг/см ³		
	Общие аминокислоты	Свободные аминокислоты	
		6 ч	12 ч
Триптофан*	30,51	6,83	11,54
Глутаминовая кислота	25,40	6,54	11,04
Лейцин*	22,85	5,13	8,67
Аспарагиновая кислота	20,02	3,31	5,61
Лизин*	12,91	3,14	5,30
Серин	10,90	3,05	5,15
Аланин	10,95	2,91	4,79
Валин*	12,02	2,67	4,11
Фенилаланин*	8,40	2,20	3,69
Глицин	10,01	2,17	3,66
Треонин*	8,45	2,16	3,64
Изолейцин*	6,49	1,82	3,08
Аргинин	5,03	1,45	2,44
Тирозин	6,00	1,40	2,37
Гистидин	5,39	1,32	2,22
Метионин*	6,31	1,34	2,17
Общее количество аминокислот, мг/г	201,64	47,44	79,48
(% от общего количества аминокислот)	(100,0)	(23,5)	(39,4)
Незаменимые аминокислоты, мг/г	112,97	24,33	42,20
(% от общего количества аминокислот)	(56,0)	(51,3)	(53,0)

* – незаменимые аминокислоты.

* – essential amino acids.

грибной биомассы (табл. 7). Среди них можно выделить триптофан, аспарагиновую и глутаминовую аминокислоты, лейцин, лизин, валин и глицин, доля которых в составе белковых веществ ферментолізата грибной биомассы наиболее высокая.

Анализ литературы по проблеме нейрохимических механизмов нервной регуляции функций позволяет сделать заключение о том, что медиаторные аминокислоты, среди которых преобладают возбуждающие (глутамат и аспартат) и тормозные (глицин), могут влиять на состояние нейронных сетей [105]. Участие медиаторных аминокислот в таких важных физиологических функциях, как высшие интегративные функции мозга (поведение, эмоции, память и др.), функции сердечно-сосудистой, дыхательной и эндокринной систем, а также обмен веществ делают перспективными исследования по получению натуральных биологически активных добавок на основе грибной биомассы – источника биологически ценного белка.

Наличие высокого количества триптофана в ферментолізатах грибной биомассы позволяет использовать их для создания натуральных БАД-антидепрессантов, а также в составе лечебно-профилактических средств [81]. Как показали результаты последних исследований, триптофан, являясь имму-

нологически активной аминокислотой, входит в состав ряда дипептидов, обладающих широким спектром иммуномодулирующего действия [106–108]. L-триптофан стимулирует выработку витамина В₃ (ниацина), мелатонина (антиоксиданта и «гормона сна») и холина (ноотропа и антидепрессанта). Гидроксилирование триптофана приводит к образованию серотонина, играющего важную роль в качестве нейромедиаторов головного мозга [109, 110]. Триптофан способствует сдерживанию первичного образования компонентов жира, что снижает риск ожирения, а также участвует в стимуляции синтеза гормона роста [81, 97].

Присутствие в грибной биомассе метионина придает ферментолізатам антиоксидантные и антиоксидантные свойства и способствует образованию иммунных клеток и улучшению функционирования нервной системы организма [97].

Дефицит аминокислот, необходимых для нормального функционирования организма, может привести к серьезным патологическим изменениям. Присутствие в ферментолізатах грибной биомассы полного комплекса аминокислот может способствовать снижению затрат на их синтез *de novo* в клетках организма, т. е. энергетически более выгодно получать аминокислоты с пищей, чем запускать их собственный синтез.

Результаты анализа представленных выше данных подтверждают перспективность создания функциональных ингредиентов и биологически активных добавок на основе ферментоллизатов грибной биомассы, обогащенных пептидно-аминокислотной составляющей с преобладающим содержанием незаменимых аминокислот и низкомолекулярных пептидов в биодоступной форме. Наличие этих регуляторных факторов обуславливает их биологическая активность.

Ферментоллизаты объединенной биомассы дрожжей *S. cerevisiae* и микромицета *A. oryzae*. Для повышения биологической ценности продуктов перспективным направлением является использование в качестве субстрата объединенной дрожжевой и грибной биомассы [18]. В объединенной биомассе в результате взаимообогащения компонентного состава дрожжей *S. cerevisiae* и гриба *A. oryzae* общее содержание аминокислот увеличилось в 1,5 раза за счет более высокого содержания белка в дрожжах. Отмечена тенденция повышения биологической ценности белковых веществ объединенной биомассы по сравнению с дрожжевой. Это позволит

расширить спектр функциональных свойств ингредиентов, получаемых на их основе.

Подобный алгоритм получения пептидно-аминокислотных ингредиентов, как было описано ранее, использовался в процессах направленной биокаталитической конверсии полимеров объединенной биомассы. В зависимости от условий ферментативного гидролиза полимеров микробной биомассы изменялся фракционный состав ферментоллизатов [18, 57–59]. В процессе гидролиза объединенной микробной биомассы под действием внутриклеточных грибных ферментов освобождалось 26,4 % свободных аминокислот. Введение экзогенных ферментов (β -глюканазного и протеолитического действия) и увеличение продолжительности процесса позволило практически в 2,0 раза повысить степень высвобождения аминокислот из связанного состояния [18]. Также увеличивалось содержание незаменимых аминокислот в свободной форме (табл. 8) [18].

Анализ изменения молекулярной массы пептидных фракций в ферментоллизатах объединенной биомассы показал снижение содержания высокомолекулярных пептидов и увеличение количества

Таблица 8. Аминокислотный состав ферментоллизатов объединенной биомассы гриба *Aspergillus oryzae* и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Table 8. Amino acid composition of enzyme lysates in combined *Aspergillus oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae* biomass

Аминокислоты	Содержание общих и свободных аминокислот в ферментоллизате объединенной микробной биомассы, мг/г		
	Общие аминокислоты	Свободные аминокислоты	
		под действием внутриклеточных ферментов гриба	под действием экзогенных ферментов
Аспарагиновая кислота	30,06	3,57	12,87
Серин	19,25	4,25	9,82
Треонин*	15,63	6,96	10,97
Глутаминовая кислота	51,02	11,23	14,49
Пролин	14,06	2,61	7,81
Глицин	14,46	1,71	7,26
Аланин	18,37	6,30	9,13
Валин*	14,38	5,13	8,51
Метионин*	5,92	1,09	2,57
Изолейцин*	11,02	4,19	6,56
Лейцин*	23,25	5,92	11,55
Тирозин	6,02	3,04	5,50
Фенилаланин*	12,75	3,58	6,65
Гистидин	8,21	3,70	10,80
Лизин*	23,95	6,11	9,53
Триптофан*	28,62	6,44	11,30
Аргинин	9,03	4,83	7,72
Общее количество аминокислот (% от общего количества)	306,00 (100,00)	80,64 (26,40)	152,02 (49,70)
Незаменимые аминокислоты	135,42	39,40	67,62

* – незаменимые аминокислоты.

* – essential amino acids.

низкомолекулярных пептидов [18]. Полученные пептидно-аминокислотные ингредиенты содержат 75 % низкомолекулярных пептидов и до 50 % аминокислот в свободной форме – биологически активных факторов, обладающих функциональными свойствами. Быстро всасываясь в кровь, они активизируют обменные процессы организма, а каждая незаменимая аминокислота играет свою функциональную роль в протекании биохимических процессов живого организма. Наиболее высоким скором обладали такие аминокислоты, как триптофан, лизин, треонин и лейцин [18, 57]. Преобладающее наличие триптофана, характерного для грибной биомассы, придаст полученным пептидно-аминокислотным ингредиентам дополнительные функциональные свойства.

Выводы

Анализ научных публикаций по исследуемой теме показал, что микробная биомасса является потенциальным источником биологически активных соединений, обладающих важными регуляторными свойствами и оказывающих стимулирующее воздействие на многие функции организма человека.

Рассмотренные в представленном обзоре свойства микробной биомассы и механизмы биокаталитической конверсии субклеточных структур на моделях дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и мицелиальных грибов рода *Aspergillus* с получением ферментолитов, содержащих биологически активные соединения белковой природы, позволяют дополнить представления о новых подходах к созданию функциональных ингредиентов и БАД на основе использования генетического ресурса микроорганизмов.

В то же время остаются недостаточно изученными вопросы о подтвержденных медико-биологических свойствах ферментолитов микробной биомассы и их минорных биоактивных составляющих, о перспективах создания новых видов

специализированной и функциональной продукции, обогащенной пептидно-аминокислотными ингредиентами с преобладающим содержанием незаменимых аминокислот, в т. ч. в свободной форме, и низкомолекулярных пептидов. Это делает актуальными дальнейшие исследования в данном аспекте.

Таким образом, тематика использования микробной биомассы как эффективного биоресурса для получения ингредиентов, формирующих функциональные свойства пищевых продуктов, является перспективной, но требует проведения дополнительных исследований.

Критерии авторства

Е. М. Серба и Л. В. Римарева – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация литературных данных, написание статьи и ее редактирование, включающее существенные дополнения в содержании. Т. В. Юраскина, П. Ю. Таджибова, Е. Н. Соколова и Г. С. Волкова – сбор и анализ литературных данных, обработка таблиц, подготовка статьи к публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

E.M. Serba and L.V. Rimareva developed the research concept and plan, analyzed and interpreted the publications, drafted and proofread the manuscript, as well as modified the final version. T.V. Yuraskina, P.Yu. Tadzibova, E.N. Sokolova, and G.S. Volkova collected and analyzed the data, processed the tables, and prepared the manuscript.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Tutelyan VA, Nikityuk DB, Baturin AK, Vasiliev AV, Gapparov MMG, Zhilinskaya NV, et al. Nutriome as the direction of the “main blow”: Determination of physiological needs in macro and micronutrients, minor biologically active substances. Problems of Nutrition. 2020;89(4):24–34. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10039>
2. Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA. The analysis of domestic and international policy of food fortification with vitamins. Problems of Nutrition. 2016;85(2):31–50. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2016-00021>
3. Starodubova AV, Livantsova EN, Derbeneva SA, Kosyura SD, Polenova NV, Varaeva YuR. Cardiovascular nutrition: Disease management and prevention as major public health problem nowadays. Problems of Nutrition. 2020;89(4):146–160. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10049>
4. Luthringer CL, Rowe LA, Vossenaar M, Garrett GS. Regulatory monitoring of fortified foods: Identifying barriers and good practices. Global Health: Science and Practice. 2015;3(3):446–461. <https://doi.org/10.9745/GHSP-D-15-00171>
5. Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Risnik DV, Nikityuk DB, Tutelyan VA. Micronutrient status of population of the Russian federation and possibility of its correction. State of the problem. Problems of Nutrition. 2017;86(4):113–124. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00067>

6. Kodentsova VM, Zhilinskaya NV, Shpigel BI. Vitaminology: from molecular aspects to improving technology of vitamin status children and adults. *Problems of Nutrition*. 2020;89(4):89–99. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10045>
7. 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>
8. Gammel IV, Suvorova OV, Zaporozhskaya LI. The analysis of trends at Russian market of biologically active food supplements. *Medical Almanac*. 2017;51(6):154–158. (In Russ.). [Гаммель И. В., Суворова О. В., Запорожская Л. И. Анализ тенденций российского рынка биологически активных добавок к пище // Медицинский альманах. 2017. Т. 51. № 6. С. 154–158.]. <https://www.elibrary.ru/ZSMOMX>
9. Serba EM, Rimareva LV, Sokolova EN, Borshcheva YuA, Kurbatova EI, Volkova GS, *et al.* Biotechnological foundations of directed conversion of agricultural raw materials and secondary bioresources for obtaining food ingredients, functional food and feed. Moscow: BIBLIO-GLOBUS; 2017. 180 p. (In Russ.). <https://doi.org/10.18334/9785604023716>
10. Demidova TI, Andreyko VS, Panchenkov DN, Demidov DA. Non-food bioactive components of food in specialized food products for athletes nutrition. *Food Industry*. 2014;(5):78–82. (In Russ.). [Биологически активные неаллиментарные компоненты пищи в специализированных пищевых продуктах для питания спортсменов / Т. И. Демидова [и др.] // Пищевая промышленность. 2014. № 5. С. 78–82.]. <https://www.elibrary.ru/SFJKZR>
11. Mayurnikova LA, Koksharov AA, Krapiva TV, Novoselov SV. Food fortification as a preventive factor of micro-nutrient deficiency. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(1):124–139. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-124-139>
12. Khanturgaev AG, Zambalova NA, Khamagaeva IS, Boiarineva IV. Creating a biologically active supplement with synbiotic properties. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018;10(7):1683–1687.
13. Tutel'yan VA, Spirichev VB, Shatnyuk LN. Correction of micronutrient deficiency as the most important aspect of healthy nutrition in Russia. *Problems of Nutrition*. 1999;68(1):3–11. (In Russ.). [Тутельян В. А., Спиричев В. Б., Шатнюк Л. Н. Коррекция микронутриентного дефицита – важнейший аспект концепции здорового питания населения России // Вопросы питания. 1999. Т. 68. № 1. С. 3–11.]. <https://www.elibrary.ru/SBNROL>
14. Tyshko NV, Sadykova EO, Shestakova SI, Aksyuk IN. Novel food sources: from gmo to the broadening of Russia's bioresource base. *Problems of Nutrition*. 2020;89(4):100–109. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10046>
15. Polyakov VA, Rimareva LV, Serba YeM, Pogorzhel'skaya NS, Rachkov KV. Biologically active microbial origin as a factor that generates functional properties of foods. *Storage and Processing of Farm Products*. 2013;(12):43–47. (In Russ.). [Биологически активные добавки микробного происхождения как фактор, формирующий функциональные свойства пищевых продуктов / В. А. Поляков [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2013. № 12. С. 43–47.]. <https://www.elibrary.ru/RSQMPB>
16. Dhillon GS, Kaur S, Brar SK, Verma M. Green synthesis approach: Extraction of chitosan from fungus mycelia. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2013;33(4):379–403. <https://doi.org/10.3109/07388551.2012.717217>
17. Serba EM, Rimareva LV, Kurbatova EI, Volkova GS, Polyakov VA, Varlamov VP. The study of the process of enzymatic hydrolysis of yeast biomass to generate food ingredients with the specified fractional composition of protein substances. *Problems of Nutrition*. 2017;86(2):76–83. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00036>
18. Serba EM, Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI, Tadzhibova PY, Zorin SN. Production of peptides and amino acids from microbial biomass in food and feed industries: biotechnological aspects. *Foods and Raw Materials*. 2020;8(2):268–276. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-268-276>
19. Bowman SM, Free SJ. The structure and synthesis of the fungal cell wall. *BioEssays*. 2006;28(8):799–808. <https://doi.org/10.1002/bies.20441>
20. Feofilova EP. The fungal cell wall: Modern concepts of its composition and biological function. *Microbiology*. 2010;79(6):723–733. (In Russ.). [Феофилова Е. П. Клеточная стенка грибов: современные представления о составе и биологической функции // Микробиология. 2010. Т. 79. № 6. С. 723–733.]. <https://www.elibrary.ru/NBSLNX>
21. New N, Stevens WF, Tokura S, Tamura H. Characterization of chitosan-glucan complex extracted from the cell wall of fungus *Gongronella butleri* USDB 0201 by an enzymatic method. *Enzyme and Microbial Technology*. 2008;42(3):242–251. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.10.001>
22. Kalebina TS, Rekstina VV. Molecular organization of yeast cell envelope. *Molecular Biology*. 2019;53(6):850–861. <https://doi.org/10.1134/S0026893319060062>
23. Abdel-Gawad KM, Hifney AF, Fawzy MA, Gomaa M. Technology optimization of chitosan production from *Aspergillus niger* biomass and its functional activities. *Food Hydrocolloids*. 2017;63:593–601. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.001>
24. Zhang ZY, Jin B, Bai ZH, Wang XY. Production of fungal biomass protein using microfungi from winery wastewater treatment. *Bioresource Technology*. 2008;99(9):3871–3876. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.047>
25. Ogunjobi AA, Mejeha OK, Fagade OE. Protein enrichment of brewery spent grains using *Aspergillus oryzae*. *AU Journal of Technology*. 2011;15(1):53–56.

26. Brar SK, Dhillon GS, Soccol CR. Biotransformation of waste biomass into high value biochemical. New York: Springer; 2013. 504 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8005-1>
27. Serba EM, Sokolova EN, Rimareva LV, Fursova NA, Volkova GS, Kurbatova EI, et al. Promising races of baker's yeast for the production of food ingredients enriched with selenium and chromium. Problems of Nutrition. 2020;89(6):48–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10078>
28. 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>
29. Yamada EA, Scarbieri VC. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition, and nutritional and functional properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2005;53(10):3931–3936. <https://doi.org/10.1021/jf0400821>
30. Volkova GS, Belekchi AP. Screening of bacteriocin-producing strains of lactic acid bacteria to create a drug with antimicrobial properties. Storage and Processing of Farm Products. 2018;(2):66–69. (In Russ.). [Волкова Г. С., Белекчи А. П. Скрининг бактериоцинопродукующих штаммов молочнокислых бактерий для создания препарата с антимикробными свойствами // Хранение и переработка сельхозсырья. 2018. № 2. С. 66–69.]. <https://www.elibrary.ru/XURRZZ>
31. Serba EM, Tadzhibova PYu, Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI. Obtaining peptide and amino acid ingredients by enzymatic treatment of *Aspergillus oryzae* biomass. Mycology and Phytopathology. 2020;54(1):23–32. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0026364820010079>
32. Volkova GS, Kuksova EV, Serba EM. Investigation of biological interstrains and growing properties of lactic acid bacteria production strains. Relevant Issues of the Dairy Industry, Cross-Industry Technologies, and Quality Management Systems. 2020;1(1):104–109. (In Russ.). <https://doi.org/10.37442/978-5-6043854-1-8-2020-1-104-109>
33. Prosekov AYU, Dyshlyuk LS, Milentjeva IS, Sukhikh SA, Babich OO, Ivanova SA, et al. Study of biocompatibility and antitumor activity of lactic acid bacteria isolated from the human gastrointestinal tract. International Journal of Pharmacy and Technology. 2016;8(2):13647–13661.
34. De Vuyst L, van Kerrebroeck S, Leroy F. Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation. Advances in Applied Microbiology. 2017;100:49–160. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2017.02.003>
35. Settanni L, Ventimiglia G, Alfonzo A, Corona O, Miceli A, Moschetti G. An integrated technological approach to the selection of lactic acid bacteria of flour origin for sourdough production. Food Research International. 2013;54(2):1569–1578. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.017>
36. 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>
37. Sheveleva SA. Probiotics in the food industry: standards and prospects. Milk Processing. 2018;(12):16–19. (In Russ.). [Шевелева С. А. Пробиотики в пищевой индустрии: нормативная база, перспективы // Переработка молока. 2018. № 12. С. 16–19.]. <https://www.elibrary.ru/YVLZLN>
38. Serba EM, Rachkov KV, Orlova EV, Overchenko MB, Rimareva LV, Polyakov VA. The study of fractional composition of food biocorrectors of yeast biomass. Storage and Processing of Farm Products. 2013;(11):18–21. (In Russ.). [Исследование фракционного состава биокорректоров пищи из дрожжевой биомассы / Е. М. Серба [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2013. № 11. С. 18–21.]. <https://www.elibrary.ru/RSQFPD>
39. Serba EM, Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI, Shelekhova NV, Pogorzelskaya NS, et al. Biotechnological aspects of obtaining functional ingredients by the conversion of *Saccharomyces cerevisiae* 985-T biomass. Biotechnology in Russia. 2020;36(4):34–41. (In Russ.). <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2020-36-4-34-41>
40. Chang C-L, Kao T-H. Antiobesity effect of brewer's yeast biomass in animal model. Journal of Functional Foods. 2019;55:255–262. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.027>
41. Meledina TV, Davydenko SG. *Saccharomyces cerevisiae*: morphology, chemical composition, and metabolism. St. Petersburg: ITMO University; 2015. 90 p. (In Russ.). [Меледина Т. В., Давыденко С. Г. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм. СПб.: Университет ИТМО. 2015. 90 с.]. <https://www.elibrary.ru/ZUYMCB>
42. Rekstina VV, Bykova AA, Ziganshin RH, Kalebina TS. GPI-modified proteins non-covalently attached to *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell wall. Biochemistry. 2019;84(12):1867–1875. (In Russ.). [GPI модифицируемые белки, нековалентно закрепленные в клеточной стенке дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / В. В. Рекстина [и др.] // Биохимия. 2019. Т. 84. № 12. С. 1867–1875.]. <https://www.elibrary.ru/TMYBLL>
43. Felipe J, Silva Júnior MR, Maciel FMB, de Macedo Soares A, Mendes NF. Infection prevention in patients with severe multiple trauma with the immunomodulator beta-1,3 polyglucose (glucan). Surgery, Gynecology and Obstetrics. 2002;177(4):383–388.
44. Döll M, Hauss R, Spermezan R. Application observation: Immunomodulating effect of (1,3),(1,6)-D-glucan-shown on neopterin and b-defensin synthesis. Naturopathic Practice. 2005;5:676–681. (In German).
45. Lehne G, Haneberg B, Gaustad P, Johansen PW, Preus H, Abrahamsen TG. Oral administration of a new soluble branched 1,3-D-glucan is well tolerated and can lead to increased salivary concentrations of immunoglobulin A in healthy volunteers. Clinical and Experimental Immunology. 2006;143(1):65–69. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02962.x>

46. Bzducha-Wróbel A, Błażej S, Kawarska A, Stasiak-Róžańska L, Gientka I, Majewska E. Evaluation of the efficiency of different disruption methods on yeast cell wall preparation for β -glucan isolation. *Molecules*. 2014;19(12):20941–20961. <https://doi.org/10.3390/molecules191220941>
47. Kolombet LV, Zhigletsova SK, Derbyshev VV, Ezhov DV, Kosareva NI, Bystrova EV. Microfungicid – a preparation based on *Trichoderma viride* for plant diseases control. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2001;37(1):110–114.
48. Yunus F-N, Nadeem M, Rashid F. Single-cell protein production through microbial conversion of lignocellulosic residue (wheat bran) for animal feed. *Journal of the Institute of Brewing*. 2015;121(4):553–557. <https://doi.org/10.1002/jib.251>
49. Berdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *The Journal of Antibiotics*. 2012;65:385–395. <https://doi.org/10.1038/ja.2012.27>
50. Holiday J, Cleaver M. Medicinal value of the caterpillar fungi species of the genus *Cordyceps* (Fr.) Link (Ascomycetes): A review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2008;10(3):219–234. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v10.i3.30>
51. Semenova EV, Tyumentseva VR, Kozubenko AA, Chebotok VV, Borisovskaya IV. Biologically active compounds of mushrooms – a source of innovations in medicine. *Modern Problems of Science and Education*. 2020;(1). (In Russ.). [Биологически активные соединения грибов – источник инноваций в медицине / Е. В. Семенова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 1.].
52. Wang X, Li Y, Zhang X, Lai D, Zhou L. Structural diversity and biological activities of the cyclodipeptides from fungi. *Molecules*. 2017;22(12). <https://doi.org/10.3390/molecules22122026>
53. Meyer V, Andersen MR, Brakhage AA, Braus GH, Caddick MX, Cairns TC, *et al.* Current challenges of research on filamentous fungi in relation to human welfare and a sustainable bio-economy: A white paper. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2016;3. <https://doi.org/10.1186/s40694-016-0024-8>
54. Zuo S-S, Niu D-Z, Ning T-T, Zheng M-L, Jiang D, Xu C-C. Protein enrichment of sweet potato beverage residues mixed with peanut shells by *Aspergillus oryzae* and *Bacillus subtilis* using central composite design. *Waste and Biomass Valorization*. 2018;9:835–844. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9844-x>
55. Novinyuk LV, Kabanov VL, Kuznetsova LI, Parakhina OI, Kostyuchenko MN, Velinzon PZ, *et al.* Effect of chitosan from *Aspergillus niger* fungal mycelium on quality of gluten-free bread. *Baking in Russia*. 2020;(1):35–39 (In Russ.). <https://doi.org/10.37443/2073-3569-2020-1-1-35-39>
56. Novinyuk LV, Velinzon PZ, Kulev DKh. Sorption properties of chitin and chitosan-glucan bio-complexes isolated from *Aspergillus niger* fungal mycelia biomass. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2017;7(2):64–71. (In Russ.). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-2-64-71>
57. Serba EM, Rimareva LV, Overchenko MB, Sokolova EN, Pogorzelskaya NS, Ignatova NI, *et al.* Mycelia fungi – promising source of hydrolases and valuable polymers. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2016;(4):41–43. (In Russ.). [Мицелиальные грибы – перспективный источник гидролаз и ценных биополимеров / Е. М. Серба [и др.] // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2016. № 4. С. 41–43.]. <https://www.elibrary.ru/WEZWJH>
58. Rimareva LV, Krivova AYU, Serba EM, Overchenko MB, Ignatova NI, Pogorzelskaya NS, *et al.* Biological preparation based on yeast and fungal biomass rich in polysaccharides and essential amino acids. *Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN*. 2018;(3–3):28–33. (In Russ.). [Биопрепараты на основе микробной биомассы, обогащенные ценными полисахаридами и незаменимыми аминокислотами / Л. В. Римаева [и др.] // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. № 3–3. С. 28–33.]. <https://www.elibrary.ru/XWQPNR>
59. Serba E, Overchenko M, Ignatova N, Krivova A, Kurbatova E, Sokolova E, *et al.* Multipurpose utilization of the *Aspergillus oryzae* fungus – the producer of the hydrolase complex. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2018;(5):29–33. (In Russ.). [Многоцелевое использование гриба *Aspergillus oryzae* – продуцента комплекса гидролаз / Е. М. Серба [и др.] // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2018. № 5. С. 29–33.]. <https://www.elibrary.ru/YLEQVF>
60. Ward OP, Qin WM, Dhanjoon J, Ye J, Singh A. Physiology and biotechnology of *Aspergillus*. *Advances in Applied Microbiology*. 2005;58:1–75. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(05\)58001-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(05)58001-8)
61. Klis FM, Ram AFJ, De Groot PWJ. A molecular and genomic view of the fungal cell wall. In: Howard RJ, Gow NAR, editors. *Biology of the fungal cell*. Heidelberg: Springer Berlin; 2007. pp. 97–120. https://doi.org/10.1007/978-3-540-70618-2_4
62. Zhong Y, Lu X, Xing L, Ho SWA, Kwan HS. Genomic and transcriptomic comparison of *Aspergillus oryzae* strains: A case study in soy sauce koji fermentation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2018;45(9):839–853. <https://doi.org/10.1007/s10295-018-2059-8>
63. Chen L, Madl RL, Vadlani PV. Nutritional enhancement of soy meal via *Aspergillus oryzae* solid-state fermentation. *Cereal Chemistry*. 2013;90(6):529–534. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-13-0007-R>
64. Serba E, Pimenov N, Mochalina P, Overchenko M, Borscheva Yu, Sharikov A, *et al.* Production of *Aspergillus oryzae* RCAM 01133 biomass with increased protein and polysaccharides content using by-products of food industry. *Agronomy Research*. 2020;18(1):290–300. <https://doi.org/10.15159/ar.20.026>
65. Shin H-Y, Kim S-M, Lee J-H, Lim S-T. Solid-state fermentation of black rice bran with *Aspergillus awamori* and *Aspergillus oryzae*: Effects on phenolic acid composition and antioxidant activity of bran extracts. *Food Chemistry*. 2019;272:235–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.174>

66. Gow NAR, Latge J-P, Munro CA. The fungal cell wall: Structure, biosynthesis, and function. *Microbiology Spectrum*. 2017;5(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0035-2016>
67. Krogan NJ, Cagney G, Yu H, Zhong G, Guo X, Ignatchenko A. Global landscape of protein complexes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*. 2006;440:637–643. <https://doi.org/10.1038/nature04670>
68. Rimareva LV, Serba EM, Sokolova EN, Borshcheva YuA, Ignatova NI. Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry. *Problems of Nutrition*. 2017;86(5):63–74. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00078>
69. Rawlings ND, Morton FR, Barrett AJ. MEROPS: the peptidase database. *Nucleic Acides Research*. 2006;34:D270–D272. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj089>
70. Lysenko LA, Nemova NN, Kantserova NP. Proteolytic regulation of biological processes. Petrozavodsk: KarNTS RAN; 2011. 478 p. (In Russ.). [Лысенко Л. А., Немова Н. Н., Канцерова Н. П. Протеолитическая регуляция биологических процессов. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. 478 с.].
71. Serba EM, Overchenko MB, Pogorzelskaya NS, Kurbatova EI, Polyakov VA, Rimareva LV. Dependence of destruction degree in protein substances of microbe biomass on composition of proteolytic complex. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2015;(2):48–51. (In Russ.). [Зависимость степени деструкции белковых веществ микробной биомассы от состава протеолитического комплекса / Е. М. Серба [и др.] // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2015. № 2. С. 48–51.]. <https://www.elibrary.ru/TQNHCH>
72. Orlova EV, Rimareva LV. Research of antioxidant properties of preparation received on the basis of adjustable ferment hydrolysis of biomass of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Storage and Processing of Farm Products*. 2007;(11):63–64. (In Russ.). [Орлова Е. В., Римарева Л. В. Исследование антиоксидантных свойств препарата, полученного на основе регулируемого ферментативного гидролиза биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Хранение и переработка сельхозсырья. 2007. № 11. С. 63–64.]. <https://www.elibrary.ru/IIVWHN>
73. Orlova EV, Rimareva LV, Overchenko MB, Orlova VS, Serba EM. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* enzyme lysates on the cell cycle and apoptosis of transplanted tumor cells. *Biosecurity and Biosafety*. 2012;4(3):48–51. (In Russ.). [Влияние ферментализатов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на клеточный цикл и апоптоз клеток перевиваемых опухолей / Е. В. Орлова [и др.] // Биозащита и биобезопасность. 2012. Т. 4. № 3. С. 48–51.]. <https://www.elibrary.ru/PILFFP>
74. Serba EM, Rimareva LV, Yuraskina TV, Sokolova EN, Revyakina VA. Biomedical and biotechnological aspects of the production of functional ingredients based on yeast biomass. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;848. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/848/1/012208>
75. Yu KW, Kim JM, Oh SH, Chang UJ, Suh HJ. Physiological effects of yeast hydrolysate SCP-20. *Food Research International*. 2002;35(9):879–884. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00097-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00097-2)
76. Rimareva LV, Serba EM, Overchenko MB, Rachkov KV, Orlova EV, Abramova IM. The use of *Aspergillus oryzae* fungal biomass as a source of biologically active substances. *Storage and Processing of Farm Products*. 2012;(9):46–50. (In Russ.). [Использование биомассы гриба *Aspergillus oryzae* в качестве источника биологически активных веществ / Л. В. Римарева [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2012. № 9. С. 46–50.]. <https://www.elibrary.ru/PDHVVR>
77. Azad SK, Shariatmadari F, Karimi Torshizi MA. Production of zinc-enriched biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Elementology*. 2014;19(2):313–326.
78. De Nicola R, Walker G. Interaction between yeasts and zinc. In: Satyanarayana T, Kunze G, editors. *Yeast biotechnology: Diversity and applications*. Dordrecht: Springer; 2009. pp. 237–257. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8292-4_1
79. Zorin SN, Gmshinskiy IV, Burdza EA, Mazo VK. New nutritional sources of essential trace elements. Report 7. Production of autolysates of selenium-containing nutritional yeast and their physicochemical characteristic. *Pediatric Nutrition*. 2006;4(6):18–21. (In Russ.). [Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов. Сообщение 7. Получение автолизатов селеносодержащих пищевых дрожжей и их физико-химическая характеристика / С. Н. Зорин [и др.] // Вопросы детской диетологии. 2006. Т. 4. № 6. С. 18–21.]. <https://www.elibrary.ru/IAYZHZ>
80. Islammagomedova EA, Khalilova EA, Gasanov RZ, Abakarova AA. Content of mineral substances in *Saccharomyces* yeast depending on conditions of cultivation. *Herald of Daghestan Scientific Center*. 2017;(65):24–31. (In Russ.). [Содержание минеральных веществ в дрожжах рода *Saccharomyces* в зависимости от условий культивирования / Э. А. Исламгаomedова [и др.] // Вестник Дагестанского научного центра РАН. 2017. № 65. С. 24–31.]. <https://www.elibrary.ru/ZMIQCL>
81. Jach ME, Serefko A. Nutritional yeast biomass: Characterization and application. In: Holban AM, Grumezescu AM, editors. *Diet, microbiome and health. A volume in Handbook of Food Bioengineering*. Academic Press; 2018. pp. 237–270. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811440-7.00009-0>
82. Popovich YuO, Fedotov VP. The role of tryptophan and its metabolites in the pathogenesis of atopic dermatitis in patients of different age groups. *Dermatology. Cosmetology. Sexopathology*. 2015;(1–2):16–19. (In Russ.). [Попович Ю. А., Федотов В. П. Роль триптофана и его метаболитов в патогенезе атопического дерматита у больных различных возрастных групп // Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. 2015. № 1–2. С. 16–19.].
83. Orlova EV, Orlova VS, Gergert VYa. Efficacy of nucleotide biocorrector derived from baking yeast of the *Saccharomyces cerevis* genus in patients with lung tuberculosis. *Pulmonologiya*. 2007;(1):107–111. (In Russ.). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2007-0-1-107-110>

84. Latkov NYu, Vekovtsev AA, Koshelev YuA, Bakaytis VI. Relevant problems of sports nutrition. *Foods and Raw Materials*. 2015;3(1):77–85. <https://doi.org/10.12737/11241>
85. Nikityuk DB, Latkov NYu, Suslov NI, Poznyakovskiy VM. Biologically active natural complexes in resolving high-priority issues of sport nutrition. *Human. Sport. Medicine*. 2017;17(4):64–76. (In Russ.). <https://doi.org/10.14529/hsm170408>
86. Kim KS, Yun HS. Production of soluble β -glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*. 2006;39(3):496–500. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.12.020>
87. Liu Y, Wu Q, Wu X, Algharib SA, Gong F, Hu J, *et al.* Structure, preparation, modification, and bioactivities of β -glucan and mannan from yeast cell wall: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;173:445–456. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.125>
88. Kumaresapillai N, Basha RA, Sathish R. Production and evaluation of chitosan from *Aspergillus niger* MTCC strains. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2011;10(3):553–558. <https://doi.org/10.22037/IJPR.2011.1003>
89. Novinyuk LV, Kulev DH, Velinzon PZ, Sharova NYu. Isolation of chitin and chitosan glucan biopolymers from mycelial waste citric acid production. *Food Industry*. 2016;(11):30–31. (In Russ.). [Выделение хитин- и хитозанглюкановых биополимеров из мицелиальных отходов производства лимонной кислоты / Л. В. Новинюк [и др.] // Пищевая промышленность. 2016. № 11. С. 30–31.]. <https://www.elibrary.ru/XBSOPX>
90. Sharova NYu, Manzhieva BS, Printseva AA, Vybornova TV. Beta-glucans from biomass of plant and microbial origin. *Food systems*. 2019;2(1):23–26. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-1-23-26>
91. Friedman M, Juneja VK. Review of antimicrobial and antioxidative activities of chitosans in food. *Journal of Food Protection*. 2010;73(9):1737–1761. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.9.1737>
92. Tayel AA. Microbial chitosan as a biopreservative for fish sausages. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;93:41–46. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.061>
93. Alsaggaf MS, Moussa SH, Tayel AA. Application of fungal chitosan incorporated with pomegranate peel extract as edible coating for microbiological, chemical and sensorial quality enhancement of Nile tilapia filets. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;99:499–505. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.017>
94. Philibert T, Lee BH, Fabien N. Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2017;181:1314–1337. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2286-2>
95. Jouany JP, Yiannikouris A, Bertin G. The chemical bonds between mycotoxins and cell wall components of *Saccharomyces cerevisiae* have been identified. *Archiva Zootechnica*. 2005;8(4):26–50.
96. Chen J, Seviour R. Medicinal importance of fungal β -(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 6)-glucans. *Mycological Research*. 2007;111(6):635–652. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.02.011>
97. Liu D, Zeng X-A, Sun D-W, Han Z. Disruption and proteins release by ultrasonication of yeast cells. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2013;18:132–137. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.006>
98. Cerba EM, Rimareva LV, Mochalina PYu, Overchenko MB, Ignatova NI, Pogorzhe'skaya NS. Biopreparations with functional properties based on the biomass of *Aspergillus oryzae* as a hydrolase producer. *Advances in Medical Mycology*. 2018;19:215–222. (In Russ.). [Биопрепараты с функциональными свойствами на основе биомассы гриба *Aspergillus oryzae* – продуцента гидролаз / Е. М. Серба [и др.] // Успехи медицинской микологии. 2018. Т. 19. С. 215–222.]. <https://www.elibrary.ru/XQJRCP>
99. Yasyenyavskaya AL, Samotruyeva MA, Bashkina OA, Andreeva LA, Myasoedov NF, Tyurenkov IN, *et al.* Neuropeptide regulation of immunity. *Immunologiya*. 2018;39(5–6):326–336. (In Russ.). [Нейропептидная регуляция иммунитета / А. Л. Ясенявская [и др.] // Иммунология. 2018. Т. 39. № 5–6. С. 326–336.]. <https://www.elibrary.ru/KWZZZD>
100. Ashmarin IP, Koroleva SV, Myasoedov NF. Synactones – functionally conjugated complexes of endogenous regulators. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2006;69(5):3–6. (In Russ.). [Ашмарин И. П., Королева С. В., Мясоедов Н. Ф. Синактоны – функционально связанные комплексы эндогенных регуляторов. Один из путей создания новых лекарств (концептуальный обзор) // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. Т. 69. № 5. С. 3–6.]. <https://www.elibrary.ru/SZXCUL>
101. Sarmadi BH, Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*. 2010;31(10):1949–1956. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020>
102. Prosekov AYU. Biologically active peptides from whey proteins. *Milk Processing*. 2010;(5):12–13. (In Russ.). [Просеков А. Ю. Особенности получения биологически активных пептидов из белков молочной сыворотки // Переработка молока. 2010. № 5. С. 12–13.]. <https://www.elibrary.ru/VIFPJB>
103. Skata R. Bioactive peptides and probiotics for functional meat products. *Meat Technology*. 2017;(2):40–43. (In Russ.). [Ската Р. Биоактивные пептиды и пробиотики для функциональных мясных продуктов // Мясные технологии. 2017. № 2. С. 40–43.].
104. Kulikova OG, Mal'tsev DI, Il'ina AP, Burdina AV, Yamskova VP, Yamskov IA. Biologically active peptides isolated from dill *Anethum graveolens* L. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2015;51(3):362–366. <https://doi.org/10.1134/S0003683815030114>

105. Ulug SK, Jahandideh F, Wu J. Novel technologies for the production of bioactive peptides. *Trends in Food Science and Technology*. 2021;108:27–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.002>
106. Chumak AG, Rutkevich SA, Kazakevich VB, Al'fer IYu. Neurotransmitters of amino acid origin as regulators of vital body functions. *Vestnik BGU. Series 2: Chemistry. Biology. Geography*. 2011;(3):58–62. (In Russ.). [Роль нейромедиаторов аминокислотного происхождения в регуляции жизненно важных функций организма / А. Г. Чумак [и др.] // Вестник БГУ. Серия 2: Химия. Биология. География. 2011. № 3. С. 58–62.].
107. Bobiev GM, Bunyatyan ND, Sayadyan XS. Immunoactive peptides and their coordination compounds in medicine. Moscow: *Russkij vrach*; 2009. 228 p. (In Russ.). [Бобиев Г. М., Бунятян Н. Д., Саядян Х. С. Иммуноактивные пептиды и их координационные соединения в медицине. М.: Русский врач, 2009. 228 с.].
108. Faizulloeva MM, Bobizoda GM. Study of complex formation of triptophane and dipeptide of isoleucine-triptophane with zinc ion by metric titration method. *News of the National Academy of Sciences of Tajikistan. Department of Biological and Medical Sciences*. 2016;195(4):32–37. (In Russ.). [Файзуллоева М. М., Бобизода Г. М. Изучение комплексообразования триптофана и дипептида изолейцил-триптофан с ионом цинка методом рН-метрического титрования // Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение биологических и медицинских наук. 2016. Т. 195. № 4. С. 32–37.]. <https://www.elibrary.ru/ZEGGHV>
109. Moffett JR, Namboodiri MA. Tryptophan and the immune response. *Immunology and Cell Biology*. 2003;81(4):247–265. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2003.t01-1-01177.x>
110. Pishchugin FV, Tuleberdiev IT. Kinetics and mechanism of the condensation of pyridoxal hydrochloride with L-tryptophan and D-tryptophan, and the chemical transformation of their products. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2017;91(10):1648–1652. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0044453717100326>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2447>
<https://elibrary.ru/NLQENQ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние ультразвукового воздействия на эффективность процесса обезжиривания жидких лецитинов



Е. В. Лисовая*^{ID}, **Е. П. Викторова**^{ID},
А. В. Свердличенко^{ID}, **М. Р. Жане**^{ID}

Краснодарский научно-исследовательский институт хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»^{ROR}, Краснодар, Россия

Поступила в редакцию: 28.02.2023
Принята после рецензирования: 22.03.2023
Принята к публикации: 04.04.2023

*Е. В. Лисовая: e.kabalina@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-7296-6582>
Е. П. Викторова: <https://orcid.org/0000-0001-7517-3684>
А. В. Свердличенко: <https://orcid.org/0000-0002-4837-1447>
М. Р. Жане: <https://orcid.org/0000-0003-1822-0805>

© Е. В. Лисовая, Е. П. Викторова, А. В. Свердличенко,
М. Р. Жане, 2023



Аннотация.

Получение фосфолипидного изолята с высоким содержанием фосфолипидов путем обезжиривания жидкого лецитина является ресурс- и энергозатратным процессом. Исследование эффективности применения различных методов интенсификации этого процесса актуально. Метод ультразвукового воздействия – один из наиболее эффективных и простых в реализации физических методов интенсификации химико-технологических процессов. Цель работы – исследование влияния ультразвукового воздействия на эффективность процесса обезжиривания жидких лецитинов.

Объектами являлись образцы соевого лецитина (жидкий, частично обезжиренный, фосфолипидный изолят). Обезжиривание жидкого соевого лецитина с применением в качестве растворителя ацетона осуществляли в три стадии при температуре 40 °С. Продолжительность каждой стадии составила 10 мин. Соотношение лецитин:ацетон (по массе) на I стадии обезжиривания составило 1:7, на II стадии – 1:6, на III – 1:5. Системы «жидкий лецитин – ацетон» и «частично обезжиренный лецитин – ацетон» в процессе обезжиривания подвергали ультразвуковому воздействию при различной удельной мощности и продолжительности воздействия. Разделение фаз на раствор нейтральных липидов в ацетоне и фосфолипиды осуществляли фильтрованием. Фосфолипидный изолят высушивали в вакуум-сушильном шкафу под вакуумом 5 кПа при температуре 40 °С. После каждой стадии обезжиривания определяли содержание фосфолипидов в частично обезжиренных лецитинах и фосфолипидном изоляте, а также степень извлечения нейтральных липидов после отгонки растворителя из ацетоновой мисцеллы.

Установили эффективность ультразвукового воздействия при обработке систем «лецитин – ацетон» на I стадии обезжиривания с удельной мощностью 0,28 Вт/см³, на II и III стадиях – 0,36 Вт/см³. Применение ультразвукового воздействия на I и II стадиях обезжиривания в течение 3 мин, а на III стадии в течение 2 мин позволяет сократить расход ацетона в 1,2 раза и получить фосфолипидный изолят с содержанием фосфолипидов на 3,3 % выше по сравнению с обезжириванием контрольного образца (без обработки ультразвуковым воздействием).

В работе была показана эффективность применения ультразвукового воздействия для интенсификации процесса обезжиривания жидкого соевого лецитина в три стадии со снижением расхода растворителя. Разработали технологические режимы получения фосфолипидного изолята с высоким содержанием целевого компонента – собственно фосфолипидов (98,6 %), который может быть рекомендован в качестве пищевой добавки в технологиях продуктов питания.

Ключевые слова. Соевый лецитин, фосфолипиды, обезжиривание, ультразвук, интенсификация, фосфолипидный изолят

Финансирование. Исследование выполнено за счет средств гранта № 22-26-20122 Российского научного фонда (РНФ)^{ROR} и Кубанского научного фонда.

Для цитирования: Влияние ультразвукового воздействия на эффективность процесса обезжиривания жидких лецитинов / Е. В. Лисовая [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 445–454. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2447>

Effect of Ultrasonic Exposure on the Efficiency of De-Oiling Fluid Lecithins



Ekaterina V. Lisovaya*, Elena P. Viktorova, Anastasia V. Sverdlichenko, Mariet R. Zhane

Krasnodar Research Institute of Storage and Processing of Agricultural Products, – branch of the North-Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture and Winemaking, Krasnodar, Russia

Received: 28.02.2023

Revised: 22.03.2023

Accepted: 04.04.2023

*Ekaterina V. Lisovaya: e.kabalina@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-7296-6582>

Elena P. Viktorova: <https://orcid.org/0000-0001-7517-3684>

Anastasia V. Sverdlichenko: <https://orcid.org/0000-0002-4837-1447>

Mariet R. Zhane: <https://orcid.org/0000-0003-1822-0805>

© E.V. Lisovaya, E.P. Viktorova, A.V. Sverdlichenko, M.R. Zhane, 2023



Abstract.

De-oiling fluid lecithin is a resource- and energy-intensive process that provides a phospholipid isolate with a high content of phospholipids. Ultrasonic exposure is one of the most effective and easy-to-implement physical methods that intensify this chemical-technological procedure. This article describes the effect of ultrasonic exposure on the efficiency of de-oiling fluid lecithins.

The research featured soy lecithin (fluid, partially de-oiled, phospholipid isolate). The de-oiling process involved acetone as a solvent and included three 10-min stages at a temperature of 40°C. The ratio of lecithin:acetone (by weight) was as follows: stage I – 1:7, stage II – 1:6, stage III – 1:5. The systems of fluid lecithin – acetone and partially de-oiled lecithin – acetone underwent ultrasonic treatment during the de-oiling process at different specific power and exposure time. As a result of filtration, phases separated into an acetone solution of neutral lipids and phospholipids. The phospholipid isolate was dried in a vacuum oven at 5 kPa and 40°C. Each stage ended with the following measurements: the content of phospholipids in partially de-oiled lecithins, the content of phospholipids in the phospholipid isolate, and the extraction degree of neutral lipids after distilling the solvent from the acetone miscella.

The specific power in the lecithin – acetone system was 0.28 W/cm³ at de-oiling stage I and 0.36 W/cm³ at stages II and III. Three minutes of ultrasonic exposure at stages I and II and two minutes at stage III reduced the acetone consumption by 1.2 times. The resulting phospholipid isolate yielded by 3.3% more phospholipids than the control sample, which presupposed no ultrasonic treatment.

Ultrasonic exposure proved to be an effective and solvent-saving three-stage method that intensified the process of de-oiling fluid soy lecithin. The study specified the optimal technological modes for obtaining a phospholipid isolate with a high content of phospholipids (98.6%), which can be recommended as a food additive.

Keywords. Fluid soy lecithin, phospholipids, de-oiling, ultrasound, intensification, phospholipid isolate

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation (RSF) and the Kuban Science Foundation, grant No. 22-26-20122.

For citation: Lisovaya EV, Viktorova EP, Sverdlichenko AV, Zhane MR. Effect of Ultrasonic Exposure on the Efficiency of De-Oiling Fluid Lecithins. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):445–454. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2447>

Введение

Пищевая добавка лецитин (E322) в технологиях продуктов питания выполняет большое количество технологических функций, а именно функции эмульгатора, пенообразователя, смачивающего агента, диспергатора, ингибитора кристаллизации и др., которые обеспечивают высокую эффективность производственных процессов и высокое качество готового продукта [1–4]. Помимо технологических

функций, лецитины обладают биоактивным действием – антиоксидантным, гипохолестеринемическим, гиполипидемическим и гепатопротекторным. Это объясняет их широкое применение в технологиях лекарственных препаратов и косметических средств [5–7].

Уникальные свойства лецитинов обусловлены входящими в их состав природными биологическими активными соединениями – фосфолипидами.

Эффективность проявления указанных выше свойств зависит от состава и содержания фосфолипидов в лецитине [8, 9].

Стандартные жидкие лецитины, получаемые в результате гидратации из нерафинированных растительных масел, содержат, помимо фосфолипидов, до 40 % нейтральных липидов – триацилглицеринов и свободных жирных кислот [10]. Присутствие нейтральных липидов в жидком лецитине в большом количестве, следовательно, более низкая концентрация целевого компонента – фосфолипидов – ограничивает область их применения.

В результате обезжиривания путем экстракции нейтральных липидов с использованием селективного растворителя получают очищенный продукт, т. е. фосфолипидный изолят, с содержанием не менее 96 % фосфолипидов в виде порошка или гранул [11, 12].

Обезжиренные лецитины за счет удаления нейтральных липидов, некоторого количества гликолипидов, красящих и ароматических веществ характеризуются повышением эмульгирующей способности и диспергируемости в воде, а также более нейтральным вкусом по сравнению с жидким лецитином [12, 13]. Преимуществом использования обезжиренных лецитинов в различных отраслях пищевой промышленности, помимо высокой технологической функциональности, является удобство и точность их дозирования [14].

Для получения фосфолипидного изолята с высокой концентрацией целевого компонента в процессе обезжиривания жидких лецитинов значение имеет выбор растворителя, в котором полностью растворяются триацилглицерины и свободные жирные кислоты, а фосфолипиды при определенных условиях нет [15].

В качестве растворителя для проведения процесса обезжиривания наиболее широко применяют ацетон, т. к. практически все индивидуальные группы фосфолипидов не растворяются в нем, в отличие от других органических растворителей (табл. 1), а нейтральные липиды растворяются полностью [12, 15, 16].

Процесс обезжиривания фосфолипидных продуктов (жидких лецитинов и фосфолипидных концентратов) осуществляют с использованием больших объемов растворителя, что приводит к увеличению энергозатрат на его регенерацию [17, 18]. Снижение расхода ацетона не позволяет получить высокий выход целевого продукта, т. е. фосфолипидного изолята.

Актуальными являются исследования, направленные на изучение влияния различных методов интенсификации процессов в пищевой промышленности, позволяющих, во-первых, снизить энерго- и ресурсозатратность (высокие потери и расходы селективного растворителя) известных технологий, во-

Таблица 1. Растворимость некоторых индивидуальных групп фосфолипидов в органических растворителях

Table 1. Solubility of some phospholipids in organic solvents

Наименование индивидуальной группы фосфолипидов	Растворимость в органическом растворителе		
	Гексан	Этанол	Ацетон
Фосфатидилхолины	+	+	–
Фосфатидилэтаноламины	+	+/-	–
Фосфатидилинозитолы	+	–	–
Лизофосфолипиды	+/-	+	–
Фосфатидные кислоты	+	–	+/-

вторых, получить продукт с высокой концентрацией целевого компонента и заданными свойствами.

Наиболее эффективным и простым в реализации физическим методом интенсификации процесса обезжиривания жидких лецитинов является метод ультразвукового (УЗ) воздействия. Эффективность применения УЗ-воздействия в химико-технологических процессах обусловлена интенсификацией перемешивания, в том числе на границе раздела фаз, и массо- и энергопереноса [19–22]. Целесообразность использования УЗ-воздействия в процессе обезжиривания жидких лецитинов обусловлена не только возможностью сокращения расхода экстрагента – ацетона, но и возможностью получения высококачественного продукта с высоким содержанием целевого компонента, т. е. фосфолипидов.

Целью работы являлось исследование влияния УЗ-воздействия на эффективность процесса обезжиривания жидких лецитинов.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись жидкий лецитин, который получили из нерафинированного соевого масла, выработанного из семян сои современной отечественной селекции в условиях ООО «Центр Сою» (Краснодарский край, ст. Тбилисская), частично обезжиренные лецитины, полученные на I и II стадиях обезжиривания, и фосфолипидный изолят, полученный после III стадии обезжиривания жидкого соевого лецитина.

Исходное содержание в жидком соевом лецитине веществ, нерастворимых в ацетоне и характеризующих содержание полярных липидов, т. е. фосфолипидов, составило 62,5 %; содержание веществ, растворимых в ацетоне и характеризующих содержание нейтральных липидов, т. е. триацилглицеринов и свободных жирных кислот, – 37,0 %; содержание веществ, нерастворимых в толуоле, – 0,16 %; содержание влаги и летучих веществ – 0,34 %. Кислотное число жидкого соевого лецитина равно 25,8 мгКОН/г, а перекисное число – 3,5 ммоль активного кислорода/кг.

Для осуществления процесса обезжиривания жидкого соевого лецитина использовали лабораторную реакторную систему LR-2.ST Package 3 Laboratory (IKA, Германия), оснащенную верхнеприводной мешалкой Eurostar 200 Control P4 с повышенным крутящим моментом, вакуумным насосом и термостатом для точного поддержания заданной температуры. Разделение фаз на раствор нейтральных липидов в ацетоне (ацетоновую мисцеллу) и фосфолипиды осуществляли фильтрованием. Сушку фосфолипидного изолята проводили в вакуум-сушильном шкафу VD 56 (Binder, Германия) под вакуумом 5 кПа при температуре 40 °С. Отгонку растворителя из ацетоновой мисцеллы осуществляли с помощью роторного испарителя IKA RV 10 Digital (IKA, Германия).

Обезжиривание жидкого соевого лецитина с применением в качестве растворителя ацетона осуществляли в три стадии. На каждой стадии одинаковыми были температура (40 °С) и продолжительность процесса обезжиривания (10 мин с интенсивностью перемешивания, характеризующейся частотой вращения мешалки 20 с⁻¹), а соотношение лецитин:ацетон (по массе) различными: 1:7 – на I стадии процесса обезжиривания, 1:6 – на II стадии, 1:5 – на III стадии.

Обработку УЗ-воздействием систем «жидкий лецитин – ацетон» и «частично обезжиренный лецитин – ацетон» в процессе обезжиривания осуществляли с помощью ультразвукового аппарата Волна (модель УЗТА-0,4/22-ОМ, ООО «Центр ультразвуковых технологий», Россия).

В качестве критерия эффективности процесса обезжиривания выбрали степень извлечения нейтральных липидов из жидкого лецитина ($C_{\text{нл}}$, %), которую определяли на каждой стадии обезжиривания по формуле (1):

$$C_{\text{нл}} = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

где m_1 – масса нейтральных липидов в лецитине, подаваемом на стадию обезжиривания, г; m_2 – масса нейтральных липидов в ацетоновой мисцелле после отгонки ацетона, г.

Определение содержания веществ, нерастворимых в ацетоне (фосфолипидов), в частично обезжиренных лецитинах осуществляли следующим образом. После окончания процесса обезжиривания на I и II стадиях осадок, полученный в результате фильтрования, сушили под вакуумом (5 кПа) при температуре 40 °С. Высушенный осадок измельчали с помощью лабораторной мельницы до получения однородного продукта. Отбирали пробу частично обезжиренного лецитина массой 5 г и многократно промывали предварительно охлажденным до 0 °С ацетоном до полного обезжиривания с последующим высушиванием и взвешиванием полученного

осадка. Расчет содержания веществ, нерастворимых в ацетоне (фосфолипидов), в частично обезжиренных лецитинах, которые получили на I и II стадиях, проводили по ГОСТ 35052-2013.

Содержание веществ, нерастворимых в ацетоне (фосфолипидов), веществ, нерастворимых в толуоле, влаги и летучих веществ, кислотного и перекисного чисел в фосфолипидном изоляте определяли по методикам согласно ГОСТ 35052-2013.

Содержание в фосфолипидном изоляте веществ, растворимых в ацетоне, т. е. нейтральных липидов (НЛ, %), определяли по формуле:

$$\text{НЛ} = 100 - (C_{\text{ф}} + C_{\text{т}} + C_{\text{в}}) \quad (2)$$

где $C_{\text{ф}}$ – содержание веществ, нерастворимых в ацетоне (фосфолипидов), %; $C_{\text{т}}$ – содержание веществ, нерастворимых в толуоле, %; $C_{\text{в}}$ – содержание влаги и летучих веществ, %.

Экспериментальные данные обрабатывали статистически с использованием пакета программ Statistica 12.0. Для проверки статистической значимости различий сравниваемых показателей использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Эффективность обработки УЗ-воздействием системы «лецитин – ацетон» в процессе обезжиривания жидкого лецитина будет зависеть от мощности, отнесенной к объему обрабатываемой системы (удельной мощности), и продолжительности обработки.

На первом этапе исследовали влияние обработки УЗ-воздействием системы «лецитин – ацетон» с различной удельной мощностью на степень извлечения нейтральных липидов ($C_{\text{нл}}$) на I, II и III стадиях обезжиривания жидкого лецитина по сравнению с $C_{\text{нл}}$ на указанных стадиях обезжиривания контрольного образца без УЗ-воздействия (рис. 1). Продолжительность УЗ-воздействия была постоянной и составляла 1 мин. Каждую стадию процесса обезжиривания жидкого лецитина проводили по разработанному ранее технологическому режиму. Общая продолжительность процесса обезжиривания составила 10 мин: 9 мин – интенсивное перемешивание с частотой вращения мешалки 20 с⁻¹, 1 мин – обработка УЗ-воздействием. Обезжиривание контрольного образца проводили без обработки УЗ-воздействием.

Из данных рисунка 1а видно, что на I стадии обезжиривания при увеличении удельной мощности УЗ-воздействия на систему «жидкий лецитин – ацетон» до 0,28 Вт/см³ $C_{\text{нл}}$ из жидкого лецитина повышается на 2,0 %, по сравнению с $C_{\text{нл}}$ из контрольного образца, – 46,1 против 44,1 %. При

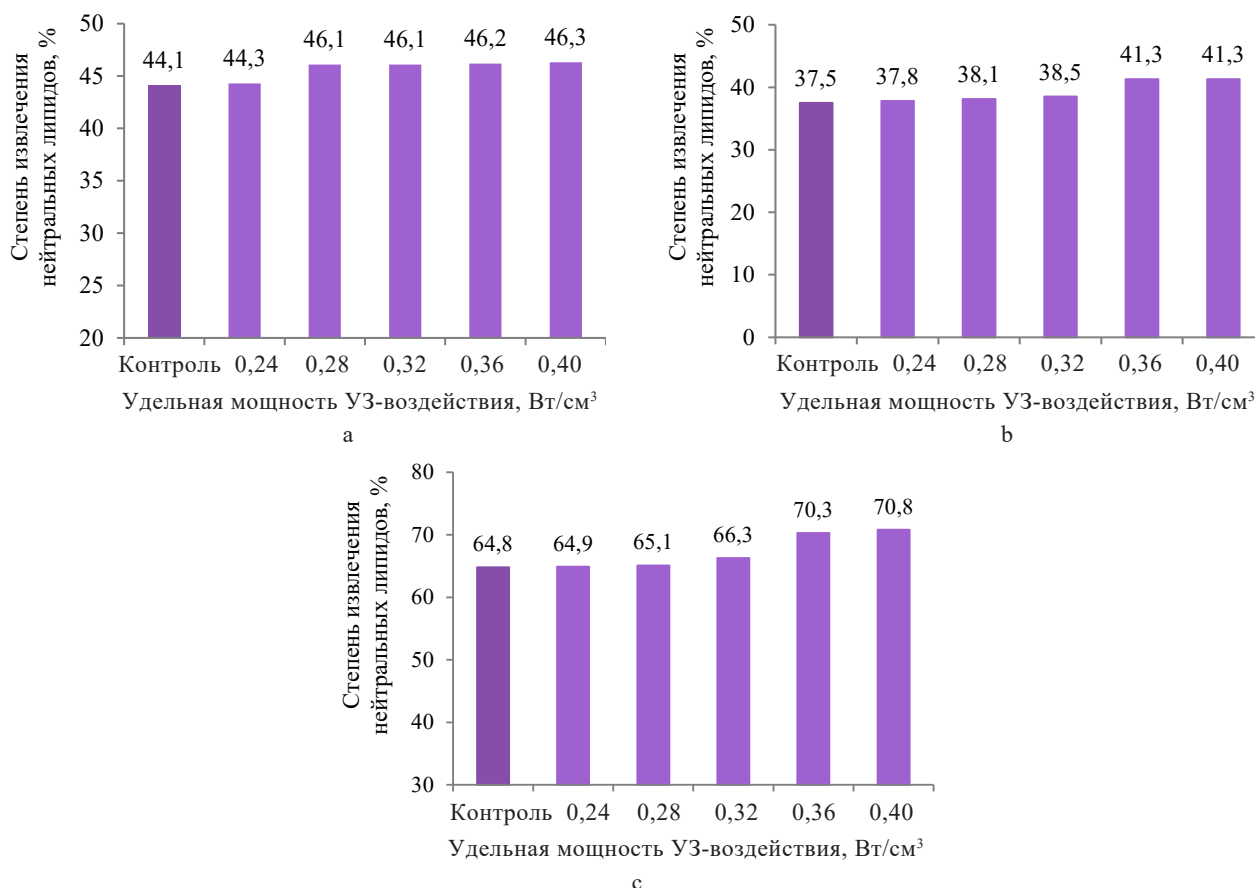


Рисунок 1. Влияние обработки УЗ-воздействием системы «лецитин – ацетон» с различной удельной мощностью на степень извлечения нейтральных $C_{\text{нл}}$ липидов на I стадии (а), II стадии (b) и III стадии (с) в процессе обезжиривания лецитина

Figure 1. Effect of ultrasonic exposure on lecithin – acetone system at different specific powers: extraction degree of neutral lipids at stage I (a), stage II (b), and stage III (c)

дальнейшем увеличении удельной мощности УЗ-воздействия $C_{\text{нл}}$ из жидкого лецитина изменяется незначительно.

Для повышения $C_{\text{нл}}$ из частично обезжиренного лецитина на II и III стадиях обезжиривания, по сравнению с $C_{\text{нл}}$ из контрольного образца, необходимо увеличение удельной мощности УЗ-воздействия при обработке систем «частично обезжиренный лецитин – ацетон» на указанных стадиях до 0,36 Вт/см³ (рис. 1b и 1c). Это связано с тем, что процесс извлечения нейтральных липидов из жидкого лецитина на I стадии происходит в системе «жидкость – жидкость», а на II и III стадиях в системе «твердое тело – жидкость», в которой при образовании твердой фазы снижается диффузия растворителя и эффективность извлечения нейтральных липидов.

Таким образом, установлена эффективность УЗ-воздействия при обработке систем «лецитин – ацетон» на I стадии обезжиривания с удельной мощностью 0,28 Вт/см³, на II и III стадиях – 0,36 Вт/см³.

В результате обработки системы «лецитин – ацетон» на каждой стадии процесса обезжиривания жидкого лецитина УЗ-воздействием при установленных эффективных значениях удельной мощности получили фосфолипидный изолят с содержанием целевого компонента (фосфолипидов) 96,2 %. Содержание фосфолипидов в контрольном образце фосфолипидного изолята, полученного без обработки УЗ-воздействия в процессе обезжиривания, составило 95,3 %.

На следующем этапе с целью сокращения количества экстрагента (ацетона) без отрицательного влияния на содержание целевого компонента в получаемом фосфолипидном изоляте проводили оптимизацию следующих факторов процесса обезжиривания: соотношение лецитин:ацетон (X_a) и продолжительность УЗ-воздействия (X_b) на каждой стадии процесса обезжиривания с применением методологии поверхности отклика (RSM). Влияние указанных факторов оценивали с помощью двухфакторного эксперимента. В качестве функций

отклика использовали степень извлечения нейтральных липидов на каждой стадии процесса обезжиривания лецитина, а также содержание целевого компонента – фосфолипидов (C_{ϕ}) – в частично обезжиренных лецитинах, полученных на I и II стадиях, и в фосфолипидном изоляте, полученном на III стадии.

В таблице 2 приведены данные, характеризующие влияние переменных факторов на функции отклика, а на рисунках 2–4 – их графическая интерпретация.

Обработку УЗ-воздействием системы «жидкий лецитин – ацетон» на I стадии обезжиривания проводили с удельной мощностью $0,28 \text{ Вт/см}^3$, на II и III стадиях – $0,36 \text{ Вт/см}^3$. Учитывая, что УЗ-воздействие является высокоэнергетическим методом, в результате которого повышается температура системы, то УЗ-воздействие осуществляли дискретно с перерывом в 10 с через каждую минуту обработки.

Из данных рисунков 2а, 3а и 4а видно, что при увеличении продолжительности УЗ-воздействия на

Таблица 2. Влияние переменных факторов на функции отклика на стадиях процесса обезжиривания жидкого лецитина

Table 2. Effect of variable factors on response functions at different de-oiling stages

№ опыта	Переменные факторы						Функции отклика ($C_{\text{нл}}$ и C_{ϕ} , %) на стадии обезжиривания					
	X_a	X_b	X_{aI}	X_{aII}	X_{aIII}	X_b	I		II		III	
							$C_{\text{нл}}$	C_{ϕ}	$C_{\text{нл}}$	C_{ϕ}	$C_{\text{нл}}$	C_{ϕ}
1	–1	–2	1:5	1:4	1:3	1	$30,8 \pm 0,2$	$73,9 \pm 0,2$	$20,8 \pm 0,1$	$85,1 \pm 0,2$	$23,6 \pm 0,2$	$91,6 \pm 0,1$
2	0	–2	1:6	1:5	1:4	1	$41,4 \pm 0,1$	$77,8 \pm 0,1$	$28,6 \pm 0,3$	$86,6 \pm 0,1$	$68,8 \pm 0,1$	$96,5 \pm 0,2$
3	+1	–2	1:7	1:6	1:5	1	$46,0 \pm 0,2$	$79,5 \pm 0,3$	$34,0 \pm 0,2$	$87,6 \pm 0,2$	$69,1 \pm 0,2$	$96,5 \pm 0,1$
4	–1	–1	1:5	1:4	1:3	2	$38,4 \pm 0,1$	$76,7 \pm 0,2$	$25,1 \pm 0,3$	$85,9 \pm 0,3$	$40,6 \pm 0,1$	$93,4 \pm 0,2$
5	0	–1	1:6	1:5	1:4	2	$44,9 \pm 0,2$	$79,1 \pm 0,1$	$32,0 \pm 0,2$	$87,2 \pm 0,1$	$88,5 \pm 0,1$	$98,6 \pm 0,1$
6	+1	–1	1:7	1:6	1:5	2	$48,6 \pm 0,2$	$80,5 \pm 0,2$	$36,2 \pm 0,3$	$87,9 \pm 0,1$	$88,8 \pm 0,2$	$98,6 \pm 0,2$
7	–1	0	1:5	1:4	1:3	3	$41,4 \pm 0,3$	$77,8 \pm 0,1$	$34,1 \pm 0,1$	$87,6 \pm 0,2$	$41,2 \pm 0,3$	$93,5 \pm 0,2$
8	0	0	1:6	1:5	1:4	3	$49,7 \pm 0,2$	$80,9 \pm 0,3$	$42,3 \pm 0,2$	$89,1 \pm 0,1$	$88,6 \pm 0,1$	$98,6 \pm 0,2$
9	+1	0	1:7	1:6	1:5	3	$50,5 \pm 0,1$	$81,2 \pm 0,2$	$45,5 \pm 0,1$	$89,7 \pm 0,2$	$89,1 \pm 0,2$	$98,6 \pm 0,1$
10	–1	+1	1:5	1:4	1:3	4	$43,8 \pm 0,2$	$77,7 \pm 0,2$	$36,2 \pm 0,1$	$86,8 \pm 0,2$	$41,3 \pm 0,2$	$93,2 \pm 0,1$
11	0	+1	1:6	1:5	1:4	4	$50,8 \pm 0,1$	$80,3 \pm 0,1$	$44,2 \pm 0,3$	$88,2 \pm 0,3$	$89,0 \pm 0,2$	$97,6 \pm 0,2$
12	+1	+1	1:7	1:6	1:5	4	$51,2 \pm 0,2$	$80,9 \pm 0,1$	$47,1 \pm 0,1$	$89,0 \pm 0,2$	$89,4 \pm 0,1$	$98,0 \pm 0,1$

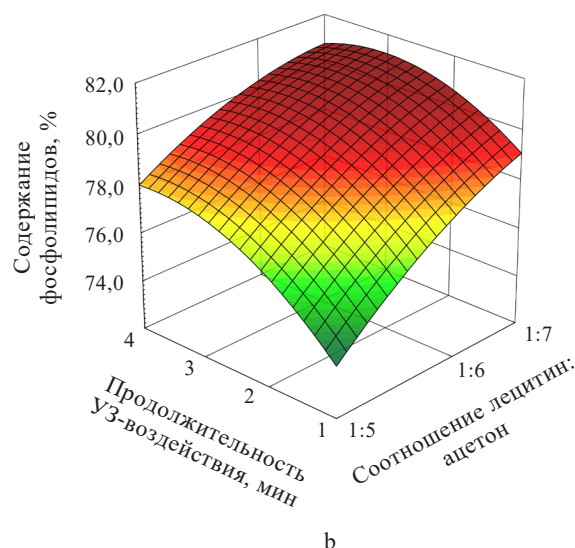
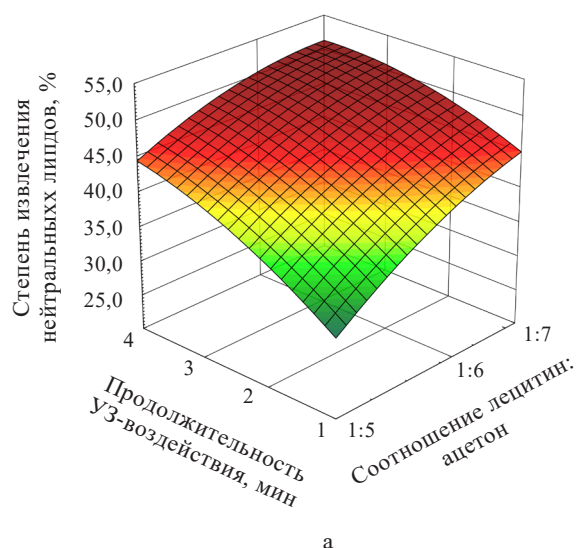


Рисунок 2. Влияние продолжительности УЗ-воздействия и соотношения лецитин:ацетон (по массе) на степень извлечения нейтральных липидов (а) в процессе обезжиривания жидкого лецитина на I стадии и на содержание фосфолипидов (б) в полученном частично обезжиренном лецитине

Figure 2. Effect of ultrasonic exposure time and lecithin:acetone ratio (by weight) on extraction degree of neutral lipids (a) and on content of phospholipids (b) in partially de-oiled lecithin: stage I

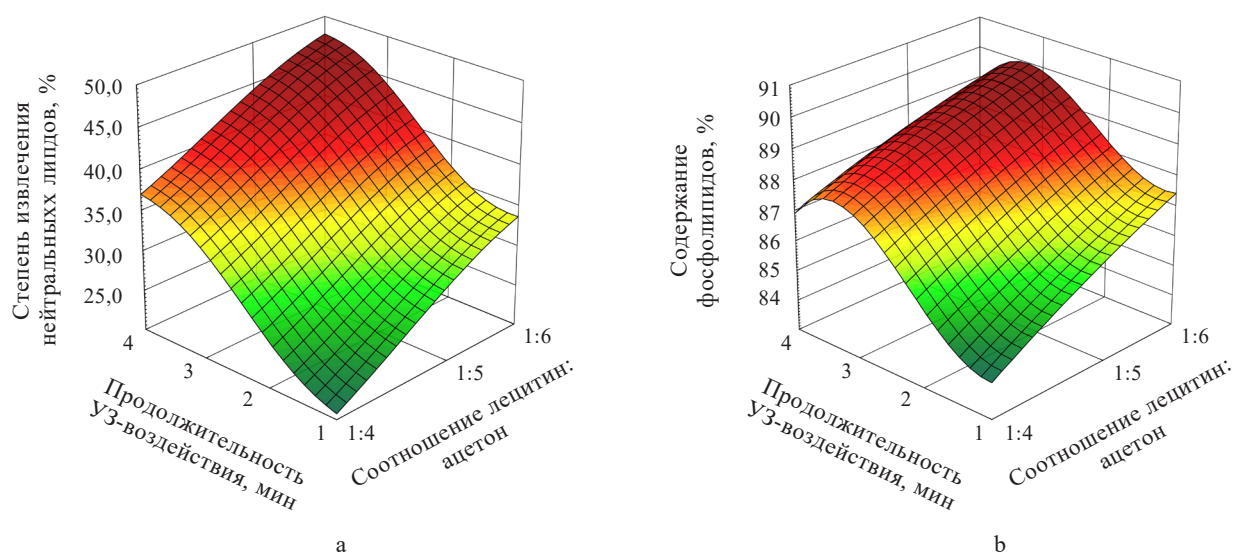


Рисунок 3. Влияние продолжительности УЗ-воздействия и соотношения лецитин:ацетон (по массе) на степень извлечения нейтральных липидов (а) в процессе обезжиривания жидкого лецитина на II стадии и на содержание фосфолипидов (б) в полученном частично обезжиренном лецитине

Figure 3. Effect of ultrasonic exposure time and lecithin:acetone ratio (by weight) on extraction degree of neutral lipids (a) and on content of phospholipids (b) in partially de-oiled lecithin: stage II

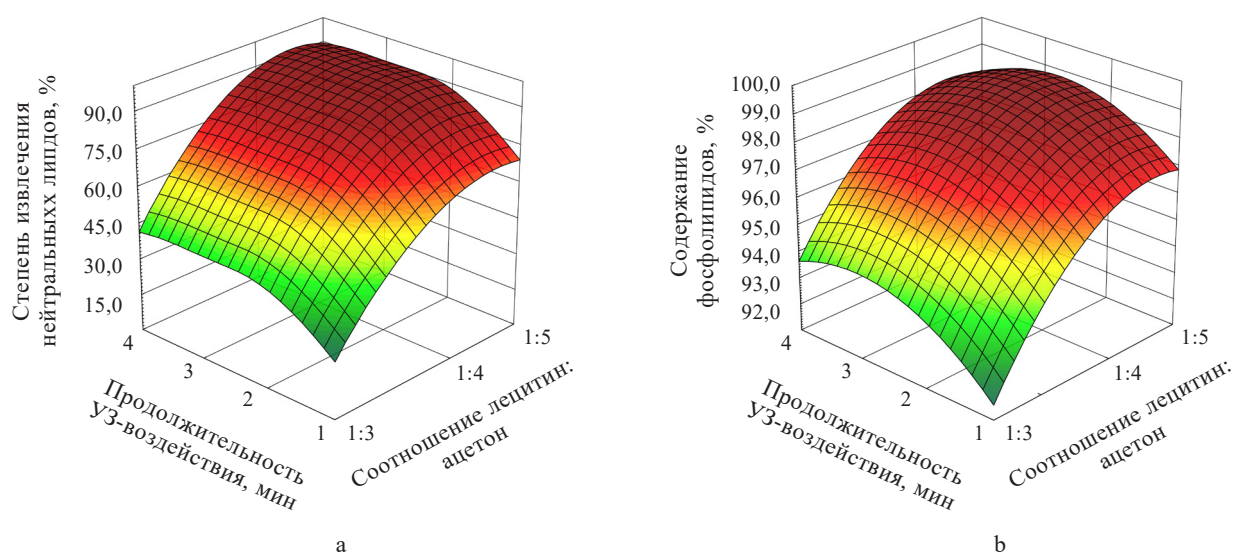


Рисунок 4. Влияние продолжительности УЗ-воздействия и соотношения лецитин:ацетон (по массе) на степень извлечения нейтральных липидов (а) в процессе обезжиривания жидкого лецитина на III стадии и на содержание фосфолипидов (б) в полученном фосфолипидном изоляте

Figure 4. Effect of ultrasonic exposure time and lecithin:acetone ratio (by weight) on extraction degree of neutral lipids (a) and on content of phospholipids (b) in phospholipid isolate: stage III

системы «лецитин – ацетон» при всех соотношениях компонентов степень извлечения нейтральных липидов на каждой стадии обезжиривания жидкого лецитина повышается. Однако из данных рисунков 2b и 3b видно, что на I и II стадиях при увеличении продолжительности УЗ-воздействия более 3 мин содержание фосфолипидов в полученных частично

обезжиренных лецитинах незначительно снижается, а на III стадии (рис. 4b) уменьшение содержания фосфолипидов в полученном фосфолипидном изоляте наблюдается при повышении продолжительности УЗ-воздействия более 2 мин. Это обусловлено частичным переходом некоторых групп фосфолипидов в ацетоновую мисцеллу.

В результате математической обработки экспериментальных данных получили уравнения, адекватно описывающие процесс обезжиривания лецитина на I, II и III стадиях с обработкой систем «лецитин – ацетон» УЗ-воздействием:

$$C_{\text{фI}} = 67,57 + 1,17X_b + 182,95X_a - 0,51X_b^2 + 13,2X_aX_b - 834,49X_a^2 \quad (3)$$

$$C_{\text{фII}} = 93,5 + 3,85X_b^2 - 0,57X_b^3 - 6,18X_a - X_b - 53,4X_a^2 + 0,76X_aX_b \quad (4)$$

$$C_{\text{фIII}} = 75,9 + 2,84X_b + 170,64X_a - 0,6X_b^2 + 2,5X_bX_a - 399X_a^2 \quad (5)$$

где $C_{\text{фI}}$ – содержание фосфолипидов в частично обезжиренном лецитине, полученном после I стадии процесса обезжиривания, %; $C_{\text{фII}}$ – содержание фосфолипидов в частично обезжиренном лецитине, полученном после II стадии процесса обезжиривания, %; $C_{\text{фIII}}$ – содержание фосфолипидов в фосфолипидном изоляте, полученном после III стадии процесса обезжиривания, %; X_a – соотношение лецитин:ацетон (по массе); X_b – продолжительность УЗ-воздействия, мин.

Коэффициент детерминации, характеризующий надежность уравнения регрессии R^2 , для уравнения (3) равен 0,9830, для уравнения (4) – 0,9752, для уравнения (5) – 0,9839.

В результате оптимизации параметров по максимизации функции отклика – содержанию фосфолипидов в частично обезжиренных лецитинах, полученных после I и II стадий, и в фосфолипидном изоляте, полученном после III стадии обезжиривания, – были установлены следующие режимы обезжиривания:

- на I стадии: продолжительность УЗ-воздействия с удельной мощностью 0,28 Вт/см³ в течение 3 мин и соотношением жидкий лецитин:ацетон (по массе) 1:6;
- на II стадии: продолжительность УЗ-воздействия с удельной мощностью 0,36 Вт/см³ в течение 3 мин и соотношением частично обезжиренный лецитин:ацетон (по массе) 1:5;
- на III стадии: продолжительность УЗ-воздействия с удельной мощностью 0,36 Вт/см³ в течение 2 мин

и соотношением частично обезжиренный лецитин:ацетон (по массе) 1:4.

Реализация указанных режимов обезжиривания на I стадии позволяет увеличить $C_{\text{нл}}$ на 5,6 %, по сравнению с $C_{\text{нл}}$ на I стадии обезжиривания контрольного образца лецитина без УЗ-воздействия, – 49,7 против 44,1 %. Соотношение жидкий лецитин:ацетон (по массе) снижается с 1:7 до 1:6.

На II стадии обезжиривания $C_{\text{нл}}$ на 4,8 % выше, по сравнению с $C_{\text{нл}}$ на III стадии обезжиривания контрольного образца лецитина без УЗ-воздействия, – 42,3 против 37,5 %. Соотношение частично обезжиренный лецитин:ацетон (по массе) снижается с 1:6 до 1:5.

На III стадии обезжиривания $C_{\text{нл}}$ на 23,6 % выше, по сравнению с $C_{\text{нл}}$ на III стадии обезжиривания контрольного образца лецитина без УЗ-воздействия, – 88,5 против 64,9 %. Соотношение частично обезжиренный лецитин:ацетон (по массе) снижается с 1:5 до 1:4.

В таблице 3 приведена сравнительная характеристика качества фосфолипидного изолята, полученного с УЗ-воздействием на системы «жидкий лецитин – ацетон» и «частично обезжиренный лецитин – ацетон», и фосфолипидного изолята, полученного без УЗ-воздействия на указанные системы (контрольный образец).

Данные, приведенные в таблице 3, позволяют сделать вывод о том, что содержание фосфолипидов в фосфолипидном изоляте, полученном по разработанным технологическим режимам процесса обезжиривания с обработкой УЗ-воздействием системы на каждой стадии, выше на 3,3 %, по сравнению с содержанием фосфолипидов в фосфолипидном изоляте, полученном в процессе обезжиривания без обработки УЗ-воздействием системы, – 98,6 против 95,3 %.

Выводы

Установили эффективность применения УЗ-воздействия для интенсификации процесса обезжиривания жидкого соевого лецитина. Определили эффективные технологические режимы процесса обезжиривания на каждой стадии:

Таблица 3. Сравнительная характеристика качества фосфолипидных изолятов

Table 3. Phospholipid isolates: comparative quality analysis

Образец фосфолипидного изолята	Содержание, %				Кислотное число, мг КОН/г	Перекисное число, ммоль О/кг
	Влаги и летучих веществ	Нерастворимых веществ		Растворимых веществ в ацетоне (нейтральных липидов)		
		в толуоле	в ацетоне (фосфолипидов)			
Контрольный (без УЗ-воздействия)	0,15 ± 0,05	0,15 ± 0,03	95,3 ± 0,1	4,4 ± 0,1	21,8 ± 0,5	3,3 ± 0,2
С УЗ-воздействием	0,15 ± 0,05	0,15 ± 0,03	98,6 ± 0,1	1,1 ± 0,1	20,5 ± 0,5	3,2 ± 0,2

– на I стадии: температура 40 °С, соотношение жидкий лецитин:ацетон (по массе) 1:6, общая продолжительность процесса обезжиривания 10 мин: 7 мин – интенсивное перемешивание с частотой вращения мешалки 20 с⁻¹, 3 мин – обработка УЗ-воздействием с удельной мощностью 0,28 Вт/см³ с дискретностью 10 с через каждую минуту обработки;

– на II стадии: температура 40 °С, соотношение частично обезжиренный лецитин:ацетон (по массе) 1:5, общая продолжительность процесса обезжиривания 10 мин: 7 мин – интенсивное перемешивание с частотой вращения мешалки 20 с⁻¹, 3 мин – обработка УЗ-воздействием с удельной мощностью 0,36 Вт/см³ с дискретностью 10 с через каждую минуту обработки;

– на III стадии: температура 40 °С, соотношение частично обезжиренный лецитин:ацетон (по массе) 1:4, общая продолжительность процесса обезжиривания 10 мин: 8 мин – интенсивное перемешивание с частотой вращения мешалки 20 с⁻¹, 2 мин – обработка УЗ-воздействием с удельной мощностью 0,36 Вт/см³ с дискретностью 10 с через каждую минуту обработки.

Таким образом, применение УЗ-воздействия в процессе обезжиривания жидкого соевого лецитина обеспечивает получение фосфолипидного изолята с более высоким содержанием целевого компонента (фосфолипидов) на 3,3 %, а также снижение расхода растворителя (ацетона) в 1,2 раза по сравнению с осуществлением процесса обезжиривания жидкого

соевого лецитина без применения УЗ-воздействия. Полученный фосфолипидный изолят может быть рекомендован в качестве пищевой добавки в технологиях продуктов питания.

Критерии авторства

Е. В. Лисовая – проведение литературного обзора по теме исследования, получение экспериментальных данных и их математическая обработка. Е. П. Викторова – разработка плана и методологии исследования, общая редакция рукописи. А. В. Свердличенко – получение экспериментальных данных. М. Р. Жане – получение экспериментальных данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

E.V. Lisovaya was responsible for the review, obtaining experimental data, and their mathematical processing. E.P. Viktorova developed the research plan, designed the methodology, and drafted the manuscript. A.V. Sverdlichenko and M.R. Zhane performed the experimental research.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Alhajj MJ, Montero N, Yarcce CJ, Salamanca CH. Lecithins from vegetable, land, and marine animal sources and their potential applications for cosmetic, food, and pharmaceutical sectors. *Cosmetics*. 2020;7(4). <https://doi.org/10.3390/cosmetics7040087>
2. Gutiérrez-Méndez N, Chavez-Garay DR, Leal-Ramos MY. Lecithins: A comprehensive review of their properties and their use in formulating microemulsions. *Journal of Food Biochemistry*. 2022;46(7). <https://doi.org/10.1111/jfbc.14157>
3. Arepally D, Reddy RS, Goswami TK, Datta AK. Biscuit baking: A review. *LWT*. 2020;131. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109726>
4. Wang M, Yan W, Zhou Y, Fan L, Liu Y, Li J. Progress in the application of lecithins in water-in-oil emulsions. *Trends in Food Science and Technology*. 2021;118:388–398. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.019>
5. Robert C, Couëdelo L, Vaysse C, Michalski MC. Vegetable lecithins: A review of their compositional diversity, impact on lipid metabolism and potential in cardiometabolic disease prevention. *Biochimie*. 2020;169:121–132. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.11.017>
6. Küllenberg D, Taylor LA, Schneider M, Massing U. Health effects of dietary phospholipids. *Lipids in Health and Disease*. 2012;11. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-3>
7. Robert C, Vaysse C, Michalski M-C. Vegetable lecithins: Their metabolic impacts as food-grade ingredients. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 2021;56(6):360–367. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2021.06.002>
8. Bot F, Cossuta D, O'Mahony JA. Inter-relationships between composition, physicochemical properties and functionality of lecithin ingredients. *Trends in Food Science and Technology*. 2021;111:261–270. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.028>
9. Lehri D, Kumari N, Singh RP, Sharma V. Composition, production, physicochemical properties and applications of lecithin obtained from rice (*Oryza sativa* L.) – A review. *Plant Science Today*. 2019;6(sp1):613–622. <https://doi.org/10.14719/pst.2019.6.sp1.682>

10. Lisovaya E, Viktorova E, Zhane M, Vorobyova O, Velikanova E. Research of the chemical composition peculiarities of food additives – vegetable lecithins for the development of methods for assessing their quality. *BIO Web of Conferences*. 2021;34. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213406009>
11. Lisovaya EV, Viktorova EP, Lisovoy VV. Analysis of the range of lecithins represented on the Russian market. *Technologies of the Food and Processing Industry of the Agro-Industrial Complex-Healthy Food Products*. 2019;28(2):51–55. (In Russ.). [Лисовая Е. В., Викторова Е. П., Лисовой В. В. Анализ ассортимента лецитинов, представленных на российском рынке // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. 2019. Т. 28. № 2. С. 51–55.]. <https://www.elibrary.ru/OHKTF5>
12. van Nieuwenhuyzen W, Tomás MC. Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2008;110(5):472–486. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800041>
13. Cabezas DM, Madoery R, Diehl BWK, Tomás MC. Emulsifying properties of different modified sunflower lecithins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2012;89(2):355–361. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1915-8>
14. Miyasaki EK, Luccas V, Kieckbusch TG. Modified soybean lecithins as inducers of the acceleration of cocoa butter crystallization. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2016;118(10):1539–1549. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500093>
15. Bueschelberger HG, Tirok S, Stoffels I, Schoeppe A. Lecithins. In: Norn V, editor. *Emulsifiers in food technology*. John Wiley and Sons, Ltd; 2014. pp. 21–60. <https://doi.org/10.1002/9781118921265.ch2>
16. Joshi A, Paratkar SG, Thorat BN. Modification of lecithin by physical, chemical and enzymatic methods. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2006;108(4):363–373. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600016>
17. Sipki RR, Naumenko YuYu, Kitainov BV. Method of preparing phospholipid food product. Russia patent RU 2184459C1. 2002. [Способ получения фосфолипидного пищевого продукта: пат. 2184459C1 Рос. Федерация. № 2001120615/13 / Сипки Р. Р., Науменко Ю. Ю., Китаинов Б. В.; заявл. 23.07.2001; опубл. 10.07.2002. 5 с.].
18. Shul'ga SM, Glukh AI, Glukh IS. Method for isolating phospholipids from a phosphatide concentrate. Ukraine patent 54922. 2010. [Способ выделения фосфолипидов из фосфатидного концентрата: пат. 54922 Украина. № u201007237 / Шульга С. М., Глух А. И., Глух И. С.; заявл. 11.06.2010; опубл. 25.11.2010.].
19. Glotova IA, Vysockaya EA, Makarkina EN, Galochkina NA, Konstantinov VE, Shahov SV. Complex processing of phospholipide fractions of unrefined vegetable oils: Analysis of innovative technical approaches. *Food Industry*. 2019;(1):32–36. (In Russ.). [Комплексная переработка фосфолипидных фракций нерафинированных растительных масел: анализ инновационных технических подходов / И. А. Глотова [и др.] // Пищевая промышленность. 2019. № 1. С. 32–36.]. <https://www.elibrary.ru/YXHENV>
20. Roselló-Soto E, Galanakis CM, Brnčić M, Orlie V, Trujillo FJ, Mawson R, et al. Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends in Food Science and Technology*. 2015;42(2):134–149. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.01.002>
21. Bredihin SA, Andreev VN, Martekha AN, Schenzle MG, Korotkiy IA. Erosion potential of ultrasonic food processing. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(2):335–344. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-335-344>
22. Paymulina AV, Potoroko IYu, Naumenko NV, Motovilov OK. Sonochemical microstructuring of sodium alginate to increase its effectiveness in bakery. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023;53(1):13–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2411>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2448>
<https://elibrary.ru/EJOPLM>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Автоматизированное определение дисперсности воздушной фазы в мороженом с применением методов машинного обучения



И. А. Королев^{ID}

Всероссийский научно-исследовательский институт холодильной промышленности^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 29.11.2022
Принята после рецензирования: 22.12.2022
Принята к публикации: 10.01.2023

И. А. Королев: i.korolev@fnpcs.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3166-2827>

© И. А. Королев, 2023



Аннотация.

Мороженое – популярный замороженный десерт, характеризующийся присутствием воздушной фазы в виде мельчайших пузырьков (средний диаметр 15–60 мкм). При создании новых рецептур мороженого необходимо учитывать влияние композиционного состава и производственных факторов на состояние воздушной фазы. Важно достоверно и с минимальными затратами времени определять ее дисперсность. Цель исследования – разработка и оптимизация алгоритма для автоматической разметки положения центров и диаметра воздушных пузырьков на микроскопических изображениях типа ограничивающая окрестность на примере мороженого, а также создание компьютерной программы.

Провел поиск и анализ статей по применению микроскопического метода исследований для оптимизации технологических параметров работы оборудования или рецептуры мороженого и замороженных десертов, опубликованных на русском и английском языках в базах данных WoS и RSCI за последние 20 лет. Выполнил сбор микроскопических изображений воздушной фазы в мороженом при помощи микроскопа Olympus CX41RF. Для написания автоматической программы разметки использовал язык программирования Python, библиотеку машинного обучения Keras и фреймворк TensorFlow. Обучение моделей выполнено при помощи видеоускорителя NVIDIA GTX.

Анализ научной литературы показал, что дисперсность воздушной фазы в мороженом зависит от его состава и параметров процесса фризирования и закалывания, а формирование воздушных пузырьков описывается теориями пенообразования. На основе ручной разметки микроскопических изображений пузырьков воздуха в мороженом создал обучающий массив данных. Определил оптимальное количество каналов в конволюционных слоях нейронной сети на базе архитектуры LeNet, которая позволила классифицировать изображения сфер/не сфер с точностью более 0,995. Установил пределы срабатывания нейронной сети при использовании метода скользящего окна: 7,5 % диаметра при боковом смещении, 12,5 % при масштабировании. Разработанный алгоритм позволяет автоматически размечать пузырьки на микроскопических изображениях. Погрешность определения среднего диаметра сфер не превышала 1,8 %.

Разработал метод автоматизированного подсчета количества и диаметра пузырьков воздуха в мороженом, который позволяет снизить трудоемкость проводимых исследований. Исходный код проекта размещен в открытом доступе и может быть адаптирован исследователями для решения своих задач в области компьютерного зрения.

Ключевые слова. Мороженое, дисперсность, пузырьки воздуха, микроскопия, машинное обучение, нейронная сеть

Финансирование. Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН.

Для цитирования: Королев И. А. Автоматизированное определение дисперсности воздушной фазы в мороженом с применением методов машинного обучения // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 455–464. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2448>

Automated Measurement of Air Bubbles Dispersion in Ice Cream Using Machine Learning Methods



Igor A. Korolev^{ID}

All-Russian Scientific Research Institute of Refrigeration Industry^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 29.11.2022
Revised: 22.12.2022
Accepted: 10.01.2023

Igor A. Korolev: i.korolev@fncps.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3166-2827>

© I.A. Korolev, 2023



Abstract.

Ice cream is a popular cold dessert. Its air phase consists of tiny bubbles with an average diameter of 15–60 μm . New ice cream formulations depend on the way the composition and production factors affect the air phase. As a result, ice cream producers need new time-saving and reliable methods to determine dispersion. The research objective was to create a computer program for marking the position of centers and diameter of air bubbles on microscopic images of a bounding circle type.

The review part included 20 years of Russian and English publications on microscopic research methods in ice cream production indexed in Web of Science and Russian Research Citation Index. Microscopic images of ice cream air phase were obtained using an Olympus CX41RF microscope with a magnification of $\times 100$. The automatic markup program employed the Python programming language, the Keras machine learning library, and the TensorFlow framework. The models were trained using the NVIDIA GTX video accelerator.

The review showed that the dispersion of ice cream air phase depends on its composition and the freezing parameters whereas bubble formation is usually described in line with the existing foaming theories. A training data set was obtained by manual labeling of microscopic images. The optimal number channels in the convolutional layers of a neural network with LeNet-type architecture was determined, which made it possible to classify images as spheres or non-spheres with an accuracy of ≥ 0.995 . The sliding window method helped to determine the limits of the neural network triggering for the sliding window method were determined, which reached 7.5% of the diameter with lateral displacement and 12.5% with scaling. The developed algorithm automatically marked bubbles on microscopic images. The error in determining the average diameter was below 1.8%.

The new method for automated calculation of the number and diameter of air bubbles in ice cream proved to be user-friendly. It can be found in public domain, and researchers are free to adapt it to solve various computer vision issues.

Keywords. Ice cream, microscopy, machine learning, markup, bounding circle, air bubbles

Funding. The article was part of state assignment to the V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Science.

For citation: Korolev IA. Automated Measurement of Air Bubbles Dispersion in Ice Cream Using Machine Learning Methods. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):455–464. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2448>

Введение

В настоящее время широко исследуются аспекты создания мороженого функциональной направленности [1]. Одними из основных задач при создании новых рецептур являются замена молочного жира или сахарозы на их заменители и внесение дополнительных ингредиентов для обогащения, обладающих биологически активными и антиоксидантными свойствами [2–5].

При исследовании влияния новых ингредиентов на качество мороженого значимость для совершенствования рецептур имеет анализ состояния микроструктурных элементов, особенно воздушной и жировой фаз [6, 7]. Для описания воздушной

фазы в мороженом в технологической практике наибольшее распространение получили два метода: макроскопический, основанный на измерении величины взбитости мороженого, и микроскопический, включающий получение и последующую обработку микрофотографий с увеличением 50–200 крат [7–9]. Иногда микроскопический метод применяется при анализе дисперсности жировой фазы, влияющей на стабильность воздушной фазы [10]. Известно использование методов трансмиссионной и криосканирующей электромикроскопии, которые применяются для анализа состояния эмульсии жира на поверхностях разделов фаз [7, 11].

Учитывая широкий ассортимент мороженого, диаметр его воздушных пузырьков может варьироваться в широких пределах: от 5–10 до 500–600 мкм, в среднем – от 15 до 60 мкм [6, 10, 12–15]. При анализе микроскопических изображений исследователи ограничиваются 200–250 сферами для одного образца из-за высокой трудоемкости использования метода ручной разметки, а в некоторых случаях используют лишь зрительную оценку без подсчета размеров [6, 10, 16].

Несмотря на наличие различного программного обеспечения, в частности ImageJ, автоматическая разметка пузырьков воздуха зачастую невозможна без применения методов машинного обучения [17]. Основными сложностями при автоматическом распознавании воздушных сфер в образцах мороженого являются отсутствие ярко выраженного градиентного перехода цветов на их границах (цвет сфер очень близок к цвету фона), возможные дефекты формы и оптические эффекты преломления света. Это приводит к погрешности такого метода, как преобразование Хоффа и более совершенных его аналогов [18].

При разработке методов автоматического анализа микроскопических изображений точность распознавания является более значимой, чем быстроедействие. Ряд исследователей активно занимается разработкой методов сегментации и разметки воздушных пузырьков для химических реакторов [19, 20]. Для использования данных методов на микроскопических изображениях пузырьков воздуха в мороженом требуется их доработка, заключающаяся в необходимости переобучения нейронных сетей для новых условий их работы. Даже простое повторение полученных специалистами в области машинного обучения результатов на практике вызывает трудности.

Целью исследования являлась разработка и оптимизация современного и сравнительно простого алгоритма для автоматической разметки положения центров и диаметра воздушных пузырьков на микроскопических изображениях мороженого и замороженных десертов (микроструктурный метод), а также создание компьютерной программы, позволяющей сократить трудозатраты исследователей за счет отказа от ручной разметки. Компьютерный код, разработанный автором, находится в открытом доступе на сайте <https://github.com/fignja/microscopy-bubbles-recognition>. Он может быть применен для автоматического определения среднего размера воздушных сфер в мороженом или адаптирован исследователями для решения схожих задач.

Отдельный интерес представляет проведение обзора и анализа технологических факторов, влияющих на дисперсность воздушной фазы в мороженом.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования выступили микроскопические изображения воздушной фазы в мороженом. Для их сбора с внутренней части порции с температурой не выше -18°C при помощи предварительно охлажденного шпателя отбирался кусочек массой 40–60 мг. Он помещался на предметное стекло и накрывался покровным стеклом. На микроскопе Olympus CX41RF осуществлялась ручная фокусировка и съемка микрофотографий воздушной фазы мороженого с увеличением $\times 100$. В каждом из образцов мороженого фотографировались не менее 10 полей в течение не более 2 мин с момента помещения образца в микроскоп. При измерениях диаметра воздушных сфер допускалось отклонение величины их среднего диаметра не более $\pm 2\%$ для каждой из микрофотографий одного образца. Для ручной разметки и подсчета сфер использовалось программное обеспечение IMAGESCOPE M. В зависимости от сложности микроизображения на его обработку ручным методом затрачивается от 2 до 30 мин [13, 14].

Для написания автоматической программы разметки воздушной фазы на изображениях использовали язык программирования Python, библиотеку машинного обучения Keras и фреймворк TensorFlow. Учитывая сравнительно малое число обучаемых параметров для представленной задачи, достаточно любой видеокарты, поддерживающей технологию CUDA и оснащенной не менее чем 4 гигабайтами видеопамяти. Однако для исследователей, желающих заняться машинным обучением, при выборе оборудования следует придерживаться принципа: чем больше видеопамяти, тем лучше, поскольку именно ее объем определяет возможность обучения глубоких нейронных сетей (состоящих из множества скрытых слоев).

Для проведения обзора литературы и анализа влияния основных технологических факторов на дисперсность воздушной фазы провели поиск статей на русском и английском языках в базах WoS и RSCI, опубликованных за последние 20 лет. Основным критерием для отбора статей было использование их авторами микроскопического метода исследований для оптимизации технологических параметров работы оборудования или рецептуры мороженого и замороженных десертов.

Анализ основных технологических параметров, влияющих на дисперсность воздушной фазы в мороженом. Существующие теории пенообразования рассматривают явление формирования и развития пузырьков воздуха как динамический баланс двух противоположенных процессов: коалесценции, возникающей под действием их внутреннего давления Лапласа, и дисперсии, возникающей под действием напряжений сдвига в движущейся жидкости [21]. Таким образом, наиболее значимыми факторами,

влияющими на размер пузырьков воздуха, являются вязкость смесей для мороженого и величина возникающих в процессе фризирования напряжений сдвига.

При фризировании основными изменяемыми параметрами могут являться продолжительность и скорость вращения мешалки фризера, а также температура выгрузки мороженого. Увеличивая скорость вращения мешалки становится возможным снижение размера воздушных пузырьков [21]. Однако чрезмерное увеличение скорости вращения вызывает нежелательный рост размеров кристаллов льда из-за локальных колебаний температуры, обусловленных теплотой от трения при интенсивном перемешивании смеси [22]. При использовании фризера периодического действия перемешивание с выключенной холодильной установкой способствует достижению меньшей взбитости мороженого в сравнении с использованием фризера с непрерывным охлаждением [7]. Если отключение охлаждения происходит в середине процесса фризирования, то величина взбитости мороженого продолжает увеличиваться. В этом случае на дисперсность воздушной фазы влияет возросшая за счет кристаллов льда вязкость продукта.

С понижением температуры выгрузки мороженого из фризера наблюдается снижение среднего размера пузырьков воздуха [23]. Однако высокая длительность процесса фризирования может способствовать росту размера кристаллов льда. В таких случаях может быть рекомендовано предварительное взбивание смеси для мороженого. Интересным техническим решением является процесс низкотемпературной экструзии мороженого при фризировании с понижением его температуры от -5 до -12 °C [24]. За счет роста вязкости мороженого с понижением температуры становится возможным почти трехкратное снижение среднего размера пузырьков воздуха: с 35 до 12 мкм, что положительно сказывается на потребительских свойствах мороженого. При низкотемпературной экструзии возрастает средний размер агломерированных частиц жира (до 2-х раз), хотя линейные размеры наибольших из них остаются близки между собой. Появляется возможность отказаться от последующего закаливания мороженого в условиях скороморозильных камер и туннелей. Сложностью при внедрении данной технологии является излишне твердая консистенция мороженого, затрудняющая процесс его формования. Исследования технологического режима фризирования сорбетов показали, что с понижением температуры кипения хладагента наблюдалось снижение размеров воздушных пузырьков и кристаллов льда за счет быстрого повышения вязкости смеси [25]. Снижению характерного размера воздушной фазы способствовала дополнительная подача воздуха во фризер.

Исследования влияния состава мороженого на дисперсность воздушной фазы разнообразны. R. K. Goraуа и др. исследовали влияние внесения в состав альгината натрия на стабильность структуры мороженого [26]. Установлено, что при производстве мороженого значение имеет не только качественный и количественный состав ингредиентов, но и технология их смешивания. Термомеханическое воздействие во фризере, кристаллообразование и коалесценция жировой фазы позволяют создать стабильную структуру мороженого и добиться его взбитости. Для мороженого на молочной основе величина взбитости может достигать 130 % и более. Известно влияние белков на вязкость смесей и величину взбитости мороженого. Опыты с замещением СОМО сывороточным концентратом, проведенные В. Н. Шохаловой с соавторами, подтвердили, что возможно добиться снижения размера пузырьков почти на 35 % при доле замещения 20 %. Повышается формоустойчивость мороженого при таянии и улучшается его консистенция [12].

В работе А. S. Akalın и др. показано, что отсутствие гомогенизации может снижать способность смеси к насыщению воздухом (взбитость), а внесение пищевых волокон способствует росту вязкости смеси и увеличению взбитости [27]. При сниженном количестве жира внесение инулина позволяет повысить вязкость смеси и взбитость мороженого [28]. Однако полная замена жира инулином приводит к снижению взбитости мороженого из-за роли жировых глобул в формировании стабилизирующей мембраны на поверхности воздушных сфер [29].

Интерес представляют наблюдения за распределением воздушных пузырьков по размерам в зависимости от рецептуры мороженого, продолжительности и условий его хранения. При хранении мороженого могут быть выделены четыре основных процесса, влияющих на дисперсность воздушной фазы: слияние (коалесценция) воздушных пузырьков, их перераспределение при повышенных температурах хранения (дренаж), созревание Оствальда и деформация под действием роста ледяных кристаллов [13].

На основании вышеизложенного следует, что на дисперсность воздушной фазы влияют качественный и количественный ингредиентный состав мороженого, способы насыщения смеси воздухом и замораживания, наличие агломерированного жира, вязкость смеси и мороженого при фризировании, температура выгрузки продукта из фризера и т. д. Для количественной оценки влияния различных факторов на дисперсность воздушной фазы необходимо достоверно измерять размер ее структурных элементов. Этому будет способствовать применение методов машинного обучения для автоматической разметки и измерения размеров пузырьков воздуха в мороженом.

Результаты и их обсуждение

Представленная к решению задача имеет ряд схожих особенностей с набором данных изображений цифр MNIST и подходов к его распознаванию [30–32]. Для обучения нейронной сети методом «с учителем» был подготовлен массив из 2300 изображений размером 32×32 пикселя с воздушными пузырьками, расположенными строго по центру, и 530 000 изображений, содержащих прочие фрагменты изображений, где воздушные сферы не находятся в центре рисунка и/или не соответствуют ему по размеру. Вид некоторых из этих изображений представлен на рисунке 1. Для аугментации обучающих данных использовалось вертикальное и горизонтальное отражение изображений сфер, а также их поворот на 90°. Это позволило увеличить количество изображений со сферами до 18 500. Полученный массив данных был разбит в соотношении 98:2 на тренировочный и тестовый.

При подготовке массива данных значение имеет выбор соотношения размеров фрагмента изображения s , передающегося для анализа, и диаметр расположенной на нем сферы воздуха d , используемых для обучения модели. При принятом нами соотношении $s/d = 1,4$ на изображении с размером 32 пикселей диаметр обнаруживаемой сферы составляет 23 пикселя. Для обнаружения сфер меньшего размера (6–20 пикселей) необходимо увеличивать фрагмент изображения, что негативно сказывается на точности работы алгоритма, или использовать другое соотношение s/d при обучении модели. Соотношение $s/d = 3$ позволяет обнаруживать сферы с диаметром 7–8 пикселей. При последующей обработке изображений возможно одновременно использовать несколько моделей, что положительно сказывается на точности и скорости работы алгоритма.

Общий вид структуры применяемой нейронной сети представлен в таблице 1 и соответствует

основным рекомендациям к проектированию нейронных сетей с архитектурой LeNet, а именно последовательное расположение слоев «2D convolution» (Conv2D + RELU), «Batch Normalization» (BN), «Maxpooling» (MP) и «Dropout» (DO) с постепенным снижением размерности слоя и пропорциональным увеличением количества конволюционных слоев [31, 32]. Выбор данной архитектуры обоснован работами [31, 32], а также результатами регулярно обновляемой таблицы лидеров MNIST с сайта kaggle.com. Для сравнительно простой задачи распознавания сфер и небольшого количества обучающих данных применение сетей ALEXNET, VGG и GoogleNet выглядит избыточным, поскольку они были созданы для классификации набора изображений ImageNet [31]. Иной порядок расположения слоев относительно используемой

Таблица 1. Структура обучаемых нейронных сетей

Table 1. Structure of trained neural networks

Слой	Размер выходных данных
Input	(None, 32, 32, 1)
Conv2D + RELU	(None, 32, 32, dim)
BatchN	(None, 32, 32, dim)
MaxPooling2D	(None, 16, 16, dim)
Dropout	(None, 16, 16, dim)
Conv2D_1 + RELU	(None, 16, 16, 2*dim)
BatchN_1	(None, 16, 16, 2*dim)
MaxPooling2D_1	(None, 8, 8, 2*dim)
Dropout_1	(None, 8, 8, 2*dim)
Conv2D_2 + RELU	(None, 8, 8, 4*dim)
BatchN_2	(None, 8, 8, 4*dim)
MaxPooling2D_2	(None, 4, 4, 4*dim)
Dropout_2	(None, 4, 4, 4*dim)
Flatten	(None, 64*dim)
Dense + RELU	(None, 32)
Dense + SIGMOID	(None, 1)

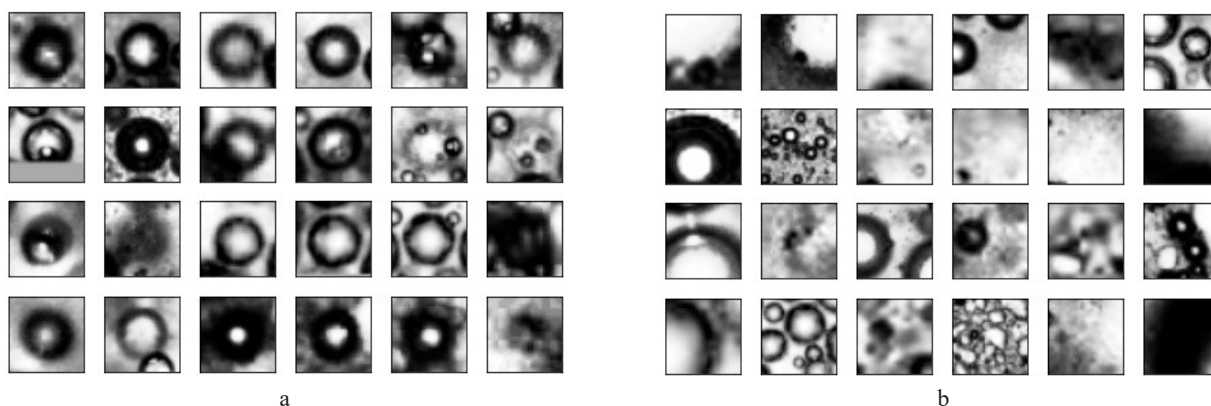


Рисунок 1. Фрагмент подготовленных для обучения модели данных: а – изображения сфер в центре фрагмента; б – изображения не сфер

Figure 1. Model training data: a – spheres; b – non-spheres

архитектуры (табл. 1) может дать небольшой положительный эффект, но при достигнутой в представленной работе точности распознавания 0,995 это не является критически значимым и может быть исследовано в дальнейших работах при одновременном увеличении массива обучающих данных.

Для анализа влияния «глубины» модели на точность распознавания варьировался параметр dim , отвечающий за количество каналов в каждом конволюционном слое. Более подробную информацию о предназначении слоев можно получить в трехтомнике [31]. Всего для оптимизации производительности обучалось четырнадцать моделей нейронных сетей. Параметр dim варьировался кратно 2 – от 1 до 64, а s/d был принят 1,4 и 3.

На рисунке 2 представлены кривые обучения, описывающие точность определения сфер для тестового массива данных с $s/d = 1,4$ в зависимости от количества обучаемых параметров модели. Все модели обучались в течение 50 эпох методом стохастического градиентного спуска с темпом обучения $\text{lr} = 0,01$. С увеличением параметра dim и глубины нейронной сети даже при неполном обучении наблюдается рост точности распознавания сфер, а при достижении $\text{dim} = 8$ точность алгоритма становится близка к 0,99. За счет объемной выборки обучающих данных и применения слоев «Dropout» переобучения модели для представленного набора данных не наблюдается.

Можно утверждать, что увеличение параметра dim больше 32 не имеет практического смысла для данной задачи, что соответствует $\approx 160 \times 10^3$ параметров в обучаемой модели. В итоговом алгоритме использованы нейронные сети с $\text{dim} = 16$

Точность их работы на тестовом и обучающем наборе данных в результате длительного обучения достигла 0,997. Уменьшение размерности модели при сохранении точности обеспечивает лучшую обобщающую способность модели и меньшие вычислительные затраты при работе алгоритма.

Для выбора параметров работы алгоритма скользящего окна при обработке микроизображений представляет интерес проанализировать, как разработанные нейронные сети при $s/d = 1,4$ реагируют на присутствие отдельного пузырька воздуха с точки зрения прогнозируемой вероятности его присутствия: при его смещении от центра изображения на заданное количество пикселей a или на его отклонение по диаметру s/d [31]. Соответствующие данные для обученных моделей при $s/d = 1,4$ показаны на рисунках 3 и 4.

Одной из особенностей воздушной сферы, взятой для данного анализа, является пятно света в центральной части. Данная особенность приводит к ложным срабатываниям у моделей с $\text{dim} = 1-4$ при $s/d = 1,6-1,9$. Для остальных моделей диапазон

срабатывания составляет 16–24 % относительно исходного диаметра сферы и снижается с каждым увеличением глубины нейронной сети. Боковое смещение скользящего окна более чем на 16 пикселей относительно центра сферы с диаметром $d = 158$ пикселей (рис. 4) является границей срабатывания

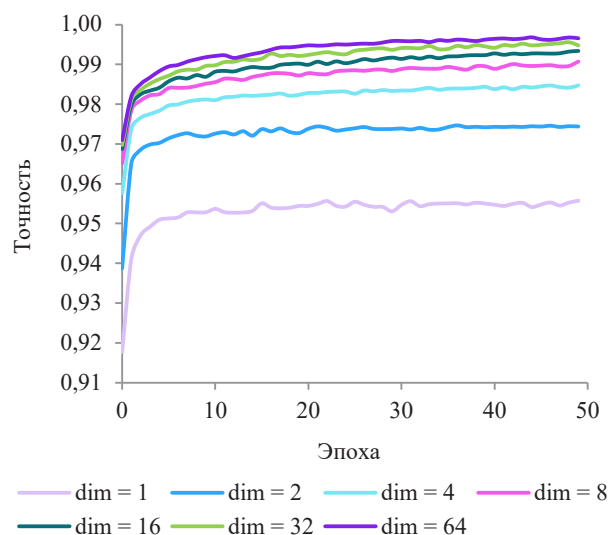


Рисунок 2. Точность распознавания воздушных сфер с $s/d = 1,4$ у нейронных сетей различной глубины на тестовой выборке

Figure 2. Labeling accuracy of the test set for air spheres with $s/d = 1.4$ during training of neural networks with different depths

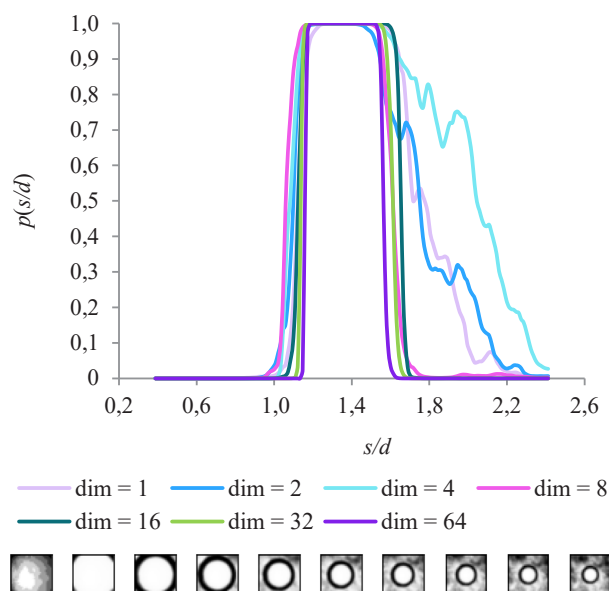


Рисунок 3. Вероятность присутствия сферы для различных моделей с учетом масштабирования скользящего окна

Figure 3. Sphere probability for various models: sliding window scaling

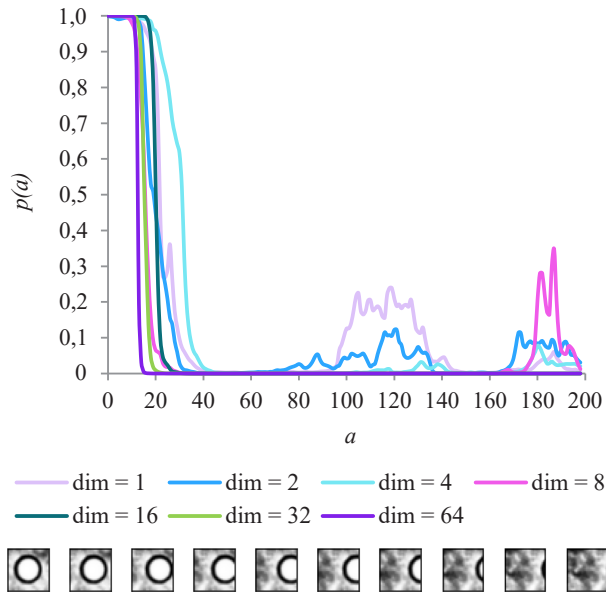


Рисунок 4. Вероятность присутствия сферы для различных моделей с учетом смещения скользящего окна от центра сферы

Figure 4. Sphere probability for various models: sliding window from the sphere center

модели. Таким образом, при последующей обработке изображений можно рекомендовать использовать шаг смещения скользящего окна не более 7,5 % от диаметра сферы и шаг масштабирования размера скользящего окна не более 12,5 %. Оптимальной величиной параметра глубины нейронной сети для данной задачи является $\text{dim} = 16$. Дальнейшее увеличение глубины модели не приведет к повышению точности работы алгоритма для имеющегося объема обучающих данных.

Учитывая проведенный анализ, был разработан следующий алгоритм разметки микроскопического изображения: шаг смещения $d_s = \max(2, \text{int}(s/3 \times 1,07))$, начальный размер скользящего окна $s = 20$ пикселей, нейронная сеть с $s/d = 3$. Скользящим окном с шагом по вертикали и горизонтали изображение нарезается на фрагменты, на которых нейронная сеть оценивает вероятность присутствия сфер p_i . Если $p_i > p_{\text{кр}}$, то координаты центра скользящего окна x_i, y_i и соответствующего диаметра сферы d_i , а также вероятность присутствия сферы p_i заносятся в отдельный массив для дальнейшей обработки. После пошагового прохода всего микроскопического изображения размер скользящего окна увеличивается на 10 %: $s = \text{int}(s \times 1,1)$, затем анализ повторяется. При достижении размером скользящего окна $s > 68$ происходит переключение на нейронную сеть с $s/d = 1,4$. Размер скользящего окна задается $s = 32$, а шаг $d_s = \max(2, \text{int}(s/1,4 \times 1,07))$. Работа алгоритма продолжается с увеличением размера

скользящего окна на 10 % после каждого цикла нарезки изображения. При достижении размером скользящего окна $s > 330$ цикл останавливается.

Проведенные опыты показали, что наилучшим образом для данного алгоритма зарекомендовал себя диапазон вероятностей $p_{\text{кр}} = 0,9975–0,9999$. При больших значениях вероятности начинается пропуск сфер, а при меньших – ложные срабатывания. Независимо от заданной вероятности присутствия воздушной сферы $p_{\text{сф}} > p_{\text{кр}}$, наблюдается несколько положительных срабатываний вблизи с ее центром и требуется дополнительная численная обработка данных. В списке координат центров сфер x_i, y_i и их диаметров d_i , полученных в результате работы скользящего окна и нейронной сети, необходимо провести объединение некоторых строк в массиве, описывающих одну и ту же сферу по следующему алгоритму.

Если

$$i \neq j \& p_i > 0,5 \& p_j > 0,5 \& \sqrt{(x_i - x_j)^2 - (y_i - y_j)^2} < 0,3:$$

$$3 \times \max(d_i, d_j) \& \frac{|d_i - d_j|}{\min(d_i, d_j)} < 0,3$$

то

$$d_n = \frac{d_i \times p_i + d_j \times p_j}{p_i + p_j}$$

$$x_n = \frac{x_i \times p_i + x_j \times p_j}{p_i + p_j}$$

$$y_n = \frac{y_i \times p_i + y_j \times p_j}{p_i + p_j}$$

то где i, j – номера сравниваемых между собой строк; n – индекс новой строки, создаваемой взамен сравниваемых; p – вероятность присутствия сферы, полученная в результате работы нейронной сети.

Результат работы программы для разметки центров и диаметров (опоясывающих окружностей) воздушных сфер, разработанной на основе алгоритма, представлен на рисунке 5 а–д. Алгоритм работает с изображениями, полученными на любом микроскопе, не только для воздушных сфер, но и для жировой фазы (рис. 5с), а также на изображениях из статей независимых исследователей (рис. 5д).

При дальнейшем анализе экспериментальных данных (на основе рис. 5а) могут быть построены графики (гистограммы) распределения количества воздушных сфер в зависимости от их диаметра: функция плотности вероятности, общий вид которой представлен на рисунке 6, и функция распределения $F(d)$ (рис. 7).

Сравнение результатов работы автоматического распознавания с помощью предложенной модели и ручной разметки (на основе рис. 5а) подтверждает адекватность работы предложенного алгоритма.

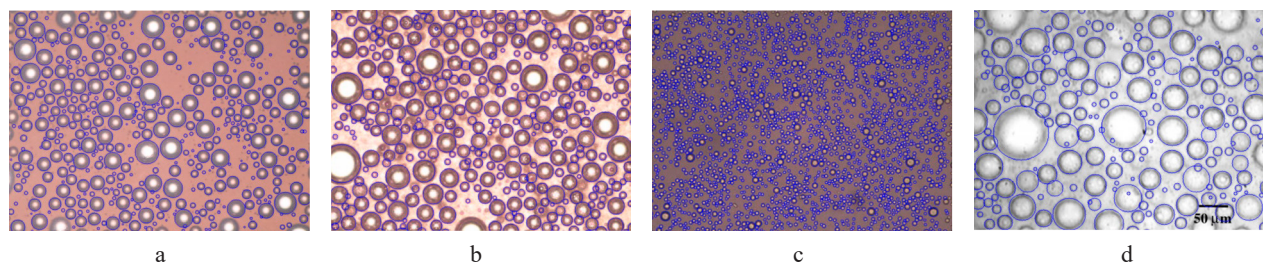


Рисунок 5. Результат работы описанного алгоритма: а, б – на воздушной фазе в образцах мороженого; с – на жировых глобулах в образце сливок; д – на воздушной фазе на микроскопическом изображении, полученном независимыми исследователями [9]

Figure 5. Algorithm at work: a, b – ice-cream air-phase samples; c – fat globules in cream samples; d – air phase on a microscopic image obtained by independent researchers [9]



Рисунок 6. Пример гистограммы распределения пузырьков воздуха по диаметру

Figure 6. Air-bubble diameter distribution

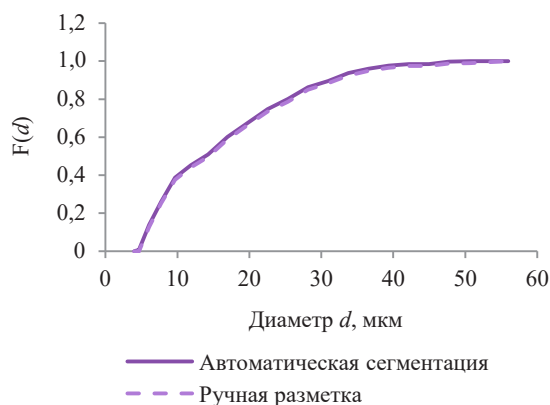


Рисунок 7. Функция вероятности распределения сфер по диаметру

Figure 7. Probability function for sphere diameter distribution

Результирующие отклонения среднего диаметра для рисунка 5а составляет 0,8 %, а общее количество неправильно распознанных сфер – 15 штук при общем их количестве 443. К достоинствам использования функции вероятности распределения следует отнести возможность быстрой оценки про-

центного количества пузырьков воздуха меньше заданного характерного диаметра, а также простоту ее аппроксимации соответствующими математическими функциями. В отличие от гистограммы она не чувствительна к выбранной ширине интервалов, которая иногда может приводить к нежелательной «шумности» графиков при малой величине выборки данных. Дальнейшие тесты на различных микроскопических изображениях мороженого подтвердили, что количество не обнаруженных воздушных сфер обычно не превышает 3–5 % от общего их числа и легко исправляется вручную. На это уходит приблизительно в 15–20 раз меньше трудозатрат, чем при ручной разметке. Погрешность определения среднего диаметра сфер (без ручных правок результатов работы автоматической разметки) не превышала 1,8 %.

Выводы

Дисперсность воздушной фазы влияет на текстуру (органолептическое восприятие потребителем консистенции и структуры) мороженого и замороженных десертов. Был проведен анализ факторов, влияющих на характерный размер воздушной фазы

в мороженом. Установлено, что дисперсность воздушной фазы в мороженом зависит от его состава и параметров процесса фризирования и закаливания. Формирование и диспергирование в продукте воздушных пузырьков подчиняется существующим теориям пенообразования, учитывающим влияние на этот процесс вязкости среды, величину и продолжительность создаваемых сдвиговых усилий и присутствие стабилизирующих агентов (применительно к мороженому агломерированных частиц жира).

Для определения дисперсности воздушной фазы в мороженом с помощью микроструктурных исследований предложено использование методов машинного обучения. На основе снятых микроскопических изображений пузырьков воздуха в мороженом создан массив данных для обучения нейронной сети. Провел оптимизацию глубины нейронной сети и на ее основе разработал алгоритм для автоматической разметки сфер на микроскопических изображениях. Определил оптимальное количество каналов в конволюционных слоях нейронной сети архитектуры близкой к LeNet, которая позволила с точностью более 0,995 классифицировать изображения сфер/не сфер.

Представленный алгоритм автоматической разметки позволяет снизить трудоемкость последующей обработки микроскопических изображений,

а количество не обнаруженных или неправильно помеченных сфер для большинства из изображений не превышает 3–5 % и легко исправляется вручную с помощью дополнительно разработанного редактора. Алгоритм легко адаптируется и работает не только с изображениями воздушных сфер, но и с жировыми глобулами в сливках, молоке и мороженом. Исходный код проекта размещен в открытом доступе и может быть адаптирован исследователями для решения своих задач в области компьютерного зрения.

Критерии авторства

И. А. Королев – обзор литературы, разметка данных для машинного обучения и разработка программы для автоматической разметки пузырьков воздуха.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

I.A. Korolev reviewed scientific publications, labeled the data for machine learning, and developed the automatic markup program for ice-cream air bubbles.

Conflict of interest

The author declared no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Genovese A, Balivo A, Salvati A, Sacchi R. Functional ice cream health benefits and sensory implications. Food Research International. 2022;161. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111858>
2. Akbari M, Eskandari MH, Davoudi Z. Application and functions of fat replacers in low-fat ice cream: A review. Trends in Food Science and Technology. 2019;86:34–40. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.036>
3. Gheisari HR, Heydari S, Basiri S. The effect of date versus sugar on sensory, physicochemical, and antioxidant properties of ice cream. Iranian Journal of Veterinary Research. 2020;21(1):9–14.
4. Arslaner A, Salik MA. Functional ice cream technology. Akademik Gıda. 2020;18(2):180–189. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.758835>
5. Ademosun AO. Glycemic properties of soursop-based ice cream enriched with moringa leaf powder. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):207–214. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-207-214>
6. Wu B, Freire DO, Hartel RW. The effect of overrun, fat destabilization, and ice cream mix viscosity on entire meltdown behavior. Journal of Food Science. 2019;84(9):2562–2571. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14743>
7. Cheng J, Ma Y, Li X, Yan T, Cui J. Effects of milk protein-polysaccharide interactions on the stability of ice cream mix model systems. Food Hydrocolloids. 2015;45:327–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.027>
8. da Silva Faresin L, Devos RJB, Reinehr CO, Colla LM. Development of ice cream with reduction of sugar and fat by the addition of inulin, *Spirulina platensis* or phycocyanin. International Journal of Gastronomy and Food Science. 2022;27. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100445>
9. Chang Y, Hartel RW. Development of air cells in a batch ice cream freezer. Journal of Food Engineering. 2002;55(1):71–78. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00243-6](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00243-6)
10. Warren MM, Richard WH. Structural, compositional, and sensorial properties of United States commercial ice cream products. Journal of Food Science. 2014;79(10):E2005–E2013. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12592>
11. Yan G, Cui Y, Lia D, Ding Y, Han J, Wang S, et al. The characteristics of soybean protein isolate obtained by synergistic modification of high hydrostatic pressure and phospholipids as a promising replacement of milk in ice cream. LWT. 2022;160. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113223>

12. Shokhalova VN, Kusin AA, Shokhalov VA, Kostyukov EM. Investigation of ice-cream air phase with a curd whey NF concentrate. *Molochnokhozyaystvenny Vestnik*. 2017;26(2):130–137. (In Russ.). [Исследование воздушной фазы мороженого, содержащего НФ-концентрат творожной сыворотки / В. Н. Шохалова [и др.] // Молочнохозяйственный вестник. 2017. Т. 26. № 2. С. 130–137.]. <https://www.elibrary.ru/ZBFZXF>
13. Gurskiy IA, Tvorogova AA, Shobanova TV. The condition of the structure of the thawed aerated sour-milk desserts during its storage. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2020;82(2):94–100. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-2-94-100>
14. Landikhovskaya AV, Tvorogova AA, Kazakova NV, Gurskiy IA. The effect of trehalose on dispersion of ice crystals and consistency of low-fat ice cream. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(3):450–459. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-450-459>
15. Gurskiy IA, Tvorogova AA. The effect of whey protein concentrates on technological and sensory quality indicators of ice cream. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(3):439–448. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2376>
16. Jing X, Chen Z, Tang Z, Tao Y, Huang Q, Wu Y, *et al.* Preparation of camellia oil oleogel and its application in an ice cream system. *LWT*. 2022;169. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113985>
17. Schroeder AB, Dobson ETA, Rueden CT, Tomancak P, Jug F, Eliceiri KW. The ImageJ ecosystem: Open-source software for image visualization, processing, and analysis. *Protein Science*. 2021;30(1):234–249. <https://doi.org/10.1002/pro.3993>
18. Ilonen J, Juránek R, Eerola T, Lensu L, Dubská M, Zemčík P, *et al.* Comparison of bubble detectors and size distribution estimators. *Pattern Recognition Letters*. 2018;101:60–66. <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2017.11.014>
19. Cui Y, Li C, Zhang W, Ning X, Shi X, Gao J, *et al.* A deep learning-based image processing method for bubble detection, segmentation, and shape reconstruction in high gas holdup sub-millimeter bubbly flows. *Chemical Engineering Journal*. 2022;449. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137859>
20. Cerqueira RFL, Paladino EE. Development of a deep learning-based image processing technique for bubble pattern recognition and shape reconstruction in dense bubbly flows. *Chemical Engineering Science*. 2021;230. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.116163>
21. Jabarkhyl S, Barigou M, Zhu S, Rayment P, Lloyd DM, Rossetti D. Foams generated from viscous non-Newtonian shear-thinning liquids in a continuous multi rotor-stator device. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2020;59. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102231>
22. Cook KKL, Hartel RW. Mechanisms of ice crystallisation in ice cream production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010;9(2):213–222. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00101.x>
23. Caillet A, Cogné C, Andrieu J, Laurent P, Rivoire A. Characterization of ice cream structure by direct optical microscopy. Influence of freezing parameters. *LWT – Food Science and Technology*. 2003;36(8):743–749. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00094-X](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00094-X)
24. Eisner MD, Wildmoser H, Windhab EJ. Air cell microstructuring in a high viscous ice cream matrix. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2005;263(1–3):390–399. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.12.017>
25. Parra ODH, Ndoye F-T, Benkhelifa H, Flick D, Alvarez G. Effect of process parameters on ice crystals and air bubbles size distributions of sorbets in a scraped surface heat exchanger. *International Journal of Refrigeration*. 2018;92:225–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2018.02.013>
26. Goraya RK, Singla M, Bajwa U, Kaur A, Pathania S. Impact of sodium alginate gelling and ingredient amalgamating order on ingredient interactions and structural stability of ice cream. *LWT*. 2021;147. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111558>
27. Akalin AS, Kesenkas H, Dinkci N, Unal G, Ozer E, Kınık O. Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability. *Journal of Dairy Science*. 2018;101(1):37–46. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13468>
28. Samakradhamrongthai RS, Jannu T, Supawan T, Khawsud A, Aumpa P, Renaldi G. Inulin application on the optimization of reduced-fat ice cream using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*. 2021;119. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106873>
29. Narala VR, Orlovs I, Jugbarde MA, Masin M. Inulin as a fat replacer in pea protein vegan ice cream and its influence on textural properties and sensory attributes. *Applied Food Research*. 2022;2(1). <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100066>
30. Baldominos A, Saez Y, Isasi P. A survey of handwritten character recognition with MNIST and EMNIST. *Applied Sciences*. 2019;9(15). <https://doi.org/10.3390/app9153169>
31. Rosebrock A. Deep learning for computer vision with python: Starter bundle. *PyImageSearch*; 2017. 330 p.
32. Prashanth DS, Mehta RVK, Ramana K, Bhaskar V. Handwritten Devanagari Character Recognition using modified lenet and alexnet convolution neural networks. *Wireless Personal Communications*. 2022;122:349–378. <https://doi.org/10.1007/s11277-021-08903-4>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2449>
<https://elibrary.ru/GIJOTA>

Original article
Available online at <https://fppt.ru/en>

Pempek Fishcake from *Channa micropeltes* with Pumpkin Puree: Quality Assessment



Rabiatul Adawyah^{ORCID}, Tri Dekayanti^{ORCID}, Ainun Aslamiah^{ORCID},
Muhammad Wahyu AS^{ORCID}, Findya Puspitasari*^{ORCID}

Lambung Mangkurat University^{ORCID}, Banjarmasin, Indonesia

Received: 04.01.2023
Revised: 24.01.2023
Accepted: 07.02.2023

*Findya Puspitasari: findya.puspitasari@ulm.ac.id,
<https://orcid.org/0000-0002-6224-6095>
Rabiatul Adawyah: <https://orcid.org/0000-0003-0673-0568>
Tri Dekayanti: <https://orcid.org/0000-0002-7001-0779>
Ainun Aslamiah: <https://orcid.org/0000-0001-7283-6534>
Muhammad Wahyu AS: <https://orcid.org/0000-0002-0020-8296>

© R. Adawyah, T. Dekayanti, A. Aslamiah, M. Wahyu AS,
F. Puspitasari, 2023



Abstract.

Pempek is an authentic traditional dish of Indonesian cuisine. As a popular food, it needs to be both tasty and nutritious. Mashed pumpkin can add some health-beneficial properties to the traditional pempek and reduce its carbohydrate content. This research featured pempek made of farmed toman fish (*Channa micropeltes*), which is an affordable raw material. The research objective was to evaluate the consumer acceptance of the experimental pempek based on its sensory assessment and a folding test. This research also revealed the proximate composition, β -carotene, and amino acids in the pempek samples. The research procedure included the following stages: making pumpkin puree; making pempek by substituting tapioca flour with pumpkin puree (control: 0%, Formulation 1: 10%, Formulation 2: 20%); sensory assessment and folding test; proximate analysis; β -carotene analysis; and amino acid analysis.

A greater proportion of pumpkin puree improved the appearance, color, aroma, flavor, and texture values of the experimental sample. Based on the folding test, the elasticity of pempek decreased as the pumpkin share increased. Pumpkin puree improved the quality of pempek in terms of its protein, moisture, ash, carbohydrate, β -carotene, and amino acid composition. Formulation 2 with 20% of tapioca flour substituted with pumpkin puree showed the best results for protein (7.91%) and amino acids (10.27%), as well as the lowest carbohydrate content (26.76%).

Mashed pumpkin proved to be an excellent substitute of tapioca flour in the traditional Indonesian pempek fishcake as it improved both its sensory profile and nutritional value.

Keywords. Giant snakehead, *Channa micropeltes*, toman fish, pempek, pumpkin, nutritional value, β -carotene, amino acids

Funding. The authors received the DIPA Fund of Lambung Mangkurat University (LMU)^{ORCID} in 2022 (No. SP DIPA - 023.17.2. 6777518/2022), according to Chancellor's Decree No. 458/UN8/PG/2022, LMU and Ministry of Education, Culture, Research and Technology, Republic of Indonesia.

For citation: Adawyah R, Dekayanti T, Aslamiah A, Wahyu AS M, Puspitasari F. Pempek Fishcake from *Channa micropeltes* with Pumpkin Puree: Quality Assessment. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):465–474. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2449>

Качество рыбных котлет «пемпек» из змееголова красного (*Channa micropeltes*) с тыквенным пюре



Р. Адавиа^{ID}, Т. Декаянти^{ID}, А. Асламиа^{ID},
 М. Уахью^{ID}, Ф. Пуспитасари*^{ID}

Университет Ламбунг Мангкурат^{ROR}, Банджармасин, Индонезия

Поступила в редакцию: 04.01.2023

Принята после рецензирования: 24.01.2023

Принята к публикации: 07.02.2023

*Ф. Пуспитасари: findya.puspitasari@ulm.ac.id,

<https://orcid.org/0000-0002-6224-6095>

Р. Адавиа: <https://orcid.org/0000-0003-0673-0568>

Т. Декаянти: <https://orcid.org/0000-0002-7001-0779>

А. Асламиа: <https://orcid.org/0000-0001-7283-6534>

М. Уахью: <https://orcid.org/0000-0002-0020-8296>

© Р. Адавиа, Т. Декаянти, А. Асламиа, М. Уахью, Ф. Пуспитасари, 2023



Аннотация.

Пемпек – традиционное блюдо индонезийской кухни, представляющее собой рыбные котлеты с добавлением муки из тапиоки. Тыквенное пюре может придать традиционному пемпеку питательные свойства и снизить содержание углеводов, поскольку популярные у населения продукты питания должны быть не только вкусными, но и полезными. Цель исследования заключалась в оценке качества пемпека, приготовленного по разработанной рецептуре из более доступного, чем традиционное сырье, и выращенного искусственным способом змееголова красного (*Channa micropeltes* или томан) с добавлением тыквенного пюре.

Исследование включало следующие этапы: подготовка тыквенного пюре; приготовление пемпека путем замены муки из тапиоки тыквенным пюре (контроль: 0 %, рецептура 1: 10 %, рецептура 2: 20 %); органолептическая оценка и испытание на порчи; анализ компонентного и аминокислотного составов; определение содержания β -каротина.

Увеличение доли тыквенного пюре улучшило внешний вид, цвет, аромат, вкус и текстуру экспериментального образца. Испытания на порчи показали, что эластичность пемпека снижалась по мере увеличения доли тыквенного пюре. Введение в рецептуру пемпека тыквенного пюре повысило качество блюда по таким аспектам, как содержание белка, влаги, золь, углеводов и β -каротина, а также аминокислотный состав. Рецептура 2, в которой 20 % муки из тапиоки было заменено тыквенным пюре, показала лучшие результаты по белку (7,91 %) и аминокислотам (10,27 %), а также наименьшее содержание углеводов (26,76 %).

Экспериментальное блюдо из филе *C. micropeltes* с добавлением тыквенного пюре получило более высокую органолептическую оценку, чем традиционные рыбные котлеты «пемпек». Его пищевая ценность оказалась выше. Исследование показало, что тыквенное пюре может успешно заменить муку из тапиоки в традиционных индонезийских рыбных котлетах «пемпек».

Ключевые слова. Гигантский змееголов, *Channa micropeltes*, рыба томан, пемпек, тыква, пищевая ценность, β -каротин, аминокислоты

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Фонда DIPA Университета Ламбунг Мангкурат^{ROR} в 2022 г. (№ СП ДИПА – 023.17.2.6777518/2022, приказ ректора № 458/UN8/PG/2022) и Министерства образования, культуры, исследований и технологий Республики Индонезия.

Для цитирования: Качество рыбных котлет «пемпек» из змееголова красного (*Channa micropeltes*) с тыквенным пюре / Р. Адавиа [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 465–474. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2449>

Introduction

Pempek is an authentic traditional food from Indonesia. It is especially popular in South Sumatra. As a rule, pempek was made of belida fish or mackerel. However, these types of fish were rare and expensive, and people started looking for an alternative raw material [1].

Snakehead, skipjack, eel, catfish, and some freshwater fish are a few of scientifically proven less expensive alternatives [2–6].

In South Kalimantan, Indonesia, pempek is made from giant snakehead fish, known in the region as toman. Toman is omni-seasonal and, as a result, more

affordable. In addition, toman can be farmed: in 2017, the production of toman fish rose from 5 to 9 tons [7]. Toman farming grows in line with its use as a raw material for semi-finished pempek. We chose toman fish for our research because it has white meat and a substantial amount of protein. As a result, it jellify-ies quite easily, thus giving pempek its characteristic texture. Fitriyani *et al.* reported that toman fish was rich in protein (24.75%) [8]. In addition, albumin protein in toman fish is beneficial for health [9, 10].

Pempek is one of the most popular dishes of Indonesian cuisine, second only to rendang and meatballs. The market price of pempek is quite reasonable and ranges from 1000 to 20 000 Indonesian rupiahs, depending on the size and type [11]. However, the traditional pempek formulation includes tapioca flour, which is notorious for its high amylopectin content. Syamsir *et al.* reported that tapioca starch had 48–50% amylopectin [12]. Amylopectin-rich starch in human diet can cause obesity. Burke proved that excessive consumption of amylopectin caused weight gain, indigestion, diarrhea, rash, and flatulence [13]. Therefore, it is necessary to find alternative materials to substitute tapioca flour in the traditional pempek.

Pumpkin has numerous health benefits: not only does it contain antioxidant vitamins and minerals, but it also reduces digestive disorders and is known to prevent diabetes and cancer [14, 15]. Pumpkin was reported to contain carotenoids (β -carotene, lutein, lycopene), polyphenols, flavonoids, polysaccharides, pectin, and dietary fiber [16–19]. The content of polysaccharides and dietary fiber in pumpkin is good for anti-diabetic diets. Therefore, the last decade has seen many studies that used pumpkin to fortify biscuits, biscuits for babies, analog rice, flakes, and bread [20–25]. Pumpkin is used as flour or puree that is easy to mix with other food ingredients. In this research, we evaluated the consumer acceptance of pumpkin-substituted pempek based on the hedonic scale and a folding test. In addition, the experimental pempek also underwent a proximate analysis and was tested for β -carotene and amino acids.

Study objects and methods

Pumpkin puree. The pumpkin was washed, peeled, and cleaned from seeds. It was then cut into several pieces, which were steamed at 100°C for 10 min. The resulting pulp went through a food processor until it reached a puree texture.

Toman fish pempek. Toman fish was scaled and washed thoroughly, then filleted to separate the flesh from the skin and bones. The resulting fillet was mashed in a food processor. After that, we mixed it with spices and tapioca flour until homogeneous. The pumpkin puree was added in the proportions specified in Table 1 and mixed until homogeneous. After giving it a traditional elongated shape (*lenjer*), we steamed it at 100°C for 10 min.

Table 1. Formulations of toman pempek with pumpkin puree

Таблица 1. Рецептуры рыбных котлет «пемпек» из *Channa micropeltes* и тыквенного пюре

Ingredients	Treatments		
	Control	Formulation 1 (10%)	Formulation 2 (20%)
Toman fillet, g	300.0	300.0	300.0
Pumpkin puree, g	0	10.0	20.0
Tapioca flour, g	100.0	90.0	80.0
Salt, g	7.5	7.5	7.5
Garlic, g	15.0	15.0	15.0
Water, mL	110.0	110.0	110.0

Sensory assessment and folding test. The samples were tested for appearance, color, aroma, flavor, and texture on a hedonic scale from 1 to 9 as stated in Indonesian National Standard No. 01 2346-2006 Instructions for organoleptic and or sensory testing. The scores were as follows: like extremely (9), like very much (8), like moderately (7), like slightly (6), neither like nor dislike (5), dislike slightly (4), dislike moderately (3), dislike very much (2), and dislike extremely (1). The folding test defines the quality of fish-based gel. We carried it out by cutting pempek into thin (3 mm) slices. The panelists placed a slice between their thumb and forefinger and folded. After that, the piece was examined for cracks. The maximal score was five [26]. The sensory assessment and the folding tests involved six certified trained panelists from the Fisheries Product Quality Implementation Center, South Kalimantan, Indonesia.

Proximate analysis. The proximate test included a gravimetric measuring of the moisture content based on Indonesian National Standard No. 2973:2018 Biscuits. The ash and fat content were also measured gravimetrically, while the protein content was studied titrimetrically. The carbohydrate content followed Indonesian National Standard No. 01-2891-1992 How to test food and beverages [27].

β -carotene analysis. The β -carotene test involved the method of high-performance liquid chromatography (HPLC) in a Hewlett Packard 1050 device with a 151 UV/VIS detector and a shim-pack VP ODS column 5 m 150×4.6 mm. The mobile phase was 60 mL of methanol (1 g/L BHT). The flow rate was 1.0 mL/min, and the column temperature was 24°C. β -carotenes were detected at 450 nm and quantified using calibration curves obtained for each standard, both separately and as a mix [28].

Amino acid analysis. The amino acid composition was detected using HPLC (Shimadzu) as described by Rieuwpassa *et al.* [29]. The solid and liquid samples were 0.5 g and 0.5 mL, respectively. The amino acid standard solutions were prepared in standard series of 0, 1, 5, 10, 25, and 50 using 25 mL of distilled water.

The reagents included orthophthaldehyde (OPA), tri-sodium citrate pH 3.25 (as the mobile phase), HCl 6 N, HCl 1 N, and HCl 0.01 N. The amino acid test relied on a HPLC device with a Shim-pack VP ODS column of 5 m 150×4.6 mm, a CTO 10 ASVP column oven, a RF20 Fluorescence detector, and the following test conditions: run time = 30 min, wavelength = 450 nm, flow rate = 1 mL/min, injection volume = 10 µL. The results were processed using LabSolution 5.6.1 for Windows.

Results and discussion

Figure 1 illustrates the sensory profile of the samples. The score for color, aroma, flavor, and texture increased together with the share of pumpkin puree, only the appearance value remained the same.

The pumpkin did not affect the appearance presumably because its percentage was as low as 10–20%. This was in line with the results obtained by Pongjanta, where 10–20% pumpkin flour had no effect on the appearance of cookies [25]. In contrast to appearance, other parameters, i.e., color, aroma, flavor, and texture, increased in value as the percentage of pumpkin puree in the formulation grew. Formulation 1 with 20% of pumpkin puree obtained the highest value compared to the control treatment (0%) and Formulation 1 with only 10% of pumpkin puree. The color changed due to the yellow-orange pigment in β -carotene [17, 23, 30]. Zuraida and Supriati confirmed that pumpkin contained 80% β -carotene [31]. As a result, pumpkin inevitably affects the color of food.

Aroma is usually interpreted as a combination of smell and flavor resulting from the evaporation of particular compounds in the product [32]. Figure 1 shows that Formulation 2 with 20% of pumpkin puree had a higher preference value than the control sample (0%) and Formulation 1 (10%). According to [23], pumpkin flour emits a distinctive caramel aroma no other flour possesses. The panelists liked this aroma so much that the aroma score grew together with the pumpkin puree percentage. In addition to aroma, flavor also determines the quality of food products. According to Fadhalah *et al.*, pempek owes its flavor, which appears after thermal processing, to the amino acids contained in fish [1]. Pempek with 20% of pumpkin puree had a higher preference value than the control sample (0%) and Formulation 1 (10%). The panelists' preference for pempek with pumpkin puree was due to an increase in the carbohydrate content in the pumpkin when heated [33]. This result was in line with the findings reported by Pranomo *et al.*, who proved that pumpkin could improve the flavor profile of the final product [23].

Texture shows the appearance, shape, condition, and softness of food whether dry, wet, or moist [34]. The texture of the experimental pempek was more preferable than that of the control sample (0%). Formulation 2 with 20% of pumpkin puree received a higher

score than Formulation 1 with only 10%. In general, the texture of pempek depends on the type of fish because of gelatinization. Pumpkin puree improved the jellifying properties of the experimental samples due to its good water absorption properties [35, 36].

Pempek is a product made from fish protein, and its physical quality is measured by the level of elasticity. Usually, jellified dishes, such as meatballs and pempek, are tested for elasticity using the folding test method. According to Ririsanti *et al.*, the main purpose of the folding test is to determine the level of elasticity in a product [37]. Figure 2 illustrates the results of the pempek folding test.

Pumpkin puree reduced the elasticity of the experimental pempek samples. The control sample had a value of 5, while Formulations 1 and 2 with 10 and 20% of pumpkin puree, respectively, had only 4. The elasticity of pempek depends on myofibril protein in fish and amylopectin in tapioca flour [1, 38, 39]. The

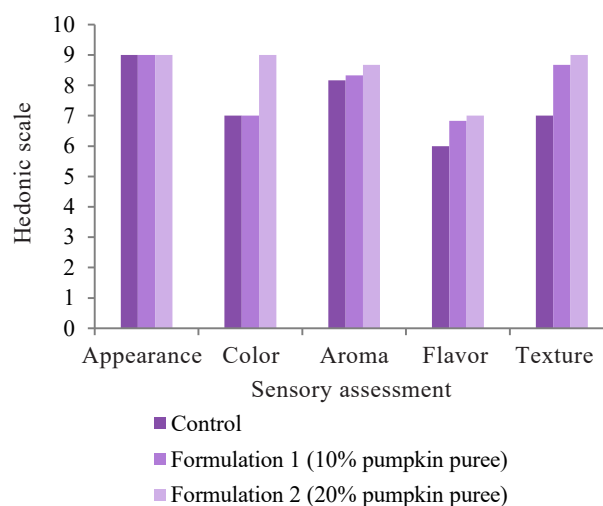


Figure 1. Sensory assessment of pempek with pumpkin puree

Рисунок 1. Органолептическая оценка рыбных котлет «пемпек» из *Channa micropeltes* и тыквенного пюре

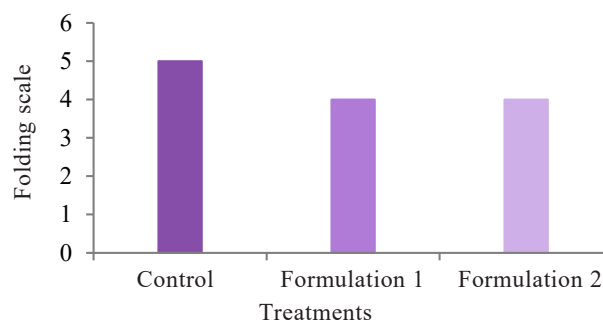


Figure 2. Folding test of pempek with pumpkin puree

Рисунок 2. Испытание на перегиб рыбных котлет «пемпек» из *Channa micropeltes* и тыквенного пюре

low elasticity of the experimental pempek samples was due to the reduced amount of tapioca flour. According to Aminullah *et al.*, amylopectin in tapioca flour could increase the elasticity of pempek [5]. Pumpkin has no amylopectin but it does contain amylose. Pereira *et al.* reported that pumpkin flour contained 0.9–3.0% amylose [40]. According to Simpson, starch that is rich in amylopectin gave the final product good jellifying properties, while starch with amylose resulted in a stiff gel [41].

The proximate analysis defined the chemical profile of the experimental pempek. Pumpkin puree was able to increase the protein content ($p < 0.05$) (Table 2) because pumpkin contained more protein than tapioca flour [25, 40]. Hence, substituting pumpkin with tapioca flour also affected the protein content of pempek. In fact, the protein content of toman pempek with pumpkin puree was 5–6 times higher than that of its traditional analogue obtained from the Palembang market. Pempek producers tend to reduce the share of fish in the formulation to make the production more economical; they replace fish with other protein sources, e.g., wheat flour, which lowers the protein value [8]. According to previous research, the selling price of pempek affected consumer buying decisions [11].

Moisture content determines the shelf life of a product. Pumpkin puree affected the moisture content ($p < 0.05$). Formulation 2 with 20% of pumpkin puree had the highest moisture content and was significantly different from Formulation 1 with 10% of pumpkin puree and the control sample. The moisture content increased because pumpkin mash has a quite high-water content [45]. Ratnawati *et al.* also reported that adding pumpkin to biscuits increased the moisture content [22].

Ash content is an inorganic component contained in a material. Pumpkin puree also affected the ash content ($p < 0.05$). Formulation 2 with 20% of pumpkin puree had the highest ash content compared to the control and Formulation 1 (10%). Since the ash content in fresh pumpkins is 1.25–10.53%, it also increased the ash content in the experimental pempek [42, 45]. Similarly, pumpkin was able to increase the ash content in bis-

cuits, analog rice, and cake [22, 23, 45]. The ash content revealed the presence of minerals contained in the pumpkin. According to Adebayo *et al.*, pumpkin pulp contains Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Ni, P, and Pb [46].

The substitution of tapioca flour with pumpkin puree had a significant effect ($p < 0.05$) on the decrease in carbohydrates. Both experimental formulations had a lower content of carbohydrates than the control. The decrease in carbohydrate content in the experimental pempek contrasted with the protein content because pumpkin has less carbohydrate than tapioca flour [42, 43]. As reported by Ratnawati *et al.* and Pranomo *et al.*, pumpkin could reduce the amount of carbohydrates in analog biscuits and rice [22, 23]. Moreover, pumpkins only contained 10.51–43.39% carbohydrates [25, 42]. In fact, a certain polysaccharide in pumpkin was found health-beneficial and could ward off free radicals if appropriately consumed [47].

Fat is a component of essential macronutrients. Pumpkin puree had no significant effect ($p > 0.05$) on the fat content of the final product. Pumpkins have very little fat, 0.89–1.45% [25, 42]. In this respect, our research confirmed the results obtained by Ratnawati *et al.* and Pramono *et al.*, who reported that pumpkin substitution did not increase fat content in analog rice and biscuits [22, 23].

β -carotene is a carotenoid compound found in pumpkin. This compound is a precursor for the formation of vitamin A in the human body [14]. It is to be found in vegetables and fruits, e.g., carrots, pumpkins, sweet potatoes, etc. Pumpkin-fortified products have a better nutrition value. In our research, pumpkin puree fortified pempek with β -carotene (Fig. 3).

Figure 3 shows that the amount of β -carotene in pempek correlated with the share of pumpkin puree. Pongjanta *et al.* also reported that pumpkin was able to increase the content of β -carotene in the finished product [25]. Dhiman *et al.* found 11.2 mg β -carotene per 100 g of finished product while Kim *et al.* reported 1.48–17.04 mg/kg [42, 48]. β -carotene in pumpkin is a natural antioxidant that protects the body from free radicals brought about by oxidation [14].

Table 2. Proximate analysis of pempek with pumpkin puree

Таблица 2. Компонентный состав рыбных котлет «пемпек» из *Channa micropeltes* и тыквенного пюре

Parameters, %	Pempek			Pumpkin puree [42]	Tapioca flour [43]	Pempek [44]
	Control	Formulation 1 (10% pumpkin puree)	Formulation 2 (20% pumpkin puree)			
Protein	7.55 ± 0.11 ^a	7.82 ± 0.13 ^b	7.91 ± 0.07 ^b	11.31	8.28	0.50–1.20
Moisture	51.17 ± 1.03 ^a	55.05 ± 0.72 ^b	62.35 ± 0.24 ^c	840.40	12.49	56.00–63.57
Ash	1.38 ± 0.15 ^a	1.40 ± 0.75 ^a	1.75 ± 0.10 ^b	10.53	1.52	1.00–4.14
Carbohydrate	38.84 ± 1.06 ^a	34.45 ± 0.80 ^b	26.76 ± 0.14 ^c	43.39	75.99	27.00–33.02
Fat	1.05 ± 0.03 ^a	1.23 ± 0.08 ^a	1.23 ± 0.13 ^a	0.89	1.72	1.00–1.37

Different superscript letters (a, b, c) mark significantly different results ($p < 0.05$).

Надстрочные буквы (a, b, c) обозначают разные результаты ($p < 0,05$).

Oxidation is caused by bad eating habits, resulting in various diseases and obesity. A diet with lots of antioxidant foods may reduce obesity. Pumpkin can be an excellent component of any anti-obesity diet because it has a reasonably low carbohydrate content and little protein, which also contains enough amino acids. A diet that presupposes lots of β -carotene could reduce heart disease and cancer morbidity as well as increase immunity and protection from free radicals [49].

Fish protein is the primary nutritional source of pempek. The quality of protein depends on the amount and composition of its amino acids. Table 3 shows the amino acid profile of the experimental pempek.

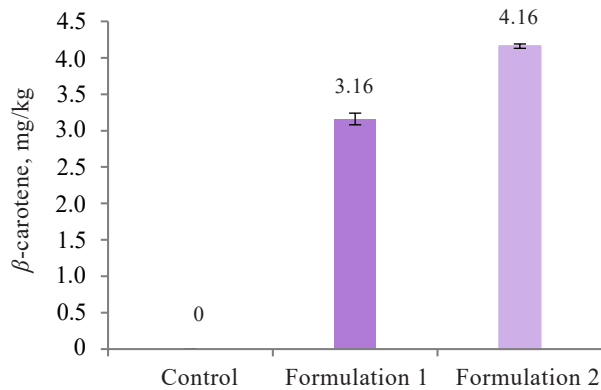


Figure 3. β -carotene in pempek with pumpkin puree

Рисунок 3. Содержание β -каротина в рыбных котлетах «пемпек» из *Channa micropeltes* и тыквенного пюре

Table 3 shows the amino acid content in pempek made of pumpkin puree, tapioca flour, and toman fish. Pumpkin puree affected the amino acid content. Formulation 2 with 20% of pumpkin puree showed the best results for amino acids (10.27%) whereas the control sample had only 7.53%. In previous studies, pumpkin puree was found to contain nine types of essential amino acids and six types of non-essential amino acids [42]. Toman fish was reported to contain ten essential amino acids and six non-essential amino acids [8]. Tapioca starch is known to contain eight essential amino acids and nine non-essential amino acids [43, 50].

Table 3 shows that leucine and valine were the dominating essential amino acids in pempek with pumpkin puree, which is in line with some other publications [42]. Leucine is essential for energy production, especially in controlling protein synthesis [51]. It promotes brain function, stabilizes blood sugar levels, and facilitates bone, muscle, and skin healing [52–54]. Valine functions in the nervous and digestive systems. It helps against neuromuscular, mental, and emotional disorders, insomnia, and nervous states [55]. Valine also stimulates muscle coordination, helps to repair damaged tissue, and maintains nitrogen balance [29].

Glutamic acid and arginine proved to be the dominant non-essential amino acids in pempek with pumpkin puree. Glutamic acid and arginine were reported as the dominant non-essential amino acids in pumpkin, toman fish, and tapioca flour. Glutamic acid gives a savory flavor to food products [56]. Arginine improves

Table 3. Amino acids in pempek with pumpkin puree

Таблица 3. Содержание аминокислот в рыбных котлетах «пемпек» из *Channa micropeltes* и тыквенного пюре

Amino acids	Pempek			Pumpkin puree, % [42]	Fresh toman fish, % [8]	Tapioca flour, % [43]
	Control	Formulation 1 (10% pumpkin puree)	Formulation 2 (20% pumpkin puree)			
Essential amino acids						
Isoleucine	0.35	0.38	0.43	0.71	0.95	0.33
Leucine	0.55	0.67	0.78	0.90	1.58	0.43
Lysine	0.19	0.25	0.26	0.43	1.93	3.00
Methionine	0.22	0.26	0.26	0.11	0.67	0.58
Phenylalanine	0.39	0.47	0.54	0.49	0.81	0.25
Tyrosine	0.19	0.22	0.26	0.26	0.67	0.71
Histidine	0.32	0.38	0.36	1.11	0.40	0.13
Threonine	0.25	0.29	0.33	0.28	0.83	1.49
Valine	0.48	0.56	0.58	0.73	0.97	0.15
Total	2.94	3.48	3.80			
Non-essential amino acids						
Alanine	0.36	0.43	0.49	0.77	1.14	6.11
Arginine	0.99	1.22	1.44	1.11	1.26	9.02
Aspartic Acid	0.73	0.83	0.99	2.21	2.06	0.39
Glutamic Acid	1.63	1.93	2.33	4.32	3.15	8.90
Glycine	0.41	0.48	0.57	0.12	0.88	0.29
Serine	0.47	0.59	0.65	0.36	0.74	0.30
Total	4.59	5.48	6.47			

semen quality and strengthens the immune system, as well as inhibits oxidative stress and tissue damage [57, 58]. In addition, arginine lowers blood pressure, improves blood circulation, reduces fat levels, and strengthens the heart muscle [59, 60]. Arginine can also stimulate hormone secretion and promotes wound healing [61, 62]. Pempek fortified with pumpkin proved to increase the amount of essential and non-essential amino acids.

In Indonesia, toman fish is part of a great diversity of processed foods. For instance, the residents of Kumba Village on the Indonesia-Malaysia border use it to cook fish nuggets [63]. Toman fish makes excellent fishballs with a soft texture, delicious taste, and characteristic smell [64]. It can serve as a raw material for biscuits with a protein content of 18% [65]. Indonesian cuisine knows pumpkin as a fortification ingredient in many foods, e.g., chicken sausages, wet noodles, and cakes [66–68]. Therefore, toman fish meat and pumpkin puree can definitely improve the nutritional value of traditional pempek.

Conclusion

Pumpkin puree proved to be an effective substitute for tapioca flour in toman fish pempek. It improved both the sensory profile and nutritional value of pempek in that it increased the contents of protein, β -carotene, and amino acids while reducing the amount of carbohydrates. Formulation 2 with 20% of pumpkin puree had the best results for consumer acceptance and nutritional quality.

Contribution

R. Adawyah and F. Puspitasari developed the research concept and design, interpreted the data, drafted the manuscript, and revised it. T. Dekayanti, A. Aslamiah, and M. Wahyu AS helped with data collection, edited the article, and made critical revisions. All the authors read and approved the final manuscript

Conflict of interest

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

Acknowledgements

The authors would like to express their deepest gratitude to the Rector of Lambung Mangkurat University and the Dean of the Department of Fisheries and Marine for their support.

Критерии авторства

Р. Адавиа и Ф. Пуспитасари: концепция и план исследования, интерпретация данных, написание статьи и редакция. Т. Декаянти, А. Асламиа и М. Уахью: сбор данных, редактирование статьи. Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность

Авторы выражают благодарность ректору Университета Ламбунг Мангкурат и декану факультета морского рыболовства.

References

1. Fadhallah EG, Nurainy F, Suroso E. Sensory, chemical and physical characteristic of pempek from barred mackerel and barracuda fish in various formulations. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 2021;21(1):16–23. (In Indonesian).
2. Sugito S, Hayati S. The use of gabus (*ophicepallus striatus* blkr) fillet fish and application of freezing in making gluten pempek. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 2006;8(2):147–151. (In Indonesian).
3. Talib A, Marlina T. Organoleptic and chemical characteristics of skipjack tuna empek-empek products. *Agrikan Jurnal Agribisnis Perikanan*. 2015;8(1):50–59. (In Indonesian).
4. Rofiq M, Ernawati. The proportion of tapioca flour addition on the quality pempek old boiling fish eels (*Monopterus albus*). *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*. 2017;8(1):9–16. (In Indonesian).
5. Aminullah, Daniel, Rohmayanti T. The texture and hedonic profiles of pempek lenjer made from local commodities of bogor taro flour (*Colocasia esculenta* L. Schott) and African catfish (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Teknologi and Industri Hasil Pertanian*. 2020;25(1):7–18. (In Indonesian). <https://doi.org/10.23960/jtihp.v25i1.7-18>
6. Astuti MP, Haryati S, Subjatimah, M. Characteristic of empek-empek with different types of freshwater fish. *Jurnal Mahasiswa, Food Teknologi and Agricultural Product*. 2021. (In Indonesian).
7. Ansyari P. Slamet. Food characteristics of Indonesian snakehead in Danau Panggang monotonous swamp, South Kalimantan. *Warta Iktiologi*. 2020;4(2):27–33. (In Indonesian).
8. Fitriyani E, Nuraenah N, Deviarni IM. Comparison of chemical composition, fatty acids, amino acids of toman fish (*Channa micropeltes*) and snakehead fish (*Channa striata*) from West Kalimantan waters. *Manfish Journal*. 2020;1(2):71–82. (In Indonesian). <https://doi.org/10.31573/manfish.v1i02.121>
9. Nurilmala M, Safithri M, Pradita FT, Pertiwi RM. Protein profile of striped snakehead (*Channa striata*), giant snakehead (*Channa micropeltes*), and marble goby (*Oxyeleotris marmorata*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 2020;23(3):548–557. (In Indonesian). <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.33924>

10. Asikin AN, Kusumaningrum I. Edible portion and chemical composition of snakehead fish from pond cultivation in Kutai Kartanegara Regency, East Kalimantan. Ziraah. 2017;42(3):158–163. (In Indonesian).
11. Agustini A, Aishah A. Analysis of the effect of price on purchasing decisions at Pempek Pasar 26 ilir Palembang. Jurnal Pariwisata Darussalam. 2021;1(1):9–15. (In Indonesian).
12. Syamsir E, Hariyadi P, Fardiaz D, Andarwulan N, Kusnandar F. Characterization of tapioca from five varieties *Manihot utilisima* Crantz from Lampung. Jurnal Agroteknologi. 2020;5(1):93–105. (In Indonesian).
13. Burke M. Carbohydrate intolerance and disaccharidase measurement – a mini review. Clinical Biochemist Reviews. 2019;40(4):167–174.
14. Ceclu L, Mocanu DG, Nistor OV. Pumpkin – health benefits. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies. 2020;26(3):241–246.
15. Habiba U, Robin MA, Hasan MM, Toma MA, Akhter D, Mazumder MAR. Nutritional, textural, and sensory quality of bars enriched with banana flour and pumpkin seed flour. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):282–289. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-282-289>
16. Bergantin C, Maietti A, Tedeschi P, Font G, Manyes L, Marchetti N. HPLC-UV/Vis-APCI-MS/MS determination of major carotenoids and their bioaccessibility from “Delica” (*Cucurbita maxima*) and “Violina” (*Cucurbita moschata*) pumpkins as food traceability markers. Molecules. 2018;23(11). <https://doi.org/10.3390/molecules23112791>
17. Seo JS, Burri BJ, Quan Z, Neidlinger TR. Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. Journal of Chromatography A. 2005;1073(1–2):371–375. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.10.044>
18. Al-Anoos IM, El-dengawi RAH, Hasanin HA. Studies on chemical composition of some Egyptian and Chinese pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed varieties. Journal of Plant Science and Research. 2005;2(2).
19. McCreight JD. Cultivation, and uses of cucurbits. In: Grumet R, Katzir N, Garcia-Mas J, editors. Genetics and genomics of cucurbitaceae. Cham: Springer; 2017. pp. 1–12. https://doi.org/10.1007/7397_2016_2
20. Kulkarni AS, Joshi DC. Effect of replacement of wheat flour with pumpkin powder on textural and sensory qualities of biscuit. International Food Research Journal. 2013;20(2):587–591.
21. Miranti MG, Kristiastuti D, Kusumasari ED. Formulation of biscuit using yellow pumpkin flour and the addition of coconut flour as an alternative for complementary feeding. Journal of Agro Science. 2019;7(1):41–47. <https://doi.org/10.18196/pt.2019.092.41-47>
22. Ratnawati L, Indrianti N, Ekafitri R, Mayasti NKI. The effect of addition pumpkin and carrot puree on the physicochemical and textural properties of mocaf biscuit as complementary food. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;733. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/733/1/012120>
23. Pramono YB, Nurwantoro, Handayani D, Mulyani S, Wibowo CH. Physical, chemical, stickiness, and organoleptic characteristics of analog white sweet potato rice with the addition of pumpkin flours. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;803. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/803/1/012039>
24. Husna SS, Hintono A, Rizqiat H. Texture, water absorption, a_w and hedonic quality flakes white millet (*Panicum miliaceum*) with addition of pumpkin flour (*Cucurbita moschata*). Journal of Applied Food Technology. 2020;7(2):29–32.
25. Pongjanta J, Naulbunrang A, Kawngdang S, Manon T, Thepjaikat T. Utilization of pumpkin powder in bakery products. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 2006;28:71–79.
26. Wijayanti I, Santoso J, Jacoeb AM. The effect of leaching times on the gel properties of catfish (*Clarias gariepinus*) surimi. Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology. 2012;8(1):32–37. (In Indonesian).
27. Palawe J, Talete TK, Tatinting N, Tanod WA, Mandeno JA, Rieuwpassa FJ, et al. High calcium sago cookies fortification of tuna fish bone and seaweed *Caulerpa* sp. EnviroScientiae. 2021;17(3):106–115. (In Indonesian).
28. Varzakas T, Kiokias S. HPLC analysis and determination of carotenoid pigments in commercially available plant extracts. Current Research in Nutrition and Food Science. 2016;4(1):1–14. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.4.Special-Issue1.01>
29. Rieuwpassa FJ, Karimela EJ, Cahyono E, Tomaso AM, Ansar NMS, Tanod WA, et al. Extraction and characterization of fish protein concentrate from Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Food Research. 2022;6(4):92–99.
30. Putri CYK, Pranata FS, Swasti YR. The quality of muffin with a combination of white kepok banana (*Musa paradisiaca* forma *typica*) and butternut pumpkin (*Cucurbita moschata*). Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati. 2019;4(2):50–62. (In Indonesian). <https://doi.org/10.24002/biota.v4i2.2471>
31. Zuraida N, Supriati Y. Sweet potato farming as sources for food alternative and carbohydrate diversification. Buletin AgroBio. 2001;4(1):13–23. (In Indonesian).
32. Pudjihastuti I, Sumardiono S, Supriyo E, Kusmayanti H. Quality analog rice composite flour: Modified starch, colocasia esculenta, *Canna edulis* Ker high protein. AIP Conference Proceedings. 2018;1977.
33. Mamuja CF, Lamaega JChE. Production of analog rice from cassava, “Goroho” banana and sago. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 2015;3(2):8–14. (In Indonesian).
34. Putra GH, Nurali EJN, Koapaha T, Luluhan LE. Manufacture of analog rice based on goroho banana flour (*Musa acuminata*) with *carboxymethyl cellulose* (CMC) binder. Cocos. 2013;2(4):1–12. (In Indonesian).

35. Cahyaningtyas FI, Basito, Anam C. The physicochemical and sensory assessment of pumpkin flour (*Curcubita moschata Dorch*) as the substitution of wheat flour in the eggroll making. *Jurnal Teknosains Pangan*. 2014;3(2):13–19. (In Indonesian).
36. Ningtyas KR. Optimize formulation the breakfast meal flakes (food breakfast) bananas with the addition of pumpkins. *Jurnal Pengolahan Pangan*. 2018;3(2):32–27. (In Indonesian).
37. Ririsanti NN, Liviawaty E, Ihsan YN, Pratama RI. The addition of carrageenan to the preference level of catfish pempek. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 2017;VIII(1):165–173. (In Indonesian).
38. Chakrabarti R, Gupta S. Characteristics of gel from the meat of twelve species of fish from Visakhapatnam Coast. *Fishery Technology*. 2000;37(1):5–7.
39. Maulid DY, Nurilmala M. DNA barcoding for authentication of mackerel (*Scomberomorus* sp) products. *Jurnal Akuatika Indonesia*. 2015;VI(2):154–160. (In Indonesian).
40. Pereira AM, Krumreich FD, Ramos AH, Krolow ACR, Santos RB, Gularte MA. Physicochemical characterization, carotenoid content and protein digestibility of pumpkin access flours for food application. *Food Science and Technology*. 2020;40(2):691–698. <https://doi.org/10.1590/fst.38819>
41. Simpson BK. *Food biochemistry and food processing*. Oxford: Wiley-Blackwell; 2012. 912 p. <https://doi.org/10.1002/9781118308035>
42. Kim MY, Kim EJ, Kim Y-N, Choi C, Lee B-H. Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (*Cucurbitaceae*) species and parts. *Nutrition Research and Practice*. 2012;6(1):21–27. <https://doi.org/10.4162/nrp.2012.6.1.21>
43. Nilusha RAT, Jayasinghe JMJK, Perera ODAN, Perera PIP, Jayasingh CVL. Proximate composition, physicochemical, functional, and antioxidant properties of flours from selected *cassava* (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. *International Journal of Food Science*. 2021;2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6064545>
44. Dwijaya O, Lestari S, Hanggita S. Chemical characteristics and potential heavy metal contamination (Pb and Cd) of pempek in Palembang. *Fistech – Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. 2015;4(1):57–66. (In Indonesian).
45. Bhat MA, Bhat A. Study on physico-chemical characteristics of pumpkin blended cake. *Journal of Food Processing and Technology*. 2013;4(9). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000262>
46. Adebayo OR, Farombi AG, Oyekanmi AM. Proximate, mineral and anti-nutrient evaluation of pumpkin pulp (*Cucurbita pepo*). *IOSR Journal of Applied Chemistry*. 2013;4(5):25–28.
47. Chen L, Huang G. Antioxidant activities of phosphorylated pumpkin polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;125:256–261. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.069>
48. Dhiman AK, Sharma KD, Surekha A. Functional constituents, and processing of pumpkin: A review. *Journal of Food Science and Technology*. 2009;46(5):411–417.
49. Nururrahmah, Widiarnu W. Analysis of beta-carotene levels of dragon fruit peels using a UV-VIS spectrophotometer. *Jurnal Dinamika*. 2013;4(1):15–26. (In Indonesian).
50. Omeire GC. Amino acid profile of raw and extruded blends of African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*) and cassava flour. *American Journal of Food and Nutrition*. 2012;2(3):65–68. <https://doi.org/10.5251/ajfn.2012.2.3.65.68>
51. Duan Y, Li F, Li Y, Tang Y, Kong X, Feng Z, *et al*. The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. *Amino Acids*. 2015;48:41–51. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-2067-1>
52. Pedrosa JAB, Zampieri TT, Donato JrJ. Reviewing the effects of l-leucine supplementation in the regulation of food intake, energy balance, and glucose homeostasis. *Nutrients*. 2015;7(5):3914–3937. <https://doi.org/10.3390/nu7053914>
53. Layman DK. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. *The Journal of Nutrition*. 2003;133(1):261S–267S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.1.261S>
54. Duan Y, Li F, Liu H, Li Y, Liu Y, Kong X, *et al*. Nutritional and regulatory roles of leucine in muscle growth and fat reduction. *Frontiers in Bioscience*. 2015;20(4):796–813. <https://doi.org/10.2741/4338>
55. Pillai RR, Kurpad AV. Amino acid requirements in children and the elderly population. *British Journal of Nutrition*. 2012;108(S2):S44–S49. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002401>
56. Jinap S, Hajeb P. Glutamate. Its applications in food and contribution to health. *Appetite*. 2010;55(1):1–10. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.05.002>
57. Chen JQ, Li YS, Li ZJ, Lu HX, Zhu PQ, Li CM. Dietary L-arginine supplementation improves semen quality and libido of boars under high ambient temperature. *Animal*. 2018;12(8):1611–1620. <https://doi.org/10.1017/S1751731117003147>
58. Qiu Y, Yang X, Wang L, Gao K, Jiang Z. L-Arginine inhibited inflammatory response and oxidative stress induced by lipopolysaccharide via arginase-1 signaling in IPEC-J2 cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(7). <https://doi.org/10.3390/ijms20071800>
59. Szlas A, Kurek JM, Krejpcio Z. The potential of L-arginine in prevention and treatment of disturbed carbohydrate and lipid metabolism – A review. *Nutrients*. 2022;14(5). <https://doi.org/10.3390/nu14050961>

60. Cylwik D, Mogielnicki A, Buczko W. L-arginine and cardiovascular system. *Pharmacological Reports*. 2005;57(1):14–22.
61. Goli P, Yazdi M, Heidari-Beni M, Kelishadi R. Growth hormone response to L-arginine alone and combined with different doses of growth hormone-releasing hormone: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Endocrinology*. 2022;2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8739289>
62. Gould A, Naidoo C, Candy GP. Arginine metabolism and wound healing. *Wound Healing Southern Africa*. 2008;1(1):48–50.
63. Sumarli, Rosmayyadi, Triani SN, Kamaruddin, Buyung, Marhayani DA, et al. Toman fish nugget making training for the Kumba Village community in the Indonesia-Malaysia border region. *International Journal of Public Devotion*. 2021;4(2):69–74. (In Indonesian).
64. Restu. Making meatball of toman fish (*Channa micropeltes*). *Journal of Tropical Animal Science*. 2012;1(1):15–19. (In Indonesian).
65. Hermanto, Susanty A. Physicochemical and sensory characteristics of biscuit with toman fish (*Channa micropeltes*) flour addition. *Jurnal Riset Teknologi Industri*. 2020;14(2):253–262. (In Indonesian).
66. Yusuf AM, Saelan E, Lestari S. The effect of additional yellow pump with different percentages on organoleptic characteristics of chicken sausage. *JANHUS Journal of Animal Husbandry Science*. 2021;5(2):195–203. (In Indonesian).
67. Dewi AAEK. The effect of the pumpkin addition (*Cucurbita moschata*) on organoleptic quality, antioxidant capacity and nutrition value of wet noodles. Denpasar: Department of Nutrition, Politeknik Kesehatan, Ministry of Health; 2020. (In Indonesian).
68. Arisandi VS. Test of protein and organoleptic levels in yellow pumpkin (*Cucurbita moschata*) cake with the addition of natural dye). Surakarta: Muhammadiyah Surakarta University; 2012. (In Indonesian).

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2450>
<https://elibrary.ru/GJTEPR>

Оригинальная статья
<https://fppt.ru>

Роль дью дилидженс в формировании «портрета» контрагента в условиях цифровизации



С. М. Бычкова^{1,*}, Е. А. Жидкова², О. В. Швец³

¹ Санкт-Петербургский государственный аграрный университет^{ROR}, Пушкин, Россия

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

³ Государственный институт экономики, финансов, права и технологий, Гатчина, Россия

Поступила в редакцию: 15.02.2023

Принята после рецензирования: 11.04.2023

Принята к публикации: 02.05.2023

*С. М. Бычкова: smbychkova@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-7684-9025>

Е. А. Жидкова: <https://orcid.org/0000-0002-7658-0254>

О. В. Швец: <https://orcid.org/0000-0002-2564-6882>

© С. М. Бычкова, Е. А. Жидкова, О. В. Швец, 2023



Аннотация.

Экономические субъекты, в том числе занимающиеся пищевыми производствами, взаимодействуют с большим количеством контрагентов, степень добросовестности которых влияет на финансовое положение организации и ее успешную деятельность. В связи с этим необходимо проведение проверок возможных деловых партнеров перед началом сотрудничества с ними. Особую роль в осуществлении таких проверок играет договорной дью дилидженс – услуга, оказываемая консалтинговыми и аудиторскими фирмами. При выполнении услуги договорной дью дилидженс используются инструменты, позволяющие оперативно собрать информацию о предприятии и провести ее анализ. Среди них выделяют специализированные базы данных и онлайн-сервисы. Цель исследования – рассмотреть основные направления проведения договорного дью дилидженс с использованием функциональных возможностей указанных инструментов.

Рассмотрели основные этапы договорного дью дилидженс в условиях применения специальных цифровых инструментов. Особое внимание уделяется функциональным возможностям баз данных и онлайн-сервисов. В качестве основных методов исследования использовали сравнение, обобщение и синтез.

В ходе исследования рассмотрели процесс сбора информации о контрагенте по трем направлениям: правоспособность, финансовое положение и деловая репутация. Уделили внимание этапу обобщения и анализа полученной информации по указанным направлениям и подготовке досье контрагента. Рассмотрели роль цифровых технологий на каждом этапе. Дали сравнительную характеристику функциональных возможностей цифровых инструментов. Определили ограничения, которые присущи базам данных и онлайн-сервисам при сборе информации о предприятии.

Сравнительная характеристика функциональных возможностей цифровых инструментов для целей договорного дью дилидженс свидетельствует об их потенциале для формирования комплексного представления о контрагенте. При использовании баз данных и онлайн-сервисов для сбора информации о предприятии экспертам следует учитывать их недостатки и обозначать на стадии планирования необходимый круг вопросов.

Ключевые слова. Договорной дью дилидженс, контрагент, базы данных, онлайн-сервисы, благонадежность, правоспособность, финансовое состояние, деловая репутация

Для цитирования: Бычкова С. М., Жидкова Е. А., Швец О. В. Роль дью дилидженс в формировании «портрета» контрагента в условиях цифровизации // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 475–485. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2450>

Due Diligence in Digital Profiling of a Counterparty



Svetlana M. Bychkova^{1,*}, Elena A. Zhidkova²,
Oksana V. Shvets³

¹ Saint-Petersburg State Agrarian University^{ROR}, Pushkin, Russia

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

³ State Institute of Economics, Finance, Law, and Technology, Gatchina, Russia

Received: 15.02.2023

Revised: 11.04.2023

Accepted: 02.05.2023

*Svetlana M. Bychkova: smbychkova@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-7684-9025>

Elena A. Zhidkova: <https://orcid.org/0000-0002-7658-0254>

Oksana V. Shvets: <https://orcid.org/0000-0002-2564-6882>

© S.M. Bychkova, E.A. Zhidkova, O.V. Shvets, 2023



Abstract.

Economic entities involved in food production interact with a large number of counterparties and depend on their integrity. They have to check their potential business partners before cooperating. Contractual due diligence is a service provided by consulting and audit firms that use a variety of tools, e.g., databases and online services, to collect and analyze information. This research considered the main areas of contractual due diligence and assessed the tools involved.

The authors used the common methods of comparison, generalization, and synthesis to describe the main due diligence stages and digital tools.

Information about the counterparty was collected in three areas: legal capacity, financial position, and business reputation. The study focused on the stage of summary, analysis, and profiling. The authors determined the role of digital technologies at each stage, compared their performance, and defined their limitations.

The research revealed the potential of various digital tools for contractual due diligence. The results may help due diligence experts to plan the profiling process.

Keywords. Contractual due diligence, counterparty, databases, online services, trustworthiness, legal capacity, financial condition, business reputation

For citation: Bychkova SM, Zhidkova EA, Shvets OV. Due Diligence in Digital Profiling of a Counterparty. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):475–485. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2450>

Введение

В современных условиях взаимодействие с контрагентами является неотъемлемым элементом осуществления предприятием своей финансово-хозяйственной деятельности. Поэтому к выбору потенциального делового партнера следует подходить добросовестно и обстоятельно, осуществляя предварительную проверку его благонадежности. Остаются актуальными вопросы обеспечения проверки контрагентов в организациях, занимающихся пищевыми производствами.

В ходе осуществления проверки экономического субъекта эффективными инструментами, которые позволяют получить разноплановую информацию о деловом партнере, являются специализированные цифровые инструменты: базы данных и онлайн-сервисы. В применяемых в современных условиях базах данных и сервисах предусмотрен сбор информации из открытых источников, что помогает

сформировать «портрет» потенциального делового партнера. В них представлены сведения о финансовом состоянии контрагента и текущих судебных разбирательствах, в которых он задействован, формируется дерево связей и аккумулирована информация об аффилированных лицах, определена рейтинговая позиция организации в отрасли. Базы данных и онлайн-сервисы позволяют проводить мониторинг изменения сведений о проверяемой фирме [1]. В среде цифровой экономики основные показатели, характеризующие деятельность организации, могут быть определены с использованием сложных экономико-математических методов и моделей, применяемых в онлайн-сервисах. Это позволяет проводить более точные и дифференцированные расчеты [2].

Любая организация (предприятия пищевой промышленности не являются исключением) в качестве наиболее приемлемого варианта для продуктивного

делового сотрудничества рассматривает благонадежного экономического субъекта. Для целей проводимого исследования предполагается использовать следующий термин: благонадежным считается контрагент, способный выполнять взятые на себя договорные обязательства в срок и в полном объеме и имеющий для этого необходимые финансовые, материальные и трудовые ресурсы.

Объекты и методы исследования

В качестве основных методов научного познания были использованы сравнение, обобщение и синтез. Выбор указанных методов обусловлен целью исследования – рассмотреть потенциал цифровых технологий при выполнении проверки контрагента. Для реализации поставленной цели была подготовлена сравнительная характеристика наиболее популярных баз данных и онлайн-сервисов в контексте договорного дью дилидженс. Результаты сравнительной характеристики позволили обобщить базовые возможности цифровых инструментов, применяемых при проверке контрагента на предмет благонадежности. Такой метод научного познания, как синтез, позволил определить потенциал использования цифровых технологий для сбора и обобщения информации о предполагаемом деловом партнере. Объектом исследования выступали цифровые инструменты, применяемые при проведении проверки контрагента. В ходе изучения специфики функционирования цифровых технологий были рассмотрены ключевые возможности специализированных баз данных и онлайн-сервисов, которые могут быть применены на каждом этапе договорного дью дилидженс.

Результаты и их обсуждение

Для получения комплексного представления о деловом партнере предприятия пищевой промышленности изучается всесторонняя информация, которая формирует «портрет» организации. Его составными элементами являются организационно-правовой аспект, финансовое состояние и деловая репутация.

Понятие «портрет» контрагента предприятия, занимающегося производством пищевых продуктов, охватывает ключевые сферы его хозяйственной жизни, каждая из которых вносит вклад в формирование мнения о степени благонадежности организации в аспекте возможного сотрудничества. Оценка правоспособности позволяет понять статус организации и наличие юридических оснований для ведения деятельности. Важность получения представления о финансовом состоянии экономического субъекта сложно переоценить, т. к. без наличия соответствующих финансовых возможностей организации затруднительно вести свою деятельность непрерывно и эффективно. Деловая репутация организации вклю-

чает представление об экономическом субъекте, сформированное в средствах массовой информации, и положительный опыт работы.

Проверка контрагента на предприятиях пищевых производств может осуществляться собственными силами или с помощью договорного дью дилидженс. Это услуга, оказываемая консалтинговыми и аудиторскими организациями и направленная на подтверждение наличия у потенциального делового партнера возможностей выполнить взятые на себя обязательства. Преимущество договорного дью дилидженс состоит в том, что эксперты, проводящие проверку контрагента, предлагают комплексный подход и объективную оценку деятельности организации. Они имеют отработанные алгоритмы осуществления указанной проверки и позволяют заказчику сэкономить трудовые и временные ресурсы при принятии решения о возможном сотрудничестве с предприятием.

Договорной дью дилидженс предполагает проведение следующих этапов: сбор информации о потенциальном контрагенте, обобщение и анализ полученной информации, подготовка досье контрагента [3, 4].

Сбор информации о возможном контрагенте предприятия пищевой промышленности производится по следующим направлениям:

1. Проверка правоспособности контрагента;
2. Проведение анализа финансового состояния потенциального делового партнера;
3. Оценка деловой репутации проверяемой организации.

В качестве информационной базы для формирования представления по обозначенным выше направлениям выступают сведения, полученные от организации, и данные, которые собирают эксперты, оказывающие услугу договорной дью дилидженс.

При проверке правоспособности контрагента у него запрашивают:

1. Соответствующую информацию из Единого государственного реестра юридических лиц (ЕГРЮЛ) или Единого государственного реестра индивидуальных предпринимателей (ЕГРИП);
2. Свидетельство о постановке на налоговый учет (о присвоении ИНН);
3. Выписку из ЕГРЮЛ с информацией о единичном исполнительном органе;
4. Устав предприятия;
5. Документы, подтверждающие нахождение по юридическому или фактическому адресу производственных и складских помещений и т. п.;
6. Паспорта руководителя (индивидуального предпринимателя) и лиц, уполномоченных на заключение договора и подписание соответствующих документов (счетов-фактур при их выставлении контрагентом);
7. Приказы, подтверждающие трудовые взаимоотношения с сотрудниками контрагента, которые будут отвечать за выполнение договорных обязательств;

Таблица 1. Специализированные базы данных для сбора сведений о правоспособности контрагента

Table 1. Specialized databases for collecting information about the legal capacity of the counterparty

№ п/п	Наименование ресурса	Назначение ресурса	Роль в проведении договорного дью дилидженса
1	Сайт Федеральной налоговой службы	Предоставление выписки из ЕГРЮЛ/ЕГРИП, получение сведений о «массовых адресах» и юридических лицах, имеющих задолженность по налогам	Используется для получения сведений о правовом статусе организации, проверки адресов массовой регистрации и задолженности организации
2	Вестник государственной регистрации	Обеспечение доступа к официальной информации налоговых органов и российских предприятий	Применяется для сбора сведений о возможной реорганизации или ликвидации контрагента
3	Картотека арбитражных дел	Получение информации о нахождении организации в статусе истца или ответчика в судебных спорах	Используется для сбора информации о контрагентах-участниках арбитражных дел
4	Реестр недобросовестных поставщиков (сайт Федеральной антимонопольной службы РФ)	Предоставление сведений о недобросовестных поставщиках	Призван содействовать сбору информации о контрагентах-участниках системы государственных закупок
5	Банк данных исполнительных производств (Федеральная служба судебных приставов)	Получение информации обо всех погашенных и непогашенных задолженностях в судебном порядке	Используется для получения информации о долгах организации
6	Сведения о лицах, в отношении которых факт невозможности участия (осуществления руководства) в организации установлен (подтвержден) в судебном порядке	Сбор информации о руководящих лицах	Призван содействовать получению информации о правомочности руководителя
7	Единый федеральный реестр сведений о банкротстве	Сбор информации о банкротстве организации	Используется для сбора информации о нахождении организации в статусе «банкрота»

Примечание: Составлено авторами по [9, 10].

Note: compiled by the authors according to [9, 10].

8. Доверенности при необходимости представления интересов контрагента в случае заключения договоров и подписания определенных документов [5].

Если деятельность проверяемой организации подлежит лицензированию, то следует запросить лицензию и другие свидетельства, а также проверить соответствие вида ОКВЭД контрагента заключаемым договорам. Необходимо осуществить проверку адреса контрагента и его директора на массовость. Следует обратиться к реестру дисквалифицированных лиц для выявления возможного включения в него директора потенциального делового партнера, а также проверить организацию в реестре недобросовестных поставщиков. Для контрагентов предприятий пищевой промышленности особую важность приобретает наличие санитарно-эпидемиологического заключения Роспотребнадзора, соответствующих сертификатов на выпускаемую продукцию и зарегистрированных технических условий.

Отказ возможного делового партнера предоставить указанную информацию предприятию пищевой промышленности может свидетельствовать:

- 1) о вероятности неисполнения им своих обязательств;
- 2) о том, что от имени реального контрагента могут действовать неуполномоченные им лица;
- 3) о неисполнении им налоговых обязательств в полном объеме и в установленный срок.

В случае отказа потенциального контрагента предоставить указанные сведения эксперты обращаются к информации, доступной в специализированных базах данных и онлайн-сервисах¹. Указанные инструменты могут быть использованы в качестве дополнительного источника информации об организации, которая рассматривается предприятием пищевой промышленности в качестве потенциального делового партнера [6–8]. В таблице 1 обобщены специализированные базы данных, применяемые для сбора информации о правоспособности организации.

¹ Онлайн-сервисы – это сайты, которые предоставляют возможность получить комплексную информацию о контрагенте, что облегчает сбор сведений о нем и позволяет сэкономить время.

Таким образом, рассмотренные специализированные сервисы предоставляют необходимую информацию, которая вносит свой вклад в формирование портрета контрагента предприятия, занимающегося пищевым производством. Функциональные возможности сайта Федеральной налоговой службы РФ позволяют получить сведения о том, когда фирма была зарегистрирована, и определить величину ее уставного капитала и актуальный юридический статус. Картотека арбитражных дел и реестр недобросовестных поставщиков являются необходимыми инструментами для характеристики контрагента в качестве благонадежного без соответствующих финансовых обременений и выполняющего взятые на себя обязательства своевременно и в срок. Банк данных исполнительных производств является источником информации о контрагентах, которые имеют погашенные и непогашенные задолженности в судебном порядке, что является важным аспектом благонадежности делового партнера. Немаловажным аспектом является финансовая стабильность организации, которая невозможна при нахождении экономического субъекта на стадии банкротства. Специализированный сервис «Единый федеральный реестр сведений о банкротстве» позволяет установить факт банкротства организации. Внимание также уделяется проверке руководства на предмет его правоспособности, для чего рекомендуется использовать специальный ресурс «Сведения о лицах, в отношении которых факт невозможности участия (осуществления руководства) в организации установлен (подтвержден) в судебном порядке».

В качестве апробированного источника информации при проведении договорного дью дилидженса эксперты используют специализированные онлайн-сервисы, преимущество которых состоит в том, что они предоставляют необходимые сведения в систематизированном формате. В таблице 2 приведены примеры тех сервисов, которые предоставляют информацию о правоспособности контрагента предприятия пищевой промышленности.

Практическая польза применения онлайн-сервисов при проведении проверки потенциального контрагента предприятия, занимающегося пищевым производством, не вызывает сомнения. Указанные сервисы могут рассматриваться как дополнительный источник получения сведений, который позволяет сократить временные и трудовые затраты на проведение оценки благонадежности предполагаемого делового партнера.

При формировании представления о финансовом состоянии потенциального контрагента предприятия пищевой промышленности используется бухгалтерская отчетность, которая подготавливается организацией. Если потенциальный деловой партнер отказался обеспечить доступ к своей финансовой информации, то ее можно найти на специальных сайтах и в специализированных системах оценки деятельности экономических субъектов. Кроме бухгалтерской отчетности следует изучить сведения о среднесписочной численности работников и информацию о наличии задолженности перед бюджетом. Указанная информация необходима для оценки достаточности ресурсов у потенциального контрагента.

Таблица 2. Онлайн-сервисы для сбора сведений о правоспособности контрагента

Table 2. Online services for collecting information about the legal capacity of the counterparty

№ п/п	Наименование онлайн-сервиса	Назначение онлайн-сервиса	Роль в проведении договорного дью дилидженса
1	«Прозрачный бизнес» (ФНС РФ)	Предоставление базовой информации из ЕГРЮЛ: о системе налогообложения, о задолженности по налогам и несвоевременном предоставлении бухгалтерской отчетности, о численности сотрудников и т. п.	Полученная информация позволяет дополнить собранные сведения от контрагента или провести их сверку. Предоставленные сведения в сервисах полезны для формирования такого аспекта «портрета» контрагента, как правоспособность
2	Контур.Фокус	Предоставление комплексной информации, характеризующей правоспособность организации	
3	Rusprofile	Систематизация информации из всех доступных официальных источников в одном сервисе	
4	ДельтаБезопасность	Система детальной проверки для профессиональных целей	

Примечание: разработано авторами на основании онлайн-сервисов: Прозрачный бизнес. URL: <https://pb.nalog.ru> (дата обращения: 27.01.2023); Контур.Фокус. URL: <https://focus.kontur.ru> (дата обращения: 27.01.2023); Rusprofile. URL: <https://www.rusprofile.ru> (дата обращения: 27.01.2023); ДельтаБезопасность. URL: <https://deltabez.ru> (дата обращения: 27.01.2023).

Note: compiled by the authors according to the following online services: Transparent business. URL: <https://pb.nalog.ru> (available from: 27.01.2023); Contour.Focus. URL: <https://focus.kontur.ru> (available from: 27.01.2023); Rusprofile. URL: <https://www.rusprofile.ru> (available from: 27.01.2023); DeltaSecurity. URL: <https://deltabez.ru> (available from: 27.01.2023).

агента для выполнения договорных обязательств перед предприятием отраслей пищевой промышленности [8].

В методике анализа финансового состояния в ходе процедуры договорной дью дилидженс потенциального контрагента можно выделить следующие направления:

- 1) оценка имущественного положения и структуры капитала;
- 2) оценка эффективности и интенсивности использования капитала;
- 3) оценка финансовой устойчивости, платежеспособности и рентабельности делового партнера.

В ходе анализа имущественного положения и структуры капитала возможного делового партнера эксперты получают информацию о том, способна ли организация исполнять взятые на себя обязательства и достаточна ли величина собственного капитала организации для удовлетворения требований кредиторов. В контексте деятельности предприятий пищевых производств данный аспект проверки приобретает особую важность, т. к. при отсутствии соответствующих производственных помещений контрагенту будет проблематично выполнять обязательства по договору. Необходимо проверить наличие соответствующих лабораторий, которые осуществляют контроль за качеством сырья, полуфабрикатов и вспомогательных материалов, поступающих на предприятие и хранящихся на складах. Указанные лаборатории ответственны за промежуточный контроль, который предполагает проведение анализов на стадиях производственного процесса для проверки соблюдения технологических нормативов, а также осуществляют контроль качества готовой продукции. При наличии собственного товарного знака у предприятия пищевого производства необходимо убедиться в наличии всех правоустанавливающих документов. При анализе качественного и количественного состава имущества организации следует учитывать положительные и негативные тенденции в структуре активов и пассивов. Абсолютное и относительное увеличение показателей использования денежных средств, рост собственных средств, по сравнению с заемными, увеличение долгосрочных обязательств и снижение просроченной задолженности свидетельствуют о положительных тенденциях в функционировании предприятия. К отрицательным тенденциям можно отнести абсолютное или относительное снижение показателей использования денежных средств, рост доли кредитов и займов в структуре краткосрочной задолженности, увеличение краткосрочных обязательств и просроченной задолженности. Потенциал онлайн-сервисов при проверке имущественного положения организации и его капитала обусловлен тем, что указанные инструменты позволяют получить комплексное пред-

ставление об этом аспекте финансового состояния проверяемого контрагента.

При оценке эффективности и интенсивности использования капитала исследуемого предприятия особое внимание уделяется анализу следующих критериев: коэффициент автономии, коэффициент соотношения собственных и заемных средств, рентабельность собственного капитала, коэффициент оборачиваемости капитала, продолжительность одного оборота (в днях). В ходе анализа указанных показателей можно получить представление о том, с какой интенсивностью осуществляется предпринимательская деятельность проверяемой фирмы и присутствует ли риск банкротства по причине преобладания заемного капитала над собственным.

Особое значение при проведении анализа финансовой благонадежности потенциального делового партнера предприятия пищевой промышленности имеет проверка финансовых критериев, характеризующих финансовую устойчивость, ликвидность, платежеспособность и рентабельность. Анализ указанных показателей необходим для формирования представления о финансовом состоянии экономического субъекта. Эксперт-аналитик вправе самостоятельно отбирать набор показателей для анализа, которые наиболее детально характеризуют отраслевую специфику предприятия, его внутреннюю и внешнюю бизнес-среду [11–13].

Роль онлайн-сервисов при диагностике финансового состояния предприятия важна и проявляется в облегчении процесса сбора эмпирической базы для дальнейшего обобщения информации. В таблице 3 представлены возможности онлайн-сервисов при проведении рассматриваемого направления анализа.

Третье направление проверки благонадежности фирмы – это оценка деловой репутации проверяемого контрагента предприятия пищевой промышленности. Указанное направление проверки возможного контрагента предполагает изучение сложившейся арбитражной практики в отношении экономического субъекта, а также его опыта в конкретной сфере. Особое внимание необходимо уделить делам, при которых контрагенту предъявляются требования по поводу невыполненной работы, неоплаченных счетов и т. д. Кроме арбитражной практики, следует учесть наличие негативных отзывов о работе контрагента в средствах массовой информации [14]. Применительно к предприятиям пищевых производств оценка деловой репутации контрагента приобретает особую важность, т. к. восприятие клиентами производимой ими продукции зависит от их имиджа и внешнего образа, а также положительного опыта потребления продукции.

В таблице 4 обобщены возможности онлайн-сервисов при проверке деловой репутации контрагента.

Таблица 3. Основные направления проверки финансового состояния контрагента

Table 3. Checking the financial condition of the counterparty: the main directions

№ п/п	Направление проверки	Применяемые критерии для оценки	Применяемые онлайн-сервисы
1	Оценка имущественного положения и структуры капитала	Показатели динамики активов и пассивов	СПАРК Контур.Фокус Seldon.Basis КАРТОТЕКА СБИС
2	Оценка эффективности и интенсивности использования капитала	Коэффициент автономии, коэффициент соотношения собственных и заемных средств, рентабельность собственного капитала, коэффициент оборачиваемости капитала, продолжительность одного оборота (в днях)	
3	Оценка ликвидности и платежеспособности делового партнера	Коэффициенты ликвидности	
4	Оценка финансовой устойчивости	Коэффициент финансовой устойчивости, коэффициент маневренности собственного капитала, коэффициент краткосрочной задолженности, коэффициент соотношения собственных и заемных средств	
5	Оценка показателей рентабельности	Рентабельность продаж от чистой прибыли, рентабельность активов, рентабельность основных средств, рентабельность капитала	

Примечание: разработано авторами на основании онлайн-сервисов: СПАРК. URL: <https://spark-interfax.ru> (дата обращения: 29.01.2023); Контур.Фокус. URL: <https://kontur-f.ru> (дата обращения: 29.01.2023); Seldon.Basis. URL: <https://basis.myseldon.com/ru> (дата обращения: 29.01.2023); КАРТОТЕКА. URL: <https://www.kartoteka.ru> (дата обращения: 29.01.2023); СБИС. URL: <https://sbis.ru> (дата обращения: 29.01.2023).

Note: compiled by the authors according to the following online services: SPARK. URL: <https://spark-interfax.ru> (available from: 29.01.2023); Contour.Focus. URL: <https://kontur-f.ru> (available from: 29.01.2023); Seldon.Basis. URL: <https://basis.myseldon.com/ru> (available from: 29.01.2023); KARTOTEKA. URL: <https://www.kartoteka.ru> (available from: 29.01.2023); SBIS. URL: <https://sbis.ru> (available from: 29.01.2023).

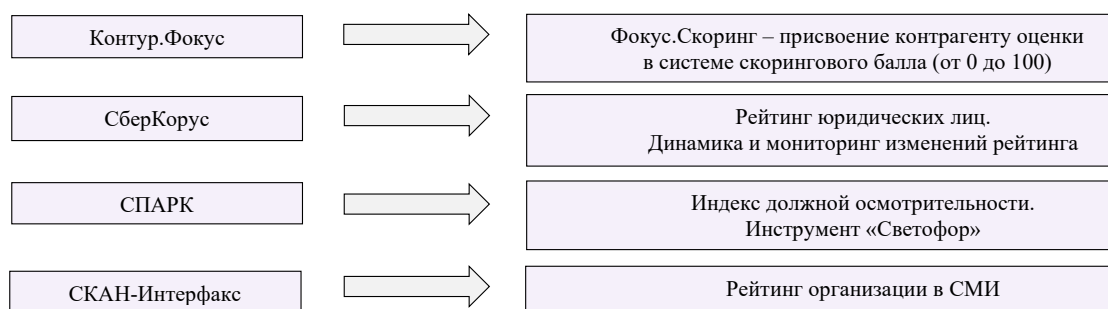
Таблица 4. Применение онлайн-сервисов при проверке деловой репутации контрагента

Table 4. Online services that check the business reputation of the counterparty

№ п/п	Наименование сервиса	Функциональные характеристики	Роль в проверке деловой репутации контрагента
1	СПАРК	Медиа анализ SCAN-Interfax, раздел «Публикации в СМИ» на карточках организаций, сервис «Оценка деловой репутации»	Применение расширенного модуля анализа деловой репутации и раннего обнаружения рисков по материалам СМИ
2	Контур.Фокус	Аналитика арбитражных дел	Аргументированная оценка деловой репутации организации, выявление типичных предметов спора
3	Сервис проверки контрагентов от Сбербанка	Раздел «Арбитраж» содержит информацию о благонадежности контрагентов в аспекте их участия в арбитражных делах (в качестве истца, ответчика или третьего лица), раздел «Деловые риски»	Оценка деловых рисков при взаимодействии с контрагентом
4	Главбух Контрагенты	Раздел «Ресурсы и опыт», раздел «Долги и споры»	Подготовка аналитической справки
5	Casebook	Раздел «Дела», вкладка «Риски»	Выявление наличия показательных и потенциальных разбирательств контрагента

Примечание: разработано авторами на основании онлайн-сервисов: СПАРК. URL: <https://spark-interfax.ru> (дата обращения: 29.01.2023); Контур.Фокус. URL: <https://kontur-f.ru> (дата обращения: 29.01.2023); Сервис проверки контрагентов от Сбербанка. URL: <https://www.sberbank.com> (дата обращения: 29.01.2023); Главбух Контрагенты. URL: <https://glavbukh.1cont.ru> (дата обращения: 29.01.2023); Casebook. URL: <https://casebook.ru> (дата обращения: 29.01.2023).

Note: compiled by the authors based according to the following online services: SPARK. URL: <https://spark-interfax.ru> (available from: 29.01.2023); Contour.Focus. URL: <https://kontur-f.ru> (available from: 29.01.2023); Service for checking counterparties from Sberbank. URL: <https://www.sberbank.com> (available from: 29.01.2023); Glavbukh Counterparties. URL: <https://glavbukh.1cont.ru> (available from: 29.01.2023); Casebook. URL: <https://casebook.ru> (available from: 29.01.2023).



Примечание: разработано авторами на основании онлайн-сервисов: Контур.Фокус. URL: <https://kontur-f.ru> (дата обращения: 29.01.2023); СберКорус. URL: <https://www.esphere.ru/products/spk> (дата обращения: 29.01.2023); Спарк. URL: <https://www.esphere.ru/products/spk> (дата обращения: 29.01.2023); СКАН-Интерфакс. URL: <https://scan-interfax.ru> (дата обращения: 29.01.2023).

Note: compiled by the authors according to the following online services: Contour.Focus. URL: <https://kontur-f.ru> (available from: 29.01.2023); SberKorus. URL: <https://www.esphere.ru/products/spk> (available from: 29.01.2023); SPARK. URL: <https://spark-interfax.ru> (available from: 29.01.2023); SberKorus. URL: <https://www.esphere.ru/products/spk> (available from: 29.01.2023); SCAN-Interfax. URL: <https://scan-interfax.ru> (available from: 29.01.2023).

Рисунок 1. Применение рейтинговых и скоринговых подходов в онлайн-сервисах

Figure 1. Rating and scoring approaches in online services

Таким образом, информация о деловой репутации, которую можно получить из онлайн-сервисов, помогает оценить такой аспект деятельности любой организации, как порядочность в работе с контрагентами.

Применение онлайн-сервисов на этапе сбора информации о контрагенте имеет ограничения, которые могут быть обусловлены тем, что каждый сервис предлагает собственный подход к аккумуляции информации. В рамках процедуры договорной дью дилидженс экспертам предлагается предварительно подготовить чек-лист требуемых критериев оценки организации и использовать онлайн-сервисы и специализированные базы для его заполнения. Это позволит упорядочить собираемые сведения в ходе реализации целей договорного дью дилидженса.

Этап обобщения и анализа полученной информации о потенциальном партнере предприятия отрасли пищевой промышленности предполагает применение различных методик, среди которых:

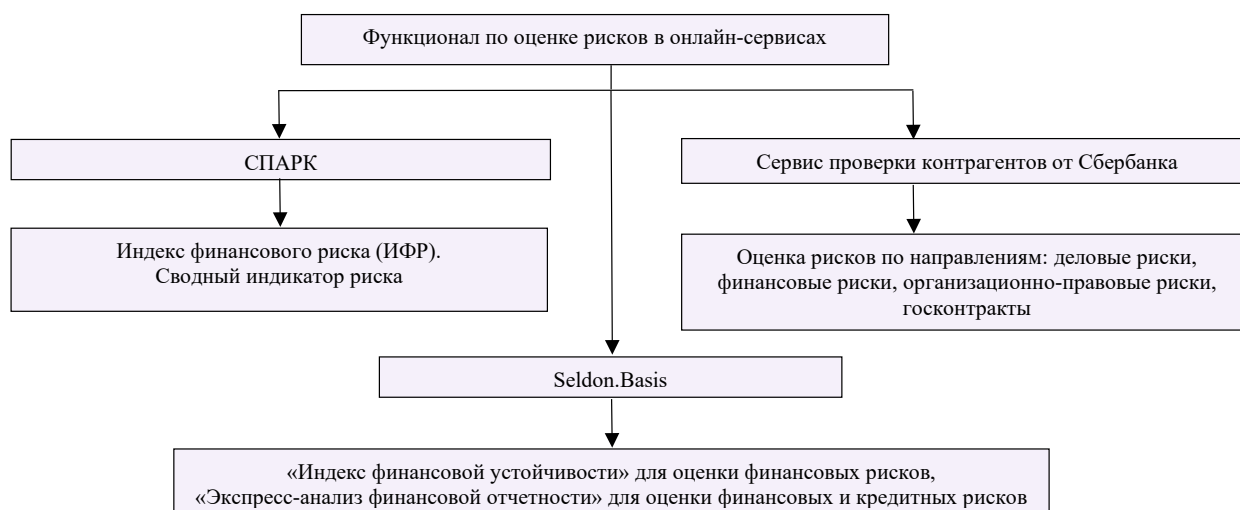
- 1) рейтинг – это ранжирование контрагентов по степени благонадежности;
- 2) скоринг² – это формирование итогового показателя, характеризующего благонадежность контрагента, на основании присвоения баллов;
- 3) риск-ориентированный подход – это выявление основных факторов, свидетельствующих о неблагонадежности контрагента.

Для обобщения информации о контрагенте в онлайн-сервисах используется рейтинговый подход, который заключается в ранжировании контрагентов

по уровню их благонадежности. В ряде сервисов применяется методика скоринга, которая является вариацией рейтинга [15]. На рисунке 1 представлена характеристика применения рейтинговых и скоринговых оценок в онлайн-сервисах.

В онлайн-сервисе Контур.Фокус формируется оценка в рамках скоринговой модели на основании 50 маркеров. Каждый из них обозначает либо фактор риска, либо фактор надежности в деятельности организации. Уровень риска или надежности может быть высоким, значительным, умеренным и низким. Пользователь может самостоятельно построить модель путем определения перечня необходимых маркеров в соответствующих блоках и установления степени и значения риска или надежности. В онлайн-сервисе СберКорус предусмотрена возможность оперативного уведомления организации об изменении рейтинга контрагента. Индекс должной осмотрительности в онлайн-сервисе СПАРК представляет собой шкалу от 1 до 99, где более высокое значение свидетельствует о высокой степени вероятности неблагонадежности проверяемой организации. В инструменте «Светофор» в онлайн-сервисе СПАРК предусмотрен индикатор в следующей цветовой градации: зеленый цвет – низкая опасность возникновения рисков факторов при взаимодействии с экономическим субъектом, а по мере нарастания красного цвета опасность усиливается. В онлайн-сервисе СКАН-Интерфакс предусмотрена подготовка медиарейтинга организации в сравнении с конкурентами и эталонными организациями.

² Скоринг – это система оценки кредитоспособности (кредитных рисков) лица, основанная на численных статистических методах.

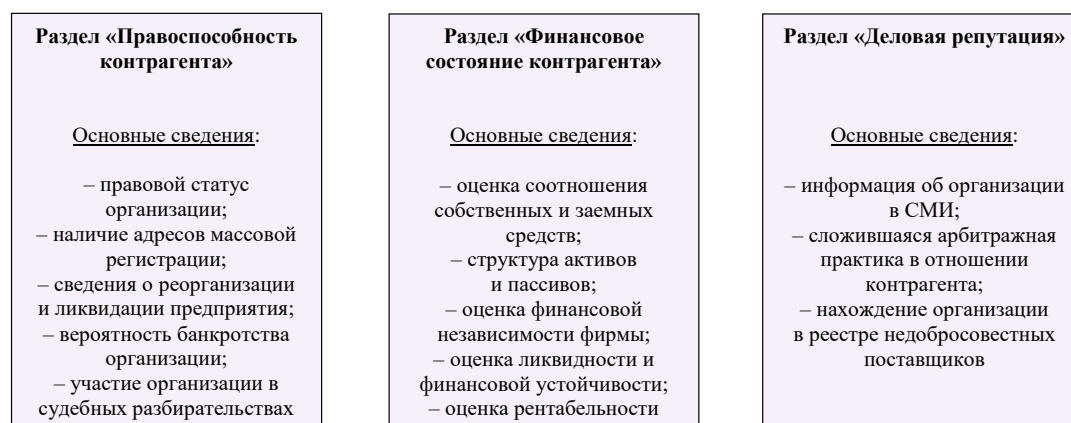


Примечание: разработано авторами на основании онлайн-сервисов: СПАРК. URL: <https://spark-interfax.ru> (дата обращения: 29.01.2023); Сервис проверки контрагентов от Сбербанка. URL: <https://www.sberbank.com> (дата обращения: 29.01.2023); Seldon.Basis. URL: <https://basis.myseldon.com/ru> (дата обращения: 29.01.2023).

Note: compiled by the authors according to the following online services: SPARK. URL: <https://spark-interfax.ru> (available from: 29.01.2023); Service for checking counterparties from Sberbank. URL: <https://www.sberbank.com> (available from: 29.01.2023); Seldon.Basis. URL: <https://basis.myseldon.com/ru> (available from: 29.01.2023).

Рисунок 2. Инструменты оценки рисков в онлайн-сервисах

Figure 2. Risk assessment tools in online services



Примечание: составлено авторами.

Note: compiled by the authors.

Рисунок 3. Структура досье контрагента

Figure 3. Profile structureSource: compiled by the authors.

Риск-ориентированный подход оценки контрагента предприятия отрасли пищевой промышленности предусматривает диагностику возможных рисков. В ряде онлайн-сервисов предоставляется возможность оценить потенциальные риски взаимодействия с контрагентом [16, 17]. На рисунке 2 представлен перечень инструментов, встроенных в онлайн-сервисы и позволяющих оценивать риск-факторы взаимодействия с организацией.

Применение онлайн-сервисов для оценки рисков взаимодействия с неблагонадежным контрагентом может быть полезным и информативным для построения матрицы рисков [18, 19].

Завершающим этапом процедуры договорной дью дилидженс считается подготовка досье контрагента, которое играет ключевую роль в формировании «портрета» делового партнера. На рисунке 3 представлена структура досье контрагента.

Как видно из рисунка 3, структура досье контрагента отражает основные направления проведения проверки и обобщения основных рисков аспектов сотрудничества с неблагонадежной организацией предприятия пищевой промышленности. Использование функциональных возможностей онлайн-сервисов при подготовке досье полезно для учета основных специфических особенностей деятельности исследуемой организации [20, 21].

Выводы

Потенциал применения онлайн-сервисов при выполнении процедуры договорной дью дилидженс не вызывает сомнения. В то же время есть определенные сдерживающие факторы, среди которых можно обозначить следующие:

1. Предоставление информации о субъектах малого бизнеса и иностранных контрагентах в ограниченном объеме;
2. Ретроспективный и рамочный подход к анализу информации.

В связи с указанными недостатками экспертам, проводящим проверку возможного делового парт-

нера, на стадии планирования следует обозначить круг вопросов, источником информации для решения которых могут стать специализированные базы данных и онлайн-сервисы. Разнообразный функционал, предусмотренный в них, позволяет изучить комплексно деятельность контрагента в контексте договорного дью дилидженс.

Критерии авторства

Авторы в равной степени принимали участие в исследованиях и оформлении рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors contributed equally to the research and the manuscript.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Fomenko AV, Tyunin EB. Research and development of an information system for assessing the reliability of the contractor. *Financial Markets and Banks*. 2021;(5):54–57. (In Russ.). [Фоменко А. В., Тюнин Е. Б. Разработка концепции информационной системы оценки надежности контрагента // Финансовые рынки и банки. 2021. № 5. С. 54–57.]. <https://elibrary.ru/CCGMOK>
2. Ivashkevich VB. Economology in the digital economy system. *International Accounting*. 2018;21(4):378–387. (In Russ.). <https://doi.org/10.24891/ia.21.4.378>
3. Aseev DA. Topical issues of application of the due diligence counterparty verification system in an economic entity. *Eurasian Scientific Journal*. 2022;14(5). (In Russ.). [Асеев Д. А. Актуальные вопросы применения системы проверки контрагентов дью дилидженс в хозяйствующем субъекте // Вестник евразийской науки. 2022. Т. 14. № 5.]. <https://elibrary.ru/VVVWRM>
4. Kabanova NA, Tselykovskaya AV. Formation of due diligence of counterparties. *Eurasian Scientific Journal*. 2022;14(5). (In Russ.). [Кабанова Н. А., Целыковская А. В. Формирование due diligence контрагентов // Вестник евразийской науки. 2022. Т. 14. № 5.]. <https://elibrary.ru/ZGUFWM>
5. Checking the counterparty before concluding the contract. Active check [Internet]. [cited 2023 Jan 27]. Available from: <https://www.klerk.ru/buh/articles/444574>
6. Karpinskikh AD, Karpova OV. Methodological bases for assessing the reliability of counterparties to improve the efficiency of managing the receivables of an enterprise. *Scientific and Practical Research*. 2021;37(2–2):24–31. (In Russ.). [Карпинских А. Д., Карпова О. В. Методологические основы оценки надежности контрагентов с целью повышения эффективности управления дебиторской задолженностью предприятия // Научно-практические исследования. 2021. Т. 37. № 2–2. С. 24–31.]. <https://elibrary.ru/LWNNQM>
7. Müller C. Challenges and risks in the due diligence process answered with an innovative approach. *HighTech and Innovation Journal*. 2021;2(1):51–66. <https://doi.org/10.28991/HIJ-2021-02-01-06>
8. Kirilovsky VA. Practical advice for verifying contractors for reliability before concluding transactions. *Legal Fact*. 2022;(169):6–11. (In Russ.). [Кириловский В. А. Практические советы по проверке контрагентов на предмет благонадежности перед заключением сделок // Юридический факт. 2022. № 169. С. 6–11.]. <https://elibrary.ru/GXACWP>
9. Serebryanik IA, Zolotukhina DM. Contractor's checkup: additional possibilities for business. Discussion. 2016;74(11): 53–57. (In Russ.). [Серебряник И. А., Золотухина Д. М. Проверка контрагентов: дополнительные возможности для бизнеса // Дискуссия. 2016. Т. 74. № 11. С. 53–57.]. <https://elibrary.ru/XWOAWD>
10. Kharcheva IV, Makunina IV, Grushko ES. Organizational and methodological aspects of due diligence when choosing a counterparty. *Bulletin Tver State University. Series: Economics and Management*. 2022;59(3):43–53. (In Russ.). <https://doi.org/10.26456/2219-1453/2022.3.043-053>

11. Galkina MV, Kurtova AG, Snatkina SI, Vyzhitovich AM. Improvement of control procedures when analyzing the financial position of counterparties. *Territory Development*. 2018;13(3):20–27. (In Russ.). <https://doi.org/10.32324/2412-8945-2018-3-20-27>
12. Chernysheva OG. Tools for controlling contractors in the management system of an industrial organization. *Economics. Profession. Business*. 2022;(2):126–130. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/epb202230>
13. Bychkova SM, Karelskaia SN, Abdalova EB, Zhidkova EA. Social responsibility as the dominant driver of the evolution of reporting from financial to non-financial: theory and methodology. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):135–145. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-135-145>
14. Shemchuk MA, Shadrin VG, Komarcheva OS, Konovalova OV. Digital marketing communications in the sports nutrition market. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(1):178–188. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-178-188>
15. Chomaev MN. Scoring as a tool for checking the reliability of the counterparty. *Colloquium-Journal*. 2019; 34(10–2):185–187. (In Russ.). [Чомаев М. М. Скоринг, как инструмент проверки благонадежности контрагента // *Colloquium-Journal*. 2019. Т. 34. № 10–2. С. 185–187.]. <https://elibrary.ru/wbrgsm>
16. Chitimira H, Munedzi S. Overview international best practices on customer due diligence and related anti-money laundering measures. *Journal of Money Laundering Control*. 2023;26(7):53–62. <https://doi.org/10.1108/JMLC-07-2022-0102>
17. Gaviyau W, Sibindi AB. Customer due diligence in the FinTech era: A bibliometric analysis. *Risks*. 2023;11(1). <https://doi.org/10.3390/risks11010011>
18. Matthews B. The need for customer due diligence to adapt to the digital era. *Journal of Digital Banking*. 2022;7(1):37–45.
19. Turuk M, Moric Milovanovic B. Digital due diligence: A complementary perspective to the traditional approach. *International Journal of Contemporary Business and Entrepreneurship*. 2020;1(2):54–66. <https://doi.org/10.47954/ijcbe.1.2.4>
20. Xu C, Liu C, Nie D, Gai L. How can a blockchain-based anti-money laundering system improve customer due diligence process. *Journal of Forensic and Investigative Accounting*. 2021;13(2):273–287.
21. Sing M. Business due diligence. *Governance Directions*. 2021;73(4):166–168.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2451>
<https://elibrary.ru/IVKWII>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Микробиологическая контаминация продовольственного сырья и готовой пищевой продукции (аналитический обзор)



А. С. Хишов¹, Т. В. Балагула², О. И. Лаврухина^{1,3,*},
А. В. Третьяков¹, О. Е. Иванова¹, Е. С. Козеичева¹

¹ Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Москва, Россия

² Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору, Москва, Россия

³ Владимирский государственный университет им. А. Г. и Н. Г. Столетовых^{FOR}, Владимир, Россия

Поступила в редакцию: 10.03.2023

Принята после рецензирования: 04.04.2023

Принята к публикации: 02.05.2023

*О. И. Лаврухина: hamsster@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-6248-5726>

А. С. Хишов: <https://orcid.org/0000-0003-3641-7644>

Т. В. Балагула: <https://orcid.org/0000-0003-0583-4277>

А. В. Третьяков: <https://orcid.org/0000-0002-4984-9502>

О. Е. Иванова: <https://orcid.org/0000-0002-5030-4876>

Е. С. Козеичева: <https://orcid.org/0000-0001-6609-8256>

© А. С. Хишов, Т. В. Балагула, О. И. Лаврухина,
А. В. Третьяков, О. Е. Иванова, Е. С. Козеичева, 2023



Аннотация.

Микробиологическая контаминация занимает важное место в системе обеспечения безопасности пищевой продукции из-за возможности изменения ее качественных и количественных характеристик. Особенно это касается готовой продукции, содержащей в своем составе компоненты животного происхождения или растительного и животноводческого сырья одновременно. В обзоре представлен анализ научных сведений и официальных данных о наиболее распространенных источниках микробиологического загрязнения готовой продукции, а также информации о возможных подходах его предотвращения или снижения до приемлемого уровня.

Поиск научной литературы осуществлялся на английском и русском языках по базам данных Scopus, ScienceDirect, PubMed и eLIBRARY.RU с использованием дескрипторов microbiological contamination (микробиологическое загрязнение), food raw materials (продовольственное сырье) и ready-to-eat products (готовые продукты). Глубина поиска – 20 лет, а также более ранние значимые публикации при условии их высокой цитируемости и релевантные публикации – безотносительно количества цитирований. Критерии поиска ограничены анализом сведений о выявлении в продовольственном сырье и пищевой продукции микробиологических загрязнителей в России и за рубежом. Процент обнаружений по отдельным группам микроорганизмов рассчитывали относительно их общего числа.

Анализ научных сведений и официальных данных показал, что для минимизации риска микробиологической контаминации необходим регулярный контроль уровня загрязнения на предприятии. Для готовых продуктов смешанного состава высок риск переноса микробиологических контаминантов каждого из ингредиентов, поэтому необходима как минимум их тепловая обработка. В случае комбинированных продуктов, не подразумевающих дополнительной температурной обработки, для минимизации микробиологической контаминации возможно внедрение современных технологий: интенсивное охлаждение и шоковая заморозка, обработка кулинарной продукции электромагнитным полем, применение защитных пищевых покрытий.

Компоненты готовой продукции смешанного состава, даже с небольшим количеством сырья животного происхождения, обуславливают дополнительный риск контаминации микробиологическими загрязнителями (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* и т. д.). Смешивание разных видов сырья может привести к изменению микробиологического профиля, поэтому безопасность готовой продукции должна обеспечиваться по всей цепи ее жизненного цикла, независимо от процентного содержания компонентов животного происхождения.

Ключевые слова. Пищевая безопасность, продукты питания, сырье животного происхождения, продукция смешанного состава, полуфабрикаты, риск загрязнения, микробиологическое загрязнение

Финансирование. Работа выполнена на базе Всероссийского государственного центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»).

Для цитирования: Микробиологическая контаминация продовольственного сырья и готовой пищевой продукции (аналитический обзор) / А. С. Хишов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 486–503. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2451>

Microbiological Contamination of Food Raw Materials and Ready-To-Eat Foods: Analytical Review



Andrei S. Khishov¹ , Tatiana V. Balagula² ,
Olga I. Lavrukhina^{1,3,*} , Aleksey V. Tretyakov¹ ,
Olga E. Ivanova¹ , Elizaveta S. Kozeicheva¹

¹ The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality, Moscow, Russia

² Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance, Moscow, Russia

³ Alexander and Nikolay Stoletovs Vladimir State University , Vladimir, Russia

Received: 10.03.2023

Revised: 04.04.2023

Accepted: 02.05.2023

*Olga I. Lavrukhina: hamsster@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-6248-5726>

Andrei S. Khishov: <https://orcid.org/0000-0003-3641-7644>

Tatiana V. Balagula: <https://orcid.org/0000-0003-0583-4277>

Aleksey V. Tretyakov: <https://orcid.org/0000-0002-4984-9502>

Olga E. Ivanova: <https://orcid.org/0000-0002-5030-4876>

Elizaveta S. Kozeicheva: <https://orcid.org/0000-0001-6609-8256>

© A.S. Khishov, T.V. Balagula, O.I. Lavrukhina,
A.V. Tretyakov, O.E. Ivanova, E.S. Kozeicheva, 2023



Abstract.

Microbiological contamination changes the qualitative and quantitative profile of food, which makes it an important issue of food safety systems. Finished products with components of animal origin or combined vegetable and livestock raw materials are especially prone to microbiological contamination. This review features the most common sources of microbiological contamination and its prevention in finished products.

The review covered 20 years of English and Russian scientific articles and standards indexed in Scopus, ScienceDirect, PubMed, and eLIBRARY.RU. The descriptors included *microbiological contamination*, *food raw materials*, and *ready-to-eat products*. The analysis involved some older publications, provided they possessed a high scientific relevance and/or a high citation index. The search criteria concentrated on the detection of microbiological contaminants in food raw materials and food products in Russia and abroad. The percentage of detections for individual groups of microorganisms was calculated as opposed to their total number.

The data obtained can be summarized as follows. Regular industrial monitoring can minimize the risk of microbiological contamination. Complex finished products have a higher risk and require heat treatment. Composite products that cannot be succumbed to additional heat treatment need new technologies that minimize microbiological contamination, e.g., intensive cooling, shock freezing, electromagnetic processing, protective food coatings, etc.

Even a small amount of animal raw materials may cause extra risk of contamination with *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, etc. A mix of different raw materials changes the microbiological profile of the finished product. As a result, finished products have to be monitored throughout the entire shelf-life cycle, regardless of the percentage of animal raw material in the formulation.

Keywords. Food safety, food products, raw materials of animal origin, mixed products, semi-finished products, risk of contamination, microbiological contamination

Funding. The research was performed on the premises of the Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality (FGBU “VGNKI”).

For citation: Khishov AS, Balagula TV, Lavrukhina OI, Tretyakov AV, Ivanova OE, Kozeicheva ES. Microbiological Contamination of Food Raw Materials and Ready-To-Eat Foods: Analytical Review. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):486–503. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2451>

Введение

Обеспечение безопасности пищевых продуктов относится к основным задачам поддержания продовольственной безопасности Российской Федерации,

поскольку имеет значение для сохранения и укрепления здоровья населения. Безопасность пищевой продукции – это такое ее состояние, которое свидетельствует об отсутствии недопустимого риска,

связанного с вредным воздействием на человека и будущие поколения (ТР ТС 021/2011). Российская Федерация при вступлении в ВТО сохранила право установления более жестких требований, по сравнению с международными, при условии научного обоснования, разработанного на основе системы оценки риска [1]. Загрязнение продуктов питания может происходить на любом этапе технологического цикла: от стадии получения сырья до стадии хранения. Безопасность сырья должна быть обеспечена его производителем и контролироваться системой государственного надзора. Система управления предполагает проведение анализа, включающего изучение всех факторов, которые способны влиять на безопасность продукции для потребителя.

Научные публикации и результаты анализа данных электронных систем контроля за последние 3 года обращают внимание на готовую продукцию, содержащую в своем составе компоненты животного происхождения. Готовая продукция – это пищевая продукция, которая была подвергнута переработке: тепловой обработке (кроме замораживания и охлаждения), копчению, консервированию, созреванию, сквашиванию, посолу, сушке, маринованию, концентрированию, экстракции, экструзии или сочетанию этих процессов (ТР ТС 021/2011). К готовой продукции, содержащей в своем составе компоненты животного происхождения, могут быть отнесены следующие группы товаров: мясная, рыбная и яичная продукция; зерномучные и макаронные изделия с начинкой; готовые супы и бульоны, а также заготовки для их приготовления; гомогенизированные и не гомогенизированные составные готовые пищевые продукты и продукты переработки овощей, фруктов, орехов или прочих частей растений, содержащие колбасу, мясо, мясные субпродукты, кровь, рыбу, ракообразных, моллюсков или прочих беспозвоночных; молочные продукты; пищевые жиры (масло, жир, маргарин и майонез); мороженое, кроме плодово-ягодного и фруктового льда; кондитерские изделия.

Наиболее опасными загрязнителями готовой пищевой продукции, представляющими риск для здоровья населения, являются химические вещества (токсичные элементы, пестициды, нитрозамины, полихлорированные бифенилы и диоксины) и контаминанты физической природы (радиоактивное загрязнение, частицы микропластика и других посторонних инертных материалов). Однако одно из первых мест по распространенности и степени опасности занимают биологические агенты: бактерии, токсигенные микроскопические грибы, вирусы и паразиты.

Микробиологическая контаминация занимает особое место в системе обеспечения безопасности пищевой продукции, т. к. изменяет качественные и количественные характеристики продукции из-за роста и размножения микроорганизмов, а также продуцирования ими токсинов.

В Российской Федерации и странах Таможенного союза ЕАЭС значения микробиологических показателей в пищевых продуктах не должны превышать нормативов, установленных ТР ТС 021/2011 и иных ТР ТС, действие которых распространяется на них. Микробиологические исследования образцов пищевой продукции и продовольственного сырья проводятся в соответствии с действующими ГОСТ, СанПиН, методическими указаниями и другими нормативными документами.

Наиболее значимыми в эпидемиологическом отношении являются возбудители бактериальных инфекций *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., энтерогеморрагические *Escherichia coli* (EHEC), *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter sakazakii* и др., распространенные серотипы *Salmonella*, ассоциированные с заболеванием человека *Enteritidis*, *Newport* и *Infantis* [2–4]. В монографии Ю. Г. Костенко представлены сведения о частоте выявления в некоторых странах возбудителей болезней, передаваемых человеку через пищевые продукты [5]. В Дании в 17 % случаев источником заболеваний пищевого происхождения являются бактерии *Salmonella* spp., 6 % – *Campylobacter*, 3 % – *Clostridium perfringens* и *Bacillus cereus*, 1 % – *Staphylococcus aureus* и *E. coli* O157. Согласно сведениям, представленным в обзоре Е. В. Федоренко и др., высокая степень риска для здоровья потребителей связана с такими продуктами, как сырое мясо, птица и рыба, непастеризованное молоко и готовая к употреблению кулинарная продукция; средняя – со свежими фруктами и овощами, соками, пастеризованным молоком, консервированной продукцией, яйцами, мороженым и молочными десертами [6]. Продукты переработки зерновых, хлеб, газированные напитки, сахаристые кондитерские изделия, сухофрукты, масла и жиры, алкоголь отнесены к продуктам с низкой степенью риска.

Бактерии, вызывающие пищевые отравления и инфекции, и их источники:

- *E. coli* – недожаренный сырой фарш, зелень, соки, майонез и парное молоко;
- *C. jejuni* – сырая непроваренная курица и сырое мясо;
- *S. aureus* – готовые продукты с высоким содержанием протеина, например, ветчина, салаты, хлебобулочные и молочные продукты; источник – коровы, больные маститом;
- *Salmonella* spp. – сырые и полусырые яйца, не до конца приготовленные птица или мясо, молочные и морские продукты, фрукты и овощи;
- *Shigella* spp. – салаты, молочные продукты и загрязненная вода;
- *Yersinia enterocolitica* – свинина, молочные продукты и зелень;
- *Clostridium botulinum* – почва, растения, пища домашнего приготовления и растительное масло;

– *L. monocytogenes* – почва, вода, молочные продукты, включая мягкие сыры, сырое и полусырое мясо, птица, морские продукты и зелень [7].

Подавляющее большинство случаев листериоза (99 %) связано с пищевым путем, т. е. с готовыми к употреблению продуктами, загрязненными *L. monocytogenes* [8].

По данным средств массовой информации, отмечен ряд серьезных вспышек заболеваний, связанных с микробиологическими загрязнителями в готовой продукции, содержащей компоненты животного происхождения. С конца декабря 2020 г. по начало апреля 2021 г. 32 человека, которые проживают в 15 округах Швеции, заболели сальмонеллезом, вызванным одним и тем же типом *Salmonella enteritidis* [9]. Большая часть заболевших – дети в возрасте до 10 лет и пожилые люди старше 70 лет. После проведенного расследования выяснилось, что все они употребляли шоколадные вафли марки «Eldorado» (Польша). Во Франции в 2022 г. 48 детей и двое взрослых заболели кишечной инфекцией, вызванной *E. coli*, после употребления замороженной пиццы «Nestlé» бренда «Buitoni» [10]. В начале 2022 г. компания «Ferreiro» отозвала всю продукцию «Kinder», произведенную на одном из заводов в Бельгии, из-за сообщений из Франции об обнаружении возбудителя сальмонеллеза [11].

Потенциальный риск для человека от попадания в организм опасных микроорганизмов с продуктами питания обусловлен их природой, способностью вызывать заболевания и тяжестью их течения. Важен масштаб распространения микроорганизма и особенности применяемого для его минимизации технологического процесса.

Зависимость риска от технологического процесса обусловлена влиянием его этапов на создание условий для роста и размножения микроорганизмов, накопления продуцируемых ими токсинов и их выживаемости в ходе переработки компонентов при производстве готовой продукции. Среди факторов, влияющих на рост микроорганизмов в смешанной готовой продукции, нормативными актами Российской Федерации и ЕАЭС регламентируются температурные параметры и присутствие воды (Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 09.10.2013 № 68 «О техническом регламенте Таможенного союза “О безопасности мяса и мясной продукции”»).

Температура является одним из определяющих параметров роста микроорганизмов в зависимости от их видовых особенностей: для психрофильных бактерий оптимальная температура 15–20 °С, для мезофильных – 30–37 °С, для термофильных – 50–60 °С [12]. Термоустойчивость бактерий и устойчивость к воздействию режимов пастеризации и стерилизации зависят от возраста культуры и вида микроорганизма [5].

Активность воды (A_w) – это отношение давления паров воды над данным продуктом к давлению паров над чистой водой при той же температуре [5, 13]. Для определения содержания воды, способной стимулировать рост нежелательных микроорганизмов, существуют как простые показатели (массовая доля), так и физико-химические, отражающие доступность воды для живых клеток. Последние важны из-за абсорбционных и адсорбционных свойств воды и активного взаимодействия с различными веществами органической и неорганической природы, растительными и животными тканями. Активность воды не нормирована в ЕАЭС, но часто используется для построения программ анализа риска в критических контрольных точках (АРККТ) на производстве. Нормируется в странах Европейского Союза и США [13].

Безопасность готовой продукции, содержащей в своем составе компоненты животного происхождения, должна соответствовать современным нормам и обеспечиваться по всей цепи ее жизненного цикла, включая стадии производства самого продукта и получения продовольственного сырья, транспортировку, хранение и его реализацию. Необходимо учитывать, что добавление ингредиентов растительного происхождения в процессе производства может повлиять на микробиологический профиль готового продукта. Поэтому необходимо учитывать дополнительные факторы риска при производстве продукции, содержащей одновременно растительное и животноводческое сырье.

Целью данного обзора являлся анализ сведений научных и официальных профильных ведомств и организаций о наиболее распространенных источниках микробиологического загрязнения готовой продукции, содержащей компоненты животного или растительного происхождения одновременно, а также анализ возможных подходов его предотвращения или снижения до приемлемого уровня.

Объекты и методы исследования

Поиск научной литературы осуществлялся по базам данных Scopus, ScienceDirect, PubMed и eLIBRARY.RU на английском и русском языках с использованием дескрипторов microbiological contamination (микробиологическое загрязнение), food raw materials (продовольственное сырье) и ready-to-eat products (готовые продукты).

Для иностранных баз данных выбраны «Journals subject area» – Health (все подкатегории) и Life science, сортировка по релевантности. Углубленный поиск включал типы публикаций: Review articles, Research articles, Encyclopedia, Book chapters, Case reports, Discussion, Editorials, Mini reviews, News, Other; «Subject area»: Agricultural and Biological Sciences, Immunology and Microbiology, Biochemistry, Genetics and Molecular Biology, Veterinary Science

and Veterinary Medicine. В связи с междисциплинарным характером научных работ по тематике обзора поиск в eLIBRARY.RU был ограничен несколькими направлениями: сельское и лесное хозяйство, пищевая промышленность, биология; сортировка по релевантности и числу цитирований (2 и более); исключены из результатов поиска учебные пособия, патенты и отчеты. Глубина архива – 20 лет. С учетом специфики и сложности темы обзорного исследования были включены некоторые более ранние значимые публикации при условии их высокой цитируемости и релевантные публикации – безотносительно количества цитирований.

Критерии поиска информации в научной литературе были ограничены анализом данных о выявлении в продовольственном сырье и пищевой продукции микробиологических загрязнителей из зарубежных и отечественных информационных систем: Федеральной государственной информационной системы в области ветеринарии (Ветис, компонент «Веста») и Системы быстрого оповещения о безопасности пищевых продуктов и кормов Европейского Союза (RASFF). Также принимали во внимание сообщения СМИ и компетентных ведомств в области обеспечения пищевой безопасности о вспышках заболеваний у людей, связанных с употреблением контаминированной пищевой продукции. Процент обнаружений (Веста) и нотификаций (RASFF) по отдельным группам микроорганизмов рассчитывали относительно их общего числа для всех групп.

Результаты и их обсуждение

Мониторинг микробиологической контаминации продукции животноводства. «В целях определения приоритетных направлений государственной политики в области обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов, охраны здоровья населения, а также в целях разработки мер по предотвращению поступления на потребительский рынок некачественных и опасных пищевых продуктов, материалов и изделий органами государственного надзора организуется и проводится мониторинг качества и безопасности пищевых продуктов, здоровья населения» (ст. 14 Федерального закона от 02.01.2000 № 29-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов»). «Под мониторингом понимается система наблюдения, анализа, оценки качества и безопасности пищевых продуктов, материалов и изделий, контактирующих с пищевыми продуктами (далее именуются – пищевая продукция), питания и здоровья населения» (Постановление Правительства Российской Федерации от 22.11.2000 № 883 «Об организации и проведении мониторинга качества, безопасности пищевых продуктов и здоровья населения»). Мониторинг безопасности представляет собой рутинный лабораторный контроль содержания

в образцах продукции опасных для здоровья человека и животных загрязнителей, в том числе микробиологических.

Результаты ретроспективного анализа мониторинга микробиологического загрязнения продукции птицеводства за 2015–2019 гг., проведенного по данным автоматизированной системы учета лабораторных исследований «Веста» А. М. Абдуллаевой и др., демонстрируют тенденцию сохранения ежегодного стабильно высокого уровня контаминации бактериями *Salmonella* spp. в июле и *Listeria monocytogenes* в августе [14]. В другой работе А. М. Абдуллаевой за указанный период максимальное количество случаев заражения птицы и продукции отмечено в октябре и марте для бактерий рода *Salmonella*, в мае и июле для бактерий рода *Listeria* [15]. Информация об изменениях контаминации продукции птицеводства конкретными доминирующими микроорганизмами необходима при разработке превентивных мер ее контроля. Данные мониторинга сопоставлены с информацией о заболеваемости сальмонеллёзом поголовья птиц [14]. Совпадение максимумов контаминации и заболеваемости указывает на необходимость усиления мер санации производства по всей технологической цепи.

Ретроспективный анализ результатов исследований пищевой продукции в Нижегородской области за 2011–2020 гг. (данные лабораторных исследований пищевой продукции и Государственные доклады Управления Роспотребнадзора по Нижегородской области) позволил выявить группы пищевой продукции с наибольшим риском микробиологического загрязнения (в порядке убывания процента превышения гигиенических нормативов по микробиологическим показателям): кулинарная продукция (39,2 %), молоко и молочные продукты (23,1 %), мясо и мясные продукты (10,4 %), птица, яйца и продукты их переработки (5,2 %), мукомольно-крупяные и хлебобулочные изделия (3,5 %), кондитерские изделия (3,3 %), рыба, нерыбные объекты промысла и продукты, вырабатываемые из них (3 %), зелень и плодоовощная продукция (1,7 %) [16].

Согласно результатам мониторинга за 2016 г. готовой к употреблению мясной продукции в Китае 33,17 % образцов были контаминированы колиформными бактериями. Превалентность *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. и *Staphylococcus aureus* составила 2,18, 0,75 и 1,14 % соответственно [17]. Самый высокий уровень загрязнения продукции аэробными бактериями и колиформами отмечен с июля по сентябрь (благоприятные температурные условия для роста), а *L. monocytogenes* с января по март (способность к росту при низкой температуре, где снижен рост конкурентной микрофлоры).

По данным Федеральной государственной информационной системы в области ветеринарии

(Ветис, компонент «Веста»), доля проб продукции животноводства (включая сырье, полуфабрикаты и готовую мясную продукцию), несоответствующих по микробиологическим показателям нормативным значениям (включая наличие дрожжей, плесеней, превышение КМАФАнМ и др.), составила 3,2, 2,6 и 2,0 % в 2020, 2021 и 2022 гг. соответственно (табл. 1) [18]. Расчет проводили с учетом количества исследований в каждом году. Снижение доли проб с обнаружениями обусловлено эффективностью административных мер по выводу с рынка недоброкачественной продукции. Учтены результаты репрезентативных исследований по программе мониторинга ветеринарной безопасности в части контроля пищевой продукции и продовольственного сырья.

Количество выявляемых бактерий группы кишечной палочки снизилось с 2020 по 2022 г. Это может быть связано с ужесточением на предприятиях контроля за соблюдением правил санитарной обработки и их совершенствованием.

Доля обнаружений *S. aureus* невысока, но увеличилась за три года более чем в 7 раз. Это может быть связано с усугублением проблемы устойчивости бактерий, появлением новых резистентных штаммов и/или увеличением количества бессимптомных носителей стафилококков. *L. monocytogenes* и *Salmonella* spp. могут попадать в продукцию из-за нарушений процесса производства или от персонала, что нивелирует улучшение технологии.

Согласно данным Системы быстрого оповещения о безопасности пищевых продуктов и кормов Европейского Союза RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) в 2020–2022 гг. по категории опасности «патогенные микроорганизмы» зарегистрировано 887 нотификаций (учтены «alert notification» (оповещение о тревоге) и «border rejection notification» (уведомление о запрете на ввоз в ЕС)). Кроме продукции животноводства, в анализ включены кондитерские изделия, мороженое, готовые блюда и закуски, супы, бульоны и соусы [19]. Снижение за последние три года на территории ЕС количества нотификаций об обнаружении в пищевой продукции и животноводческом сырье бактерий *Salmonella* spp. и увеличение *L. monocytogenes* может быть связано с изменениями рынка продовольственного сырья и мер контроля на животноводческих предприятиях, а также со специфическими особенностями самих микроорганизмов (табл. 2). Вступили в силу нормы по композитной продукции.

Отсутствие линейного тренда обнаружений *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, сульфитредуцирующих клостридий и единичные обнаружения *Yersinia enterocolitica* и коагулазопозитивных штаммов *Staphylococcus* spp. можно объяснить, как и в случае выявления несоответствий по микробиологическим показателям в рамках государственного мониторинга

Таблица 1. Выявление несоответствия проб продукции животноводства, исследованных в рамках государственного мониторинга ветеринарной безопасности по микробиологическим показателям в 2020–2022 гг.

Table 1. Violations of livestock product safety: state monitoring of veterinary microbiological safety, 2020–2022

Показатель	Доля выявлений микроорганизмов, %		
	2020 г.	2021 г.	2022 г.
Бактерии группы кишечной палочки	23,6	20,7	18,8
<i>Listeria monocytogenes</i>	15,2	13,7	17,3
<i>Salmonella</i> spp.	7,3	8,6	7,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,22	0,50	1,60
Бактерии рода <i>Proteus</i>	0	0	0,058
Сульфитредуцирующие клостридии	0,090	0	0,058
Доля несоответствующих проб по всем микробиологическим показателям, %	3,2	2,6	2,0

Таблица 2. Выявление патогенных микроорганизмов в пищевой продукции и животноводческом сырье на территории ЕС в 2020–2022 гг. по данным системы быстрого оповещения RASFF

Table 2. Pathogenic microbial contamination of food products and livestock raw materials in the European Union in 2020–2022, RASFF Rapid Alert System

Показатель	Доля выявлений микроорганизмов, %		
	2020 г.	2021 г.	2022 г.
<i>Salmonella</i> spp.	61,2	57,8	56,9
<i>Listeria monocytogenes</i>	22,4	25,3	30,3
<i>Escherichia coli</i> (включая шига-токсин- и веротоксин-продуцирующие штаммы)	10,7	15,2	9,9
<i>Bacillus cereus</i>	0,95	0,34	0,37
Сульфитредуцирующие клостридии	0,32	0,68	0,37
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	0	0,37
<i>Staphylococcus</i> spp. (коагулазопозитивные)	0	0	0,37

ветеринарной безопасности на территории РФ, вспышечным характером контаминации. Согласно сведениям RASFF стафилококки за 2020–2022 гг. были впервые обнаружены в охлажденной лапше с яйцами из Словакии в ноябре 2021 г. (уровень риска признан незначительным, нотификация классифицирована как «information notification for attention»), второй случай – «Нэм-Чуа» (мясная закуска из свинины) – из Франции в сентябре 2022 г. (высокий уровень опасности, «alert notification»).

Таким образом, актуален анализ сведений научных публикаций о наиболее распространенных

источниках микробиологического загрязнения продовольственного сырья и готовой продукции бактериями рода *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus* и *Proteus*, *E. coli*, *B. cereus*, *Y. enterocolitica* и сульфитредуцирующими клостридиями, а также возможных подходах предотвращения/снижения до приемлемого уровня контаминации.

Зарубежный опыт изучения микробиологической контаминации готовой продукции. В современном мире растет спрос на удобные для употребления и полезные продукты питания, которые состоят из смешанных компонентов растительного и животного происхождения. Необходимо различать композитную продукцию, переработанные продукты животного происхождения и продукты, ошибочно относимые к композитным. Решение об отнесении продукции к конкретной категории принимается в каждом случае индивидуально. Композитный продукт – это пищевой продукт, содержащий как переработанные продукты животного происхождения, так и продукты растительного происхождения (формулировка применяется для композитных продуктов, импортируемых в ЕС) [20]. К композитным пищевым продуктам можно отнести готовые к употреблению макаронные изделия, рис и другие зерновые культуры с добавлением переработанных компонентов животного происхождения.

Патогенные микроорганизмы обнаружены в каждом первом из 10 образцов салатов, предназначенных для употребления без термической обработки и содержащих макароны, курицу, ветчину и копченый лосось [21]. В 1,4 % случаев выделена *L. monocytogenes*, в 5 % случаев обнаружен ген *ail* (*attachment invasion locus*), в 2,1 % – шига-токсин типа 1 (Stx1) и 2 (Stx2). Патогенные штаммы *Y. enterocolitica* и шига-токсин, продуцирующие *E. coli* (STEC), выделены не были. Ген *ail* отвечает, как и *inv*-ген, за инвазивность патогенных штаммов *Y. enterocolitica* [22]. Их экспрессия зависит от температуры. *Ail*-ген присутствует только у патогенных видов и штаммов *Yersinia*, в том числе во всех патогенных для человека изолятах *Y. enterocolitica*. Ни из одного исследованного образца не были выделены *Salmonella*, *Campylobacter* spp. и термотолерантные колиформные бактерии. Хранение продуктов питания при температуре 8 °C в течение короткого срока годности (3–5 суток) может способствовать росту психротрофных микроорганизмов (*L. monocytogenes* и *Y. enterocolitica*). Поэтому для минимизации риска микробной контаминации необходимо снижение максимально допустимой температуры хранения до 4 °C [21].

В работе М. L. Chau и др. выявлен потенциальный риск для потребителей, связанный с бактерией *L. monocytogenes* в ингредиентах салата из морепродуктов (копченый лосось) [23]. Однако, как отмечено в исследовании К. Söderqvist, многие ком-

поненты салата (и растительные, и животные) могут быть контаминированы *L. monocytogenes*, и риск заражения возрастает с увеличением количества добавляемых в салат ингредиентов [24]. Бактерия широко распространена в природе, обладает способностью к росту при низких температурах (> 1 °C) и широком диапазоне pH (4–9) [25]. Кроме того, для нее характерна высокая адгезия к поверхности оборудования пищевых производств и способность к формированию биопленок, в которых *L. monocytogenes* более устойчива к дезинфекции.

Количественная оценка риска для мясной продукции, проведенная Министерством сельского хозяйства США в 2003 г., показала высокий и очень высокий риск от *L. monocytogenes* для здоровья населения при употреблении неразогретых сосисок и мясных деликатесов [26]. Сухие/полусухие ферментированные колбасы, разогретые сосиски, паштеты и мясные спреды были охарактеризованы как продукты с низким и умеренным риском. Готовые продукты из мяса птицы при недостаточной термической обработке, согласно исследованиям, проведенным в Германии, по истечении срока годности представляют высокий риск для здоровья потребителей в связи с контаминацией бактериями *L. monocytogenes* [27]. В Южной Африке в 2017–2018 гг. зарегистрирована вспышка листериоза (1060 случаев), связанная с потреблением мясной продукции крупного предприятия «Enterprise Foods». *L. monocytogenes* ST6 была обнаружена в пробах окружающей среды производственного объекта и в готовых к употреблению мясных продуктах [28].

Генетическая характеристика штаммов *L. monocytogenes*, выделенных из образцов клинического биологического материала, отобранного у людей, которые заразились листериозом, и готовой мясной продукции с предприятий промышленной переработки и розничной торговли в Португалии, показала их сходство более чем на 90 % [29]. Изучение циркуляции *L. monocytogenes* на территории Польши и характеристика выделенных штаммов при сопоставлении результатов мониторинга пищевой продукции 2017–2019 гг. (молоко и молочная продукция, мясо и мясная продукция, рыба и рыбная продукция, кондитерские изделия и деликатесы) и клинических образцов 2012–2013 гг. доказывает, что пищевые продукты, готовые к употреблению, являются потенциальным источником листериоза человека [30].

В 2014 г. группой ученых проведено исследование влияния технологических стадий производства ветчины и колбас на уровень микробиологического загрязнения конечного продукта [31]. Отобрано 180 проб с заводов на четырех этапах: после измельчения, смешивания, охлаждения после первого процесса нагрева и охлаждения после второго нагрева. *L. monocytogenes* и *S. aureus* были обнаружены в образцах только на стадиях измельчения и смешивания.

вания, но не в готовой продукции. Это свидетельствует о важности соблюдения температурных условий первого и второго нагревания для обеспечения микробиологической безопасности. Количество аэробных микроорганизмов в конечном продукте не превышало 1,85 и 3,85 log КОЕ/г для ветчины и колбасы соответственно.

Таким образом, к основным микробиологическим контаминантам мясной продукции можно отнести *L. monocytogenes*, что обусловлено недостаточным контролем чистоты производственных помещений и технологического оборудования. Ее дальнейшее использование в качестве ингредиента комбинированной продукции повышает риск для здоровья потребителя, как и хранение готовых к употреблению продуктов, не предполагающих дальнейшей термической обработки, при температуре выше 4 °С.

Источником контаминации *S. aureus* могут являться сотрудники пищевых производств, т. к. человек может быть бессимптомным носителем данной бактерии [32]. К коагулазопозитивным относятся 7 видов стафилококков: *S. aureus*, *Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus lutrae*, *Staphylococcus schleiferi* ssp. *coagulans* и *Staphylococcus hyicus*, наиболее вирулентен *S. aureus* [33]. Результаты исследований подтверждают, что наличие в пищевой продукции не только *S. aureus*, но и других видов *Staphylococcus* spp., имеет значение для общественного здравоохранения [34].

Исследование в 2022 г. готовых к употреблению мясных продуктов чешских производителей и определение их генетических свойств, устойчивости к противомикробным препаратам и вирулентности показало, что сырая свинина является источником контаминации метициллинрезистентным штаммом *S. aureus* [35]. Результаты работы подтверждают способность этих штаммов выживать в технологическом процессе, а не при загрязнении мясных продуктов из окружающей производственной среды, и указывают на их распространение по цепи переработки мяса. Для минимизации риска необходим регулярный контроль на предприятии уровня загрязнения, а также соблюдение и совершенствование правил санитарной обработки.

Колбасные изделия, содержащие мясо жвачных животных, при недостаточной обработке могут стать источником заражения веротоксин-продуцирующей *E. coli* (VTEC) [36]. Вспышка в Дании в 2007 г. была связана с потреблением сосисок из говядины. В говядине, оставшейся на заводе, где они производились, был обнаружен вспышечный штамм *E. coli* O26:H11.

Бактерия *B. cereus* известна как опасный для человека пищевой патоген [37, 38]. Это почвенная бактерия, споры которой распространены в объектах окружающей среды [39]. *B. cereus* может посту-

пать в комбинированную продукцию как с ингредиентами животного, так и растительного происхождения. Например, рисом, картофелем, макаронами, хлебом и другой выпечкой [39]. Изучение распространенности *B. cereus* в продуктах питания, реализуемых в Польше (585 образцов), показало максимальное количество обнаружений в травах и специях (63,3 %), сырах с плесенью (52,5 %), минимальный – в свежих кислых сырах (8,6 %) [40]. Хотя уровень загрязнения не превышал 4,0 log КОЕ/г(мл), токсигенные штаммы *B. cereus* обнаружены во всех продуктах как растительного, так и животного происхождения. Это свидетельствует о риске инфекций пищевого происхождения или интоксикаций при их потреблении.

Добавление к готовой к употреблению продукции соусов, не подвергающихся термической обработке, способно увеличить риск микробной контаминации. Исследование 90 образцов соусов показало отсутствие в них бактерий *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. и *L. monocytogenes* [41]. Однако в трех образцах, а именно песто, грибной и сырный соусы, были обнаружены непатогенные *Listeria welshimeri*, *Listeria innocua* и *Listeria seeligeri* соответственно. Также отмечено увеличение количества несоответствующих требованиям продуктов ближе к окончанию срока годности. Наиболее высокая микробная пролиферация наблюдалась при анализе вскрытой упаковки через 48 ч. Бактерия *L. innocua* изначально считалась непатогенной и негемолитической, но исследование, проведенное в 2016 г., выявило ряд ее гемолитических изолятов [42]. Возможно, некоторые изоляты изначально были неверно классифицированы как *L. monocytogenes*. *L. welshimeri* и *L. innocua* могут маскировать присутствие в продукции *L. monocytogenes* [43, 44]. Был зарегистрирован случай заболевания человека со смертельным исходом, ассоциированный с *L. innocua* [45]. В мониторинге ЕС упор делается на контроль контаминации в готовой продукции *L. monocytogenes* [46].

По некоторым данным условия, потенциально препятствующие росту микроорганизмов в соусах, способны оказывать антагонистическое действие. Источником контаминации майонеза могут являться яйца и сырые яичные продукты [47]. Яйца и содержащие их пищевые продукты известны как основной источник вспышек инфекционных заболеваний, вызванных бактериями рода *Salmonella* [47–51]. Установлено, что снижение температуры уменьшает антибактериальную активность органических кислот, что позволяет *Salmonella typhimurium* лучше сохраняться в майонезе при низком значении pH [47]. Несмотря на преобладание сальмонеллы в соусах, содержащих яичные компоненты, и в соусах на основе молочной продукции и с добавлением растительных ингредиентов, состав микроорганизмов-контаминантов отличается.

Крупная вспышка сальмонеллёза, связанная с потреблением мороженого, контаминированного *Salmonella enteritidis*, была зарегистрирована в 1994 г. в США [52]. К загрязнению привело использование одних и тех же ёмкостей для перевозки яичных продуктов и пастеризованного премикса. Даже низкий уровень содержания некоторых бактерий, а именно 25 клеток *S. enteritidis* на порцию мороженого (65 г), может вызвать инфекцию у человека [53].

Добавление к композитной продукции смеси растительных и животных жиров, особенно без дополнительной термической обработки, может привести к повышению риска микробиологической контаминации. Исследования демонстрируют отсутствие роста *L. monocytogenes* в жирах животного происхождения на примере сливочного масла [54]. Маргарин и спреды, не содержащие сливочного масла, также не представляют дополнительной угрозы, т. к. не поддерживают рост *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 и *L. monocytogenes*. Однако рост *L. monocytogenes* отмечен между 42 и 63 днями хранения при температуре 10 °С в смеси сливочного масла и маргарина, а также между 3 и 7 днями при температуре 21 °С.

Исследования микробиологической контаминации продовольственного сырья и готовой продукции в Российской Федерации. Отечественные исследования смешанной готовой пищевой продукции, содержащей компоненты животного происхождения, имеют ряд особенностей, которые требуют иного подхода к анализу научной информации по сравнению с зарубежными источниками. Во-первых, для большинства работ характерно фокусирование на одном из компонентов, по которому классифицируется вся продукция. Например, в отношении продукта «шаурма из свинины» анализу подвергается мясо как основной компонент, а растительные ингредиенты (хлеб, овощи, зелень, специи и т. д.) и дополнительные ингредиенты животного происхождения (соусы на основе яичной и молочной продукции и т. д.) в качестве источника контаминации учитываются редко. Во-вторых, в одну категорию (например, «полуфабрикаты из свинины») включается широкий ряд отличающихся по составу продуктов, независимо от дополнительных компонентов животного и растительного происхождения.

Сырое мясо может быть контаминировано бактериями *Salmonella* spp., *Y. enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *C. perfringens* и *S. aureus* (мясо птицы бактериями родов *Salmonella* и *Campylobacter*) [55]. Исследования мясного сырья и готовой мясной продукции на базе ГБУВК Пермский ВДЦ в 2009–2013 гг. демонстрируют малое количество обнаружений (бактерии группы кишечной палочки и сальмонеллы) в мясном сырье [56]. Бактерии группы кишечной палочки обнаружены в 1 образце из 56 и в 4 из 55 в 2009 и 2011 г. соответственно, сальмонеллы – в 2 из 55 в 2011 г. В готовой

продукции выявлено не только большее количество образцов, контаминированных бактериями группы кишечной палочки, но также бактериями рода *Salmonella* и *Listeria*. В работе Н. А. Татарниковой О. Г. Мауль приведены данные по обнаружению *L. monocytogenes* в трех видах пищевых продуктов. Выявлено, что наибольший процент обсеменения мяса и мясных продуктов *L. monocytogenes* приходится на фарши (из говядины и мяса птицы механической обвалки) – 67 %. В 25 % проб мясных полуфабрикатов, сырьем для которых было мясо крупного рогатого скота, выявлена *L. monocytogenes* [56].

При изучении контаминации на различных этапах убоя и переработки туш крупного рогатого скота и свиней патогенными бактериями рода *Salmonella* и *L. monocytogenes* установлено, что глубокие слои мясных отрубов не обсеменены микроорганизмами [57]. Согласно литературным данным проникновение бактерий в глубокие слои мяса зависит от влажности, температуры и других факторов. Например, *Salmonella* spp. при комнатной температуре за сутки проникает на 14 см, а при 2–4 °С за месяц не более чем на 1 см. В исследовании Д. С. Батаевой и др. показано, что загрязнение происходит на этапах съемки шкур и извлечения внутренних органов [57]. Максимальный показатель контаминации микроорганизмами на этапе зачистки туш крупного рогатого скота зафиксирован в работе [58]. В связи с неэффективностью первичной переработки туш для снижения их обсемененности происходит контаминация мясных полуфабрикатов.

Таким образом, мясное сырье менее контаминировано, чем полуфабрикаты из него. По данным КГБУ «Алтайская краевая ветеринарная лаборатория» за 2010–2013 гг., *L. monocytogenes* стабильно выявляется в полуфабрикатах и готовой мясной продукции [59]. Патогенная микрофлора может проникать в готовые продукты и полуфабрикаты через объекты внешней среды, с биологическими агентами, контактным путем и в результате нарушения санитарно-гигиенического режима производства и условий хранения [60].

В работе И. Г. Серегина и др. отмечены более выраженные изменения микробиологических показателей полуфабрикатов из говядины, свинины, баранины и белого мяса птицы, по сравнению с исходным сырьем, при хранении продукции в охлажденном состоянии в течение 5 суток [61]. В начале и конце срока хранения были выявлены бактерии группы кишечной палочки в 25,0 и 37,5 % образцов, *Salmonella* spp. – в 12,5 и 25,5 % образцов соответственно. Количество образцов, контаминированных *C. perfringens* в начале и в конце срока хранения, составило 12,5 %. *Listeria* spp. и другие патогенные микроорганизмы не обнаружены ни в сырье, ни в полуфабрикатах. КМАФАнМ к концу срока хранения для большинства образцов полу-

фабрикатов было на 1–1,5 log выше, чем для сырья. Авторами отмечено, что особое внимание должно уделяться условиям и срокам хранения полуфабрикатов из свинины и мяса птицы.

Этой же группой ученых отдельно проведен анализ обнаружений по микробиологическим показателям полуфабрикатов из мяса птицы (филе, фарш и мясо механической обвалки) [62]. *L. monocytogenes* в исследованных образцах не была обнаружена, но выделены бактерии группы кишечной палочки, родов *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, клостридии и стафилококки. Наиболее загрязненными оказались фарш и мясо механической обвалки.

Производство некоторых мясных полуфабрикатов (котлеты, ёжики, тефтели) предполагает добавление яиц в качестве одного из ингредиентов. Патогенные микроорганизмы родов *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Klebsiella* и *Rickettsia* развиваются совместно с *Enterobacteriaceae*, *Moraxellaceae*, *Bifidobacteriaceae* и *Lachnospiraceae* в кишечной среде эмбриона птичьего яйца [63]. Исследования 2016 г., проведенные на территории Кабардино-Балкарской Республики, показали, что 6,18 % продукции птицеводства (тушки кур, полуфабрикаты, субпродукты, суповые наборы, яйца) загрязнено *Salmonella* spp., основной выделяемый серотип – *S. enteritidis* [64]. Отмечено, что в возникновении пищевых сальмонеллез у человека ведущую роль играет меланж. Для продуктов смешанного состава с добавлением яиц и яичных продуктов высок риск переноса микробиологических загрязнителей из сырья. Для его минимизации необходима достаточная по времени и температуре тепловая обработка.

Рыба и рыбная продукция может быть загрязнена патогенными и условно-патогенными микроорганизмами семейства *Enterobacteriaceae* (бактерии *E. coli*, *Salmonella* spp., *Rahnella aquatilis*, *Moellerella wisconsensis*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae* и *Citrobacter freundii*) в процессе хранения на льду [63]. При изучении микробиологических рисков, связанных с употреблением в пищу дальневосточных лососей, с учетом объемов вылова и продукции из них на потребительском рынке, показана опасность для здоровья населения [65]. Исследована динамика развития микрофлоры при хранении рыбных кулинарных полуфабрикатов с добавлением дополнительных компонентов: картофеля, моркови, репчатого лука и специй [66]. Основными микроорганизмами, которые определяют микрофлору образца полуфабриката из филе и икры трески, доведенного до полной готовности, после 33 суток хранения при –18 °С были *Bacillus asterosporus*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus macerans*. В полуфабрикате, доведенном до полуготовности, после 50 суток хранения обнаружены протеолитически активные *Pseudomonas facilis* и *B. subtilis*, последние являлись преобладающим видом.

Молоко и молочная продукция являются благоприятной средой для развития микроорганизмов, в том числе патогенных и условно-патогенных. В сыром молоке выявляют мезофильные микроорганизмы, молочнокислые и психрофильные бактерии родов *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* и *Corynebacterium* [63]. Мезофильные и анаэробные лактатсбраживающие микроорганизмы *Clostridium butyricum*, *Clostridium tyrobutyricum* и *Clostridium sporogenes*, приводящие к нарушению технологии производства молочных продуктов в результате маслянокислого брожения, обнаружены в сыром молоке [67]. В исследовании установлено, что в осенне-зимний период преобладали виды *C. butyricum* и *C. tyrobutyricum*, а в весенне-летний *C. sporogenes* и *C. tertium*. После пастеризации устойчивые к высоким температурам бактерии родов *Microbacterium*, *Bacillus*, *Corynebacterium* и *Clostridium* способны развиваться и размножаться [55, 63].

Результаты исследований влияния различных групп микроорганизмов (молочнокислых, бактерий группы кишечной палочки, дрожжей и споровых бактерий) на качество и способность к хранению сырых сливок для производства масла показали, что наибольшие микробиологические риски связаны с лактококками, бактериями группы кишечной палочки и дрожжами [68]. Менее значимо обсеменение термофильным стрептококком, споровыми бактериями рода *Bacillus* и споровыми анаэробными микроорганизмами рода *Clostridium* в связи с отсутствием их развития и метаболизма при температурах хранения 10 ± 1 и 4 ± 2 °С. Г. М. Свириденко и др. отмечено, что высокотемпературная пастеризация сливок не гарантирует полной ликвидации риска, т. к. возможен выход клеток из состояния термического шока и восстановление их жизнедеятельности [68].

При производстве мучных кондитерских изделий добавление сливочного крема повышает риск контаминации готовой продукции бактериями группы кишечной палочки [69]. Как отмечено в работе С. П. Поляковой и др., средняя проба изделия в целом может соответствовать нормам безопасности, а большая часть образцов крема содержать бактерии группы кишечной палочки выше допустимого уровня в 0,01 г продукта.

Исследования переработанного молочного сырья для производства готовой продукции показали, что некоторые микроорганизмы в процессе адаптации к стрессовым внешним факторам (сепарирование, гомогенизация, УФ-облучение, резкие перепады температур при хранении и тепловой обработке) способны изменять свойства [70]. Они переходят в некультивируемое состояние (покоящиеся формы), и стандартные микробиологические методы не поз-

воляют их обнаружить. Выделенные штаммы находящихся форм микроорганизмов могут симбиотически существовать с условно-патогенными *E. coli* и *S. aureus* и угнетать жизнедеятельность лактобактерий.

Результаты исследований бактериальной обсемененности (КМАФАнМ) и изменения функциональных свойств термически обработанных сыров (из замороженного сырного сырья или замороженных после термомеханической обработки) показали, что низкотемпературное хранение замедляет биологические и физико-химические изменения в сыре, что может увеличить срок его годности [71]. Замораживание образцов при -14 ± 2 °C позволяет снизить показатель КМАФАнМ в среднем на 0,5 порядка, а при -55 ± 2 °C – на порядок, т. е. режимы замораживания влияют на сохранность бактериальных клеток. Но при термической обработке сыра как из размороженного, так и из замороженного сырного сырья происходит ухудшение его функциональных свойств.

Рассмотрены особенности контаминации бактериями рода *Campylobacter* пищевых продуктов растительного и животного происхождения и объектов окружающей среды на производственных предприятиях: из 148 исследованных проб выделено 50 штаммов *Campylobacter* spp. [72]. Более 45 % обнаружений установлены для продукции птицеводства (в том числе полуфабрикатов). 19 штаммов из 27 принадлежали виду *C. jejuni*. Кроме того, в 19,0 % образцов мяса птицы и 14,3 % проб сырого коровьего молока обнаружены патогенные бактерии рода *Salmonella*.

Микрофлора растительных продуктов представлена микроорганизмами родов *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* и *Enterococcus* [55]. При использовании загрязненных поливных вод в процессе выращивания растительного сырья может происходить его контаминация энтеропатогенными бактериями *L. monocytogenes*, *Salmonella* и *Shigella*, патогенными штаммами *E. coli*, *Campylobacter*, *Clostridium botulinum* и *C. perfringens*. Такие растительные ингредиенты будут представлять высокий риск контаминации комбинированной продукции, не предполагающей по технологии приготовления достаточную термическую обработку.

Изучены показатели микробиологической безопасности порошкообразных овощей и растительно-молочных композиций с их использованием [73]. Основную микрофлору сухих овощей составляют протеолитические микроорганизмы. Сульфитредуцирующие клостридии, *E. coli*, *Salmonella* spp., *B. cereus* и *S. aureus* не обнаружены. Липолитические микроорганизмы обнаружены лишь в моркови ($2,2 \times 10^2$ КОЕ/г). Показано, что внесение растительных ингредиентов в молочную основу, с одной стороны, усиливает ингибирующее воздействие тем-

пературы на микробные клетки за счет уменьшения pH, а с другой – защищает микроорганизмы от воздействия высокой температуры. Значение имеет степень дисперсности частиц: чем они крупнее и их количество в смеси больше, тем ниже эффективность пастеризации.

В работе С. А. Шевелевой и др. отмечено, что развитие остаточной микрофлоры в герметично упакованных охлажденных кулинарных изделиях в процессе хранения зависит от состава продукта, температуры хранения и непрерывности цепи холода [74]. Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы (*E. coli*, *S. aureus*, бактерии *Proteus* и *Salmonella*, *L. monocytogenes*) не обнаружены на протяжении предполагаемого срока годности (7–14 суток плюс коэффициент резерва $\times 1,3$ – $1,5$). Однако установлено, что блюда из рыбной котлетной массы и отварная птица менее стабильны при хранении, т. к. по истечении 80 % срока хранения наблюдалась активизация анаэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры (органолептические признаки порчи отсутствовали). В крупяных кашах и гарнирах, супах с макаронными изделиями и макаронах, картофельном пюре рост микрофлоры наступал к моменту истечения 70 % срока наблюдения и сопровождался появлением органолептических признаков порчи. Для продуктов, содержащих большое количество углеводов, активизация анаэробной и факультативно-анаэробной флоры происходит быстрее за счет развития сахаролитических микроорганизмов. Оптимальная температура хранения готовых блюд 3 ± 1 °C (активизация микрофлоры отмечена в 17 % случаев до истечения срока).

Минимизация риска микробиологической контаминации. Исходя из сведений проанализированных источников, для минимизации риска микробиологической контаминации на предприятии необходим регулярный контроль уровня загрязнения (в том числе контроль сырья), соблюдение и совершенствование правил санитарной обработки и условий хранения. Для комбинированной продукции требуется снижение максимально допустимой температуры хранения до 4 °C. Для продуктов смешанного состава высок риск переноса микробиологических контаминантов каждого из ингредиентов. Для его минимизации необходима достаточная по времени и температуре тепловая обработка.

В случае готовых продуктов с добавлением растительных ингредиентов и соусов, не подразумевающих дополнительной температурной обработки, возможно использование современных технологий хранения. В качестве альтернативы предложена обработка кулинарной продукции электромагнитным полем [75]. Эффективны технологии интенсивного охлаждения и шоковой заморозки [76].

Кроме того, возможно применение защитных пищевых покрытий. Перспективным антимикробным

компонентом при их изготовлении является хитозан [77]. Установлено, что защитные покрытия с его применением оказывают подавляющее воздействие на развитие микрофлоры мяса и мясопродуктов. Наиболее эффективны составы на основе растворов хитозана с желатином и хитозана с альгинатом натрия в соотношении 1:1. Предлагаемая в работе технология позволяет контролировать наиболее важные при хранении продукции барьерные факторы: активность воды (A_w), pH среды, окислительно-восстановительный потенциал (ОВ-потенциал) и добавление консервантов [77]. В составе разработанного покрытия органическая кислота уменьшает pH и ОВ-потенциал, биополимеры уменьшают A_w , а хитозан обладает антиоксидантной активностью.

Барьерными бактериостатическими свойствами обладают органические кислоты, разрешенные в качестве безопасных консервантов. Добавление к мясным полуфабрикатам смеси лимонной (Е330), винной (Е334), яблочной (Е296) и уксусной (Е260) кислот и лактата калия приводит к угнетению роста и размножения микроорганизмов в процессе хранения [78]. Антимикробное влияние лактатов на мясные продукты описано в работе [5]. Для разных видов продукции при добавлении лактата натрия отмечены подавление роста аэробных и анаэробных микроорганизмов, факультативно анаэробной *L. monocytogenes*, задержка выработки токсинов в протеолитическом микроорганизме *C. botulinum* и т. д.

При длительном хранении охлажденного мясного сырья для предотвращения его микробиологической контаминации возможно применение упаковки под вакуумом [79]. В случае нарезанных и готовых к употреблению мясных продуктов (на примере чоризо и хамона) показана эффективность упаковки под вакуумом и в модифицированной газовой среде (20 % CO_2 , 80 % N_2) [80]. Количество *L. monocytogenes* снижалось в течение всего срока хранения (180 дней) при температурах 3, 11 и 20 °С. С. N. Horita и др. указывают на необходимость дополнительных исследований условий хранения сухого соленого вяленого продукта из говядины (чечина), т. к. состав жирных кислот в разных видах мяса может обуславливать различия уровней содержания *L. monocytogenes* в хамоне (свинина) и чечине. Возможно также применение современных нетермических технологий обеззараживания (импульсное электромагнитное облучение, импульсный ультразвук и т. д.) на этапе хранения [81].

Получены данные об эффективности использования бактериофагов для подавления роста и развития микроорганизмов, контаминирующих мясные полуфабрикаты (куриный фарш) [82]. Бактериофаги в экспериментальном исследовании лизировали внесенные клетки культур-хозяев. А. М. Abdullaeva и др. отметили целесообразность

проведения дальнейших исследований взаимодействия бактериофагов в случае смешанного состава микробиоты.

Для контроля риска микробиологической порчи мясного сырья предложена интеллектуальная экспертная автоматизированная система контроля [83]. В ее основе лежит эмпирическая прогнозная компьютерная модель для широкого спектра микроорганизмов, температур, различных условий хранения и начальной обсемененности. Система позволяет осуществлять оценку состояния микробиологического статуса в режиме реального времени и прогнозировать риск микробного обсеменения и развития микробиологической порчи мясного сырья.

Выводы

Смешивание разных видов сырья, даже если речь идет только о сырье животного происхождения, может привести к изменению микробиологического профиля готовой продукции. Добавление растительного сырья, для которого не предусмотрено жестких стандартов температурной обработки, может влиять на уровень и профиль микробиологического загрязнения. Таким образом, безопасность готовой пищевой продукции с компонентами животного происхождения (независимо от их процентного содержания) должна обеспечиваться по всей цепи ее жизненного цикла: получение продовольственного сырья, производство, транспортирование, хранение и реализация.

Причинами загрязнения готовой продукции смешанного состава, содержащей компоненты животного и растительного происхождения, могут являться контаминация сырья и оборудования и несоблюдение персоналом санитарно-гигиенических правил. Профили микробиологической контаминации свидетельствуют о возникновении дополнительных факторов риска, обусловленных синергетическими и антагонистическими эффектами, что приводит к усилению патогенности микроорганизмов в многокомпонентной продукции. Кроме того, необходимо учитывать изменение специфических свойств самих бактерий, таких как развитие антибиотикорезистентности и способность к формированию биопленок. Все это требует дополнительных мер контроля на конечной стадии производства продукции, а также при ее транспортировке, хранении и реализации.

Микробиологический риск, ассоциированный с потреблением контаминированных бактериями *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* и веротоксин-продуцирующей *Escherichia coli* готовых продуктов, может быть эффективно снижен термической обработкой, а в случае невозможности ее применения – упаковкой под вакуумом, в модифицированной газовой среде, использованием безопасных биологических препаратов, защитных пищевых покрытий и внедрением других современных барьерных технологий.

Контроль сырья является неотъемлемой частью процесса установления норм микробиологической безопасности готовой продукции. При оптимальном подборе сырья, соблюдении санитарных правил и норм на предприятиях, а также условий хранения возможно добиться ограничения роста нежелательных микроорганизмов в готовой продукции.

Критерии авторства

А. С. Хишов – сбор, анализ и интерпретация данных, написание текста. Т. В. Балагула – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных. О. И. Лаврухин – сбор, анализ и интерпретация данных, написание текста, редактирование. А. В. Третьяков – концепция и дизайн исследования, интерпретация данных, редактирование. О. Е. Иванова – анализ и интерпретация данных, написание текста, редактирование. Е. С. Козеичева – сбор, анализ и интерпретация данных, редактирование. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность отделу «Аналитический центр» ФГБУ «ВГНКИ» и отделу организации проведения лабораторных исследований

в сфере ветеринарии Управления государственного ветеринарного надзора Россельхознадзора.

Contribution

A.S. Khishov collected, analyzed, and interpreted the data, as well as wrote the manuscript. T.V. Balagula developed the research concept and plan, analyzed and interpreted the data. O.I. Lavrukhina collected, analyzed, and interpreted the data, wrote and proofread the manuscript. A.V. Tretyakov developed the research concept and plan, interpreted the data, and proofread the article. O.E. Ivanova analyzed and interpreted the data, wrote and proofread the manuscript. E.S. Kozeicheva collected, analyzed, and interpreted the data, proofread the manuscript. All the authors approved of the final version of the article and bear equal responsibility for the integrity of all its paragraphs.

Conflict of interest

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

Acknowledgments

The authors express their deepest gratitude to the Analytical Center of the Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality and to the Department for Laboratory Veterinary Research, Directorate for Domestic Veterinary Surveillance, Federal Veterinary and Phytosanitary Monitoring Service (Rosselkhoz nadzor).

References/Список литературы

1. Shur PZ, Zaitseva NV. Health risk assessment when giving grounds for hygienic criteria of food products safety. *Health Risk Analysis*. 2018;(4):43–56. (In Russ.). <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.4.05>
2. Shepelin AP, Dyatlov IA, Polosenko OV. Microbiological control of food products quality. *Bacteriology*. 2017;2(2):39–47. (In Russ.). [Шепелин А. П., Дятлов И. А., Полосенко О. В. Микробиологический контроль качества пищевой продукции // Бактериология. 2017. Т. 2. № 2. С. 39–47.]. <https://elibrary.ru/OSZQBZ>
3. Beczkiewicz ATE, Kowalczyk BB. Risk factors for *Salmonella* contamination of whole chicken carcasses following changes in U.S. regulatory oversight. *Journal of Food Protection*. 2021;84(10):1713–1721. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-144>
4. Mbarga MJA, Desobgo SCZ, Tatsadjieu LN, Kavhiza N, Kalisa L. Antagonistic effects of raffia sap with probiotics against pathogenic microorganisms. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):24–31. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-24-31>
5. Kostenko YuG. Guidelines on microbiological sanitary and risk prevention in the production and storage of meat products. Moscow: TEKHNOСFERA; 2015. 640 p. (In Russ.). [Костенко Ю. Г. Руководство по санитарно-микробиологическим основам и предупреждению рисков при производстве и хранении мясной продукции. Москва: ТЕХНОСФЕРА, 2015. 640 с.].
6. Fedorenko EV, Kolomiets ND, Sychik SI. Actual problems of the microbiological safety of food products. *Hygiene and Sanitation*. 2016;95(9):873–878. (In Russ.). <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2016-95-9-873-878>
7. Tulyakova TV, Kryukova EV, Paramonov GV. Problems of biological food safety. *Bulletin of the Medical Institute of Continuing Education*. 2022;(2):50–52. (In Russ.). https://doi.org/10.46393/27821714_2022_2_50
8. Malley TJV, Butts J, Wiedmann M. Seek and destroy process: *Listeria monocytogenes* process controls in the ready-to-eat meat and poultry industry. *Journal of Food Protection*. 2015;78(2):436–445. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-507>

9. Salmonella outbreak in Sweden linked to chocolate wafers [Internet]. [cited 2023 Jan 09]. Available from: <https://www.foodsafetynews.com/2021/04/salmonella-outbreak-in-sweden-linked-to-chocolate-wafers>
10. Fifty infected with *Escherichia coli* in France after eating pizza [Internet]. [cited 2023 Jan 09]. Available from: <https://vetandlife.ru/sobytiya/chislo-zarazhenij-kishechnoj-palochkoj-vo-francii-posle-upotrebleniya-piccy-vyroslo-do-50>
11. Salmonella found in Kinder products in France [Internet]. [cited 2023 Jan 09]. Available from: <https://vetandlife.ru/sobytiya/salmonellu-obnaruzhili-v-produkcii-kinder-vo-francii>
12. Gosmanov RG. Microbiology. St. Petersburg: Lan'; 2017. 496 p. (In Russ.). [Госманов Р. Г. Микробиология. СПб.: Лань, 2017. 496 с.].
13. Tsukanov MF, Chernomoretz AB. Technological aspects of the water activity indicator and its role in the quality of public catering products. *Technico-tehnologicheskie Problemy Servisa*. 2010;11(1):58–63. (In Russ.). [Цуканов М. Ф., Черноморец А. Б. Технологические аспекты показателя «активность воды» и его роль в обеспечении качества продукции общественного питания // Техничко-технологические проблемы сервиса. 2010. Т. 11. № 1. С. 58–63.]. <https://elibrary.ru/MNJDPH>
14. Abdullaeva AM, Blinkova LP, Usha BV, Valitova RK, Hokkanen MA. Microbiological monitoring of contamination of poultry products. *Russian Journal Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2020;35(3):291–303. (In Russ.). <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202003003>
15. Abdullaeva AM. Assessment of the level of contamination in a retrospective analysis of poultry meat and poultry products. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2020;86(6):232–236. (In Russ.). <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2020-86-6-232-236>
16. Bogomolova ES, D'yakova AO, Maksimenko EO, Olyushina EA. Microbiological and parasitological safety of food products: Retrospective analysis. *Relevant Issues of Public Health Management: Proceedings of the V All-Russian Scientific and Practical Conference, Issue XV; 2022; Nizhny Novgorod*. Nizhny Novgorod: Privolzhsky Research Medical University; 2022. p. 144–149. (In Russ.). [Ретроспективный анализ микробиологической и паразитологической безопасности пищевой продукции / Е. С. Богомолова [и др.] // Актуальные проблемы управления здоровьем населения: Сборник научных трудов V Всероссийской научно-практической конференции. Выпуск XV. Нижний Новгород, 2022. С. 144–149.]. <https://elibrary.ru/TEOWEE>
17. Yang S, Pei X, Yang D, Zhang H, Chen Q, Chui H, *et al.* Microbial contamination in bulk ready-to-eat meat products of China in 2016. *Food Control*. 2018;91:113–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.027>
18. Vesta [Internet]. [cited 2023 Jan 10]. Available from: <https://www.vetrf.ru/vetrf/vesta.html>
19. RASFF Window [Internet]. [cited 2023 Jan 10]. Available from: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search?event=SearchForm&cleanSearch=1>
20. Import of composite products to the EU. Questions and answers [Internet]. [cited 2023 Jan 10]. Available from: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/importExport/eu/files/FAQ-Composite-products.pdf>
21. Söderqvist K, Thisted-Lambertz S, Vågsholm I, Boqvist S. Foodborne bacterial pathogens in retail prepacked ready-to-eat mixed ingredient salads. *Journal of Food Protection*. 2016;79(6):978–985. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-515>
22. Tseneva GYa, Solodovnikova NYu, Voskresenskaya EA. Molecular aspects of yersinia virulence. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2002;4(3):248–266. (In Russ.). [Ценева Г. Я., Солодовникова Н. Ю., Воскресенская Е. А. Молекулярные аспекты вирулентности иерсиний // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002. Т. 4. № 3. С. 248–266.].
23. Chau ML, Aung KT, Hapuarachchi HC, Lee PSV, Lim PY, Lin JS, *et al.* Microbial survey of ready-to-eat salad ingredients sold at retail reveals the occurrence and the persistence of *Listeria monocytogenes* Sequence Types 2 and 87 in pre-packed smoked salmon. *BMC Microbiology*. 2017;17. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-0956-z>
24. Söderqvist K. Is your lunch salad safe to eat? Occurrence of bacterial pathogens and potential for pathogen growth in pre-packed ready-to-eat mixed-ingredient salads. *Infection Ecology and Epidemiology*. 2017;7(1). <https://doi.org/10.1080/2008686.2017.1407216>
25. Mørsetrø T, Langsrud S. *Listeria monocytogenes*: Biofilm formation and persistence in food-processing environments. *Biofilms*. 2004;1(2):107–121. <https://doi.org/10.1017/S1479050504001322>
26. Mataragas M, Skandamis PN, Drosinos EH. Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International Journal of Food Microbiology*. 2008;126(1–2):1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.014>
27. Meyer C, Fredriksson-Ahomaa M, Kleta S, Ellerbroek L, Thiel S, Märklbauer E. Occurrence of *L. monocytogenes* in ready-to-eat poultry products available on the German market. *Food Research International*. 2012;48(2):944–947. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.02.022>
28. Smith AM, Tau NP, Smouse SL, Allam M, Ismail A, Ramalwa NR, *et al.* Outbreak of *Listeria monocytogenes* in South Africa, 2017–2018: Laboratory activities and experiences associated with whole-genome sequencing analysis of isolates. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2019;16(7):524–530. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2586>

29. Henriques AR, Cristino JM, Fraqueza MJ. Genetic characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from industrial and retail ready-to-eat meat-based foods and their relationship with clinical strains from human listeriosis in Portugal. *Journal of Food Protection*. 2017;80(4):551–560. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-310>
30. Maćkiw E, Korsak D, Kowalska J, Felix B, Stasiak M, Kucharek K, et al. Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat food products in retail in Poland. *International Journal of Food Microbiology*. 2021;358. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109397>
31. Park M-S, Wang J, Park J-H, Forghani F, Moon J-S, Deog-Hwan O. Analysis of microbiological contamination in mixed pressed ham and cooked sausage in Korea. *Journal of Food Protection*. 2014;77(3):412–418. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-322>
32. Caggiano G, Dambrosio A, Ioanna F, Balbino S, Barbuti G, De Giglio O, et al. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in food industry workers. *Annali di Igiene: Medicina Preventiva e di Comunità*. 2016;28:8–14. <https://doi.org/10.7416/ai.2016.2080>
33. Balbutskaya AA, Dmitrenko OA, Skvortsov VN. The modern characteristics of species identification of coagulase-positive bacteria of genus. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2017;62(8):497–502. (In Russ.). [Балбуцкая А. А., Дмитренко О. А., Скворцов В. Н. Современные особенности видовой идентификации коагулазоположительных бактерий рода *Staphylococcus* // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62. № 8. С. 497–502.]. <https://elibrary.ru/ZFMCYL>
34. Fijałkowski K, Peitler D, Karakulska J. Staphylococci isolated from ready-to-eat meat – Identification, antibiotic resistance and toxin gene profile. *International Journal of Food Microbiology*. 2016;238:113–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.001>
35. Gelbířová T, Brodříková K, Karpíšková R. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Czech retailed ready-to-eat meat products. *International Journal of Food Microbiology*. 2022;374. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109727>
36. Ethelberg S, Smith B, Torpdahl M, Lisby M, Boel J, Jensen T, et al. An outbreak of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 caused by beef sausage, Denmark 2007. *Eurosurveillance*. 2007;12(22). <https://doi.org/10.2807/esw.12.22.03208-en>
37. Dewey-Mattia D, Manikonda K, Hall AJ, Wise ME, Crowe SJ. Surveillance for foodborne disease outbreaks – United States, 2009–2015. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries*. 2018;67(10):1–11. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6710a1>
38. Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal*. 2016;14(7). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4524>
39. Webb MD, Barker GC, Goodburn KE, Peck MW. Risk presented to minimally processed chilled foods by psychrotrophic *Bacillus cereus*. *Trends in Food Science and Technology*. 2019;93:94–105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.024>
40. Berthold-Pluta A, Pluta A, Garbowska M, Stefańska I. Prevalence and toxicity characterization of *Bacillus cereus* in food products from Poland. *Foods*. 2019;8(7). <https://doi.org/10.3390/foods8070269>
41. Caggiano G, Diella G, Trerotoli P, Lopuzzo M, Triggiano F, Ricci M, et al. A pilot survey on hygienic-sanitary characteristics of ready-to-eat sauces and pesto. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(14). <https://doi.org/10.3390/ijerph17145005>
42. Orsi RH, Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016;100:5273–5287. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7552-2>
43. Dailey RC, Welch LJ, Hitchins AD, Smiley RD. Effect of *Listeria seeligeri* or *Listeria welshimeri* on *Listeria monocytogenes* detection in and recovery from buffered *Listeria* enrichment broth. *Food Microbiology*. 2015;46:528–534. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.09.008>
44. Caggiano G, De Giglio O, Lovero G, Rutigliano S, Diella G, Balbino S, et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods sampled from a catering service in Apulia, Italy. *Annali di Igiene: Medicina Preventiva e di Comunità*. 2015;27:590–594. <https://doi.org/10.7416/ai.2015.2050>
45. Perrin M, Bemer M, Delamare C. Fatal case of *Listeria innocua* bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003;41(11):5308–5309. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.11.5308-5309.2003>
46. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs [Internet]. [cited 2023 Jan 12]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02005R2073-20200308>
47. Keerthirathne TP, Ross K, Fallowfield H, Whitley H. The combined effect of pH and temperature on the survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and implications for the preparation of raw egg mayonnaise. *Pathogens*. 2019;8(4). <https://doi.org/10.3390/pathogens8040218>
48. Louis MES, Morse DL, Potter ME, DeMelfi TM, Guzewish JJ, Tauxe RV, et al. The emergence of grade a eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections: New implications for the control of salmonellosis. *JAMA*. 1988;259(14):2103–2107. <https://doi.org/10.1001/jama.1988.03720140023028>

49. Chousalkar KK, Sexton M, McWhorter A, Hewson K, Martin G, Shadbolt C, *et al.* *Salmonella typhimurium* in the Australian egg industry: Multidisciplinary approach to addressing the public health challenge and future directions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(12):2706–2711. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1113928>
50. Patrick ME, Adcock PM, Gomez TM, Altekruze SF, Holland BH, Tauxe RV, *et al.* *Salmonella enteritidis* infections, United States, 1985–1999. *Emerging Infectious Diseases*. 2004;10(1):1–7. <https://doi.org/10.3201/eid1001.020572>
51. Kenny B, Miller MJ, McEvoy V, Centofanti A, Stevens CP, Housen T. A protracted outbreak of *Salmonella* Hessarek infection associated with one brand of eggs – South Australia, March 2017–July 2018. *Communicable Diseases Intelligence*. 2019;43. <https://doi.org/10.33321/cdi.2019.43.22>
52. Hennessy TW, Hedberg CW, Slutsker L, White KE, Besser-Wiek JM, Moen ME, *et al.* A national outbreak of *Salmonella enteritidis* infections from ice cream. *The New England Journal of Medicine*. 1996;334(20):1281–1286. <https://doi.org/10.1056/NEJM199605163342001>
53. Vought KJ, Tatini SR. *Salmonella enteritidis* contamination of ice cream associated with a 1994 multistate outbreak. *Journal of Food Protection*. 1998;61(1):5–10. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.1.5>
54. El-Hajjaji S, Gérard A, de Laubier J, Di Tanna S, Lainé A, Patz V, *et al.* Assessment of growth and survival of *Listeria monocytogenes* in raw milk butter by durability tests. *International Journal of Food Microbiology*. 2020;321. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108541>
55. Efimochkina NR, Sheveleva SA, Nityaga IM, Stankevich AA, Romanenko OS. The most significant species of microorganisms in separate groups of foodstuff. *Russian Journal Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2019;32(4):417–427. (In Russ.). <https://doi.org/10.25725/vet.san.hyg.ecol.201904013>
56. Tatarnikova NA, Maul OG. Pathogenic microflora of meat and meat products. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2015;51(1):87–89. (In Russ.). [Татарникова Н. А., Мауль О. Г. Патогенная микрофлора мяса и мясных продуктов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. Т. 51. № 1. С. 87–89.]. <https://elibrary.ru/TKKXUH>
57. Bataeva DS, Yushina YuK, Zaiko EV. Identification of the microbiological risks of contamination of cattle and pig carcasses with pathogens at slaughter and processing. *Theory and Practice of Meat Processing*. 2016;1(2):34–41. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-2-34-41>
58. Boeva SV. Microbial contamination of cattle carcasses at various slaughter stages. *Students' Contribution to Science and Practice of the Agro-Industrial Complex: Proceedings of 107th International Scientific and Practical Conference of Bachelors and Masters*. In 2 parts; 2022; Vitebsk. Vitebsk: Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine; 2022. p. 29–30. (In Russ.). [Боева С. В. Контаминация туш крупного рогатого скота микроорганизмами на различных этапах убоя // Студенты – науке и практике АПК: Материалы 107-й Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов. В 2-х частях. Витебск, 2022. С. 29–30.]. <https://elibrary.ru/YLIQWC>
59. Shcherbinin AV, Mezentsev SV, Spirkina OS. *Listeriae* in the products of meat-processing companies. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2014;118(8):101–104. (In Russ.). [Щербинин А. В., Мезенцев С. В., Спиркина О. С. Листерии в продукции мясоперерабатывающих предприятий // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2014. Т. 118. № 8. С. 101–104.]. <https://elibrary.ru/SMSYTN>
60. Makarov VA, Frolov VP, Shuklin NF. *Veterinary and sanitary expertise: basic technology and standardization of livestock products*. Moscow: Agropromizdat; 1991. 463 p. (In Russ.). [Макаров В. А., Фролов В. П., Шуклин Н. Ф. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства. М.: Агропромиздат, 1991. 463 с.].
61. Seryogin IG, Nikitchenko DV, Abdullayeva AM. Morphological composition of carcasses and muscle development of eland antelope. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2017;12(2):201–209. (In Russ.). <https://doi.org/10.22363/2312-797X-2017-12-2-201-209>
62. Abdullaeva AM, Seryogin IG, Nikitchenko VE. Microbiological monitoring of commercial poultry meat semi-finished products. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2017;12(4):350–358. (In Russ.). <https://doi.org/10.22363/2312-797X-2017-12-4-350-358>
63. Filatova VI. Microbiological control of food products of animal origin. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2022;(1):104–109. (In Russ.). <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.1.104>
64. Sabanchieva LK, Karashaev MF. Scientific concept of maintaining microbiological safety of poultry production. *Sustainable development: problems, concepts, and models: Proceedings of the All-Russian Conference with international participation*; 2017; Nalchik. Nalchik: Kabardino-Balkar Scientific Center of the RAS; 2017. p. 306–308. (In Russ.). [Сабанчиева Л. К., Карашаев М. Ф. Научная концепция обеспечения микробиологической безопасности продукции птицеводства // Устойчивое развитие: проблемы, концепции, модели: Материалы Всероссийской конференции с международным участием. Нальчик, 2017. С. 306–308.]. <https://elibrary.ru/ZFEYHJ>
65. Lazhentseva LYu, Shul'gin YuP. Microbiological risks of raw materials and products from the Far Eastern salmon. *Bulletin of the Pacific State Economic University*. 2007;41(1):68–74. (In Russ.). [Лаженцева Л. Ю., Шульгин Ю. П. Микробиологические риски сырья и продукции из дальневосточных лососевых рыб // Вестник Тихоокеанского государственного экономического университета. 2007. Т. 41. № 1. С. 68–74.]. <https://elibrary.ru/JXQRBX>

66. Sych AG, Anokhina ON. Microflora development in semi-finished fish products during storage. Innovative Technologies in the Food Industry: science, education, and production: Proceedings of the Extra-Mural International Scientific and Technical Conference; 2013; Voronezh. Voronezh: Voronezh State Technological Academy; 2013. p. 159–163. (In Russ.). [Сыч А. Г., Анохина О. Н. Исследование динамики развития микрофлоры при хранении рыбных кулинарных полуфабрикатов // Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство: сборник трудов Международной научно-технической конференции (заочная). Воронеж, 2013. С. 159–163.]. <https://elibrary.ru/TDCYZB>
67. Smirnov AM, Kartashova VM. Features of the microbial contamination of refrigerated milk and its effect on the milk products quality. Russian Journal Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. 2012;7(1):42–46. (In Russ.). [Смирнов А. М., Карташова В. М. Особенности микробной контаминации охлажденного молока и влияние ее на качество молочных продуктов // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2012. Т. 7. № 1. С. 42–46.]. <https://elibrary.ru/PCQLXR>
68. Sviridenko GM, Zakharova MB, Ivanova NV. Evaluation of microbiological risks in cream as a raw material for buttermaking. Food Systems. 2021;4(4):259–268. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-259-268>
69. Polyakova SP, Voronkova NE, Khokhlova EA. Safety of confectionery in the production control. Bread Products. 2012;(9):60–63. (In Russ.). [Полякова С. П., Воронкова Н. Е., Хохлова Е. А. Обеспечение безопасности мучных кондитерских изделий в рамках производственного контроля // Хлебопродукты. 2012. № 9. С. 60–63.]. <https://elibrary.ru/PCHKRD>
70. Ganina VI, Grinevich AI, Loiko NG, Guchok ZhL. Microbiological safety of the milk raw materials. Dairy Industry. 2015;(11):22–23. (In Russ.). [Микробиологическая безопасность молочного сырья / В. И. Ганина [и др.] // Молочная промышленность. 2015. № 11. С. 22–23.]. <https://elibrary.ru/UXVGNB>
71. Sviridenko GM, Kalabushkin VV, Shishkina AN, Uskova EE. Research on the possibility of extending the shelf life of cheese raw material and heat-treated cheese by their freezing for further use in HoReCa. Food Systems. 2020;3(4):39–44. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-4-39-44>
72. Efimochkina NR, Bykova IB, Stetsenko VV, Minaeva LP, Pichugina TV, Markova YuM, et al. The study of the contamination and the levels of *Campylobacter* spp. during the processing of selected types of foods. Problems of Nutrition. 2016;85(5):52–59. (In Russ.). [Изучение характера контаминации и уровней содержания бактерий рода *Campylobacter* в отдельных видах пищевой продукции / Н. Р. Ефимочкина [и др.] // Вопросы питания. 2016. Т. 85. № 5. С. 52–59.]. <https://elibrary.ru/WYMSNF>
73. Kharitonov DV, Dobriyan EI, Il'ina AM. Study of microbiological background of herbal ingredients and dairy-vegetable compositions. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2016;69(3):159–163. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2016-3-159-163>
74. Sheveleva SA, Efimochkina NR, Bykova IB, Batishcheva SYu. Substantiating microbiological safety indicators for new food products. Problems of Nutrition. 2014;83(S3):162. (In Russ.). [Обоснование микробиологических показателей безопасности для новых видов пищевой продукции / С. А. Шевелева [и др.] // Вопросы питания. 2014. Т. 83. № S3. С. 162.]. <https://elibrary.ru/XCEWKD>
75. Lubimova LV, Kupin GA, Vlasov PA, Bugayets NA. Processing electromagnetic field of culinary products for process control microbiological damage. Scientific Works of the Kuban State Technological University. 2016;(14):204–209. (In Russ.). [Обработка электромагнитным полем кулинарной продукции для управления процессами микробиологической порчи / Л. В. Любимова [и др.] // Электронный сетевой политематический журнал «Научные труды КубГТУ». 2016. № 14. С. 204–209.]. <https://elibrary.ru/ZHJRIX>
76. Zakharova II. Modern methods of cooling culinary products and raw materials in the food industry. Agro Production and Economics Journal. 2020;(1):7–13. (In Russ.). [Захарова И. И. Современные методы охлаждения кулинарной продукции и сырья в индустрии питания // Агропродовольственная экономика. 2020. № 1. С. 7–13.]. <https://elibrary.ru/WKXDZM>
77. Baranenko DA, Zabelina NA. Meat and meat products spoilage microflora vital functions suppression by means of hurdle technology. Food Production Processes and Equipment. 2011;(1):238–245. (In Russ.). [Бараненко Д. А., Забелина Н. А. Подавление жизнедеятельности микрофлоры порчи мяса и мясoproductов с помощью барьерной технологии // Процессы и аппараты пищевых производств. 2011. № 1. С. 238–245.]. <https://elibrary.ru/NDKBZR>
78. Gonotskiy VA, Kozak SS, Dubrovskiy NV, Dubrovskaya VI, Gonotskaya VA. Effective bacteriostatics as a guarantee of microbiological safety of semi-finished products during storage. In: Gushchin VV, editor. New Methods and Technologies of Processing Poultry and eggs: Collection of scientific papers. Rzhavki: VNIIPP; 2011. pp. 83–88. (In Russ.). [Эффективные бактериостатики – залог микробиологической безопасности полуфабрикатов в процессе хранения / В. А. Гоновский [и др.] // Новое в технике и технологии переработки птицы и яиц: Сборник научных трудов / под ред. В. В. Гущина. Ржавки: ВНИИПП, 2011. С. 83–88.]. <https://elibrary.ru/UAWYDZ>

79. Kostenko YuG, Bataeva DS, Krasnova MA. Chilled pork with a long shelf life: Sanitary and microbiological production aspects. *Meat Industry*. 2009;(4):66–67. (In Russ.). [Костенко Ю. Г., Батаева Д. С., Краснова М. А. Санитарно-микробиологические аспекты производства охлажденной свинины длительного срока годности // *Мясная индустрия*. 2009. № 4. С. 66–67.]. <https://elibrary.ru/KUEMNP>
80. Menéndez R, Rendueles E, Sanz JJ, Capita R, García-Fernández C. Behavior of *Listeria monocytogenes* in sliced ready-to-eat meat products packaged under vacuum or modified atmosphere conditions. *Journal of Food Protection*. 2015;78(10):1891–1895. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-103>
81. Horita CN, Baptista RC, Caturla MYR, Lorenzo JM, Barba FJ, Sant'Ana AS. Combining reformulation, active packaging and non-thermal post-packaging decontamination technologies to increase the microbiological quality and safety of cooked ready-to-eat meat products. *Trends in Food Science and Technology*. 2018;72:45–61. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.003>
82. Abdullaeva AM, Blinkova LP, Pershina TA, Udavliev DI, Satyukova LP, Pakhomov YuD, *et al.* Testing of bacteriophages as safe means of protection of minced chicken from contamination by microorganisms. *Russian Journal Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2019;31(3):259–265. (In Russ.). <https://doi.org/10.25725/vet.san.hyg.ecol.201903004>
83. Fomushkin VI, Blagoveshchenskaya MM, Nosenko SM, Blagoveshchenskii IG. The automated expert system for raw meat microbiological spoilage risks monitoring. *Food Industry*. 2015;(6):14–17. (In Russ.). [Интеллектуальная экспертная автоматизированная система контроля рисков микробиологической порчи мясного сырья / В. И. Фомушкин [и др.] // *Пищевая промышленность*. 2015. № 6. С. 14–17.]. <https://elibrary.ru/ULRKYN>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2452>
<https://elibrary.ru/KNRXXKQ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Исследование потенциально мешающих веществ при потенциометрическом определении антиоксидантной активности в пищевых системах



А. В. Тарасов^{ORCID}, Н. В. Заворохина*^{ORCID}, О. В. Чугунова^{ORCID}

Уральский государственный экономический университет^{ROR}, Екатеринбург, Россия

Поступила в редакцию: 09.02.2023

Принята после рецензирования: 01.03.2023

Принята к публикации: 04.04.2023

*Н. В. Заворохина: ip@usue.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-5458-8565>

А. В. Тарасов: <https://orcid.org/0000-0001-7642-6532>

© А. В. Тарасов, Н. В. Заворохина, О. В. Чугунова, 2023



Аннотация.

Для определения общей антиоксидантной активности в пищевой промышленности и нутрициологии используется большое количество методов. Например, потенциометрический метод с применением медиаторной системы гексацианоферратов калия ($K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$). Его преимуществами являются простая процедура анализа, низкая стоимость реактивов и оборудования. Однако интерференционные исследования данного метода до сих пор не были представлены. Цель работы заключалась в изучении реакционной способности 30 потенциально мешающих веществ, которые встречаются в напитках, по отношению к медиаторной системе гексацианоферратов калия в условиях, модулирующих потенциометрическое определение антиоксидантной активности.

Объектами исследования являлись углеводы (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза и мальтоза), красители (E102, E110, E124, E129, E132 и E133), консерванты (E210, E221, E222, E223, E236 и E260), подсластители (E420, E421, E950, E952 и E954), регуляторы кислотности и антиокислители (E296, E330, E331iii, E334, E337, E338, E363 и E386). Определение потенциала (E) и активности ионов водорода (pH) осуществляли потенциометрическим методом в растворе медиаторной системы в отсутствии и присутствии анализируемых веществ. Цистеин, аскорбиновая и галловая кислоты были проанализированы в качестве контроля.

Глюкоза, сахароза и мальтоза не мешают анализу напитков, тогда как фруктоза и лактоза проявляют незначительную положительную интерференцию с неустановленным механизмом. Яблочная (E296), лимонная (E330), винная (E334) и фосфорная (E338) кислоты продемонстрировали способность увеличивать потенциал медиаторной системы за счет снижения pH. Однако эти интерференционные эффекты наблюдаются только при высоких концентрациях исследованных соединений в электрохимической ячейке и нивелируются в результате шестикратного и более разбавления пробы. Индигокармин (E132), сульфит натрия (E221), гидросульфит натрия (E222) и метабисульфит натрия (E223) окисляются феррицианидом калия и проявляют положительную интерференцию. Полученные результаты позволяют утверждать, что феррицианид калия способен окислять соединения, отличные от природных антиоксидантов.

Промышленное использование индигокармина ограничено из-за его плохой светостойкости, в то время как сульфиты активно применяются в виноделии. Интерференция сульфитов вызывает озабоченность в анализе белых вин; она характерна для других методов определения антиоксидантной активности. Полученные данные могут быть использованы для корректировки результатов потенциометрического определения антиоксидантной активности в соответствии с известной концентрацией мешающего вещества.

Ключевые слова. Пищевые добавки, антиоксидантная активность, антиоксиданты, потенциометрия, интерференция, мешающее вещество, гексацианоферраты калия

Для цитирования: Тарасов А. В., Заворохина Н. В., Чугунова О. В. Исследование потенциально мешающих веществ при потенциометрическом определении антиоксидантной активности в пищевых системах // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 504–512. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2452>

Potential Interfering Substances and Potentiometric Antioxidant Activity Tests in Food Systems



Aleksey V. Tarasov^{ORCID}, Natalia V. Zavorokhina*^{ORCID},
Olga V. Chugunova^{ORCID}

Ural State University of Economics^{ORCID}, Yekaterinburg, Russia

Received: 09.02.2023
Revised: 01.03.2023
Accepted: 04.04.2023

*Natalia V. Zavorokhina: ip@usue.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-5458-8565>
Aleksey V. Tarasov: <https://orcid.org/0000-0001-7642-6532>

© A.V. Tarasov, N.V. Zavorokhina, O.V. Chugunova, 2023



Abstract.

The food industry knows a lot of methods to determine the total antioxidant activity. The potentiometric method includes the mediator system of potassium hexacyanoferrates ($K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$) and has proved to be quite effective in assessing the antioxidant activity of food products. This method is simple and cheap but its interference issues still remain understudied. This research covered 30 potential interfering substances in beverages and their reactivity toward the mediator system of potassium hexacyanoferrates.

The experiment featured carbohydrates (glucose, fructose, sucrose, lactose, maltose), dyes (E102, E110, E124, E129, E132, E133), preservatives (E210, E221, E222, E223, E236, E260), sweeteners (E420, E421, E950, E952, E954), and acidity regulators (E296, E330, E331iii, E334, E337, E338, E363, E386). The potential and pH were determined by the potentiometric method in a mediator system solution in the absence and presence of the abovementioned substances. Cysteine and ascorbic and gallic acids served as controls.

Glucose, sucrose, and maltose did not interfere with the analysis, while fructose and lactose showed an insignificant positive interference of unspecified mechanism. Malic (E296), citric (E330), tartaric (E334), and phosphoric (E338) acids increased the potential of the mediator system by lowering the pH. However, these interference effects were observed only at high concentrations in an electrochemical cell and were leveled after a sixfold dilution. Indigo carmine (E132), sodium sulfite (E221), sodium hydrosulfite (E222), and sodium metabisulfite (E223) were oxidized by potassium ferricyanide and showed significant positive interference. Potassium ferricyanide was capable of oxidizing compounds other than natural antioxidants.

The industrial use of indigo carmine is limited due to its poor light stability, while sulfites are popular components in winemaking. Sulfite interference is of particular concern in the analysis of white wines and is typical of other antioxidant activity methods. The obtained data can correct the results of the potentiometric antioxidant activity tests if the concentration of the interfering substance is known.

Keywords. Food additives, antioxidant activity, antioxidants, potentiometry, interference, interferant, potassium hexacyanoferrates

For citation: Tarasov AV, Zavorokhina NV, Chugunova OV. Potential Interfering Substances and Potentiometric Antioxidant Activity Tests in Food Systems. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):504–512. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2452>

Введение

Одним из приоритетов развития современного социально ориентированного государства является реализация плана достижения достаточного производства пищевых продуктов и обеспечения широких слоев населения продуктами здорового питания, необходимыми для активного и здорового образа жизни. Согласно Распоряжению Правительства РФ от 31.12.2020 № 3684-р «Об утверждении Программы фундаментальных научных исследований в РФ на долгосрочный период» в перечень приоритетных

направлений фундаментальных и поисковых научных исследований на 2021–2030 гг. внесена «разработка инновационных технологий новых специализированных и функциональных пищевых продуктов, пищевых ингредиентов». Важнейшей задачей пищевой промышленности является не только обеспечение достаточным количеством экологически чистой и качественной сельскохозяйственной продукцией, но и анализ влияния производимого сельскохозяйственного сырья на здоровьесбережение населения и профилактику алиментарных заболеваний.

Современный образ жизни человека, связанный с употреблением переработанных пищевых продуктов, воздействием вредных химических веществ и несбалансированной физической активностью, играет важную роль в развитии окислительного стресса и связанных с ним хронических неинфекционных заболеваний [1, 2]. В качестве одной из мер противодействия окислительному стрессу и профилактики заболеваний была предложена антиоксидантная терапия, в которой ключевую роль занимает естественное и дополненное (обогащенное антиоксидантами) питание [3, 4]. Это создает потребность в точном количественном измерении антиоксидантов в нутрициологии и пищевой промышленности. Подход к определению общего содержания антиоксидантов характеризуется меньшей трудоемкостью и успешно используется в калометрической характеристике растительных и пищевых образцов, которые представляют собой сложные многокомпонентные матрицы. В настоящее время разработано большое количество методов определения общей антиоксидантной активности, в том числе электрохимических, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки [5–7].

Потенциометрический метод с использованием медиаторной системы гексацианоферратов калия ($K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$) был предложен для определения антиоксидантной активности растворов в 2002 г. К преимуществам этого метода следует отнести простую процедуру анализа, низкую стоимость реактивов и оборудования. Потенциометрический метод определения антиоксидантной активности не требует использования стандарта и построения калибровочного графика, а окрашенные образцы могут быть проанализированы без предварительного многократного разбавления. В результате этого потенциометрический метод получил широкое распространение в анализе связанных с пищей образцов, таких как растительное лекарственно-техническое и плодово-ягодное сырье, напитки и биологически активные добавки [8–19]. Потенциометрический метод использовался в оценке качества функциональных напитков с улучшенными антиоксидантными, герпротекторными и криозащитными свойствами, разработанных на кафедрах технологии питания и пищевой инженерии Уральского государственного экономического университета [20–22]. Валидационные исследования потенциометрического метода определения антиоксидантной активности были сосредоточены на анализе эталонных антиоксидантных соединений, выявлении корреляции с другими аналитическими методами и оценке основных метрологических характеристик, в то время как подробное изучение интерференции не проводилось [8–12, 17, 18].

В предыдущей нашей работе сообщалось, что этиловый спирт вызывает концентрационно-зависимое

изменение потенциала индикаторного электрода в электрохимической ячейке и влияет на определяемую величину антиоксидантной активности [17]. Была предложена методика корректировки результатов оценки антиоксидантной активности алкогольных напитков в соответствии с концентрацией этанола, заявленной производителем. В этой работе мы расширили перечень исследованных потенциально мешающих веществ в напитках, включив в него 5 углеводов и 25 пищевых добавок.

Цель работы заключалась в изучении реакционной способности 30 потенциально мешающих веществ, которые встречаются в напитках, по отношению к медиаторной системе $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ в условиях, модулирующих потенциометрическое определение антиоксидантной активности.

Объекты и методы исследования

Химические реактивы. Все химические реактивы использовались без дополнительной очистки, т. е. в том виде, в котором они были получены от поставщика или производителя. При расчете концентрации учитывалось содержание основного вещества в коммерческом продукте. Гексацианоферрат (III) калия х.ч., гексацианоферрат (II) калия 3-водный х.ч., хлорид калия х.ч., хлорид натрия х.ч., гидрофосфат натрия 12-водный х.ч., дигидрофосфат калия х.ч., сульфит натрия ч.д.а., пиросульфит натрия ч., индигокармин ч.д.а., бензойная кислота ч.д.а., лимонная кислота 1-водная х.ч., винная кислота ч.д.а., цитрат натрия трехзамещенный 5,5-водный ч.д.а., тартрат калия-натрия 4-водный ч.д.а. и этилендиамин- N,N,N,N -тетрауксусной кислоты динатриевая соль х.ч. были получены от АО «Химреактивснаб» (Россия). D-(+)-мальтоза 1-водная, D-(+)-лактоза 1-водная, уксусная кислота ледяная х.ч., муравьиная кислота 85 % ч., ортофосфорная кислота 85 % ч.д.а., гидросульфит натрия тех. и сахарин были приобретены у ООО «АО Реахим» (Россия). D-(+)-глюкоза 1-водная, D-(–)-фруктоза и сахароза были поставлены АО «Вектон» (Россия). Тартразин 85 %, желтый «солнечный закат» FCF 90 %, понсо 4R 75 %, красный очаровательный AC 80 %, бриллиантовый голубой FCF стандарт и L-аскорбиновая кислота 99 % были получены от компании Sigma-Aldrich (США). Подсластители сорбит, маннит и ацесульфам калия были приобретены у ООО «Виннер» (Россия). Янтарная кислота х.ч., цикламат натрия стандарт, галловая кислота 1-водная ASC и L-цистеин гидрохлорид 99 % были поставлены ООО «Компонент-Реактив» (Россия), Foodchem International Corporation (Китай), ICN Biomedicals Inc. (Германия) и Panreac Quimica S.A.U. (Испания) соответственно. Стандарттитры для приготовления эталонных растворов соляной кислоты, серной кислоты и pH 2-го разряда по ГОСТ 8.135-2004 были приобретены у ООО «Уралхиминвест» (Россия).

Оборудование. Два потенциометрических анализатора ТА-Ион (ООО «НПП «Томьяналит», Россия) использовали для одновременного измерения электродного потенциала (Е) и водородного показателя (рН) в исследуемых растворах. Высокотемпературный обжиг и электрохимическую поляризацию платинового screen-printed электрода выполняли с помощью муфельной электропечи ПМ-1.0-7 (ООО «Теплоприбор», Россия) и вольтамперометрического анализатора ИВА-5 (ООО НПВП «ИВА», Россия) соответственно. Деионизованную воду получали на обратноосмотической установке Аквалаб УВОИ-МФ-1812 (АО «НПК «Медиана-Фильтр», Россия).

Измерение потенциала. С целью более точного контроля потенциала в условиях потенциометрического определения антиоксидантной активности использовали двухэлектродную электрохимическую ячейку с разделенными пространствами (рис. 1), в которой платиновый screen-printed электрод (ООО НПВП «ИВА», Россия) и хлорсеребряный электрод ЭВЛ-1МЗ.1 (ОАО «Гомельский завод измерительных приборов», Беларусь) служили индикаторным электродом и электродом сравнения соответственно. Платиновый screen-printed электрод был предварительно регенерирован высокотемпературным обжигом ($750\text{ }^{\circ}\text{C} \times 1\text{ ч}$), а затем подвергнут электрохимической поляризации в растворе серной кислоты ($0,1\text{ моль/дм}^3$) в интервале потенциалов от $-0,2$ до $+1,5\text{ В}$ при скорости развертки $0,1\text{ В/с}$ до получения воспроизводимой циклической вольтамперограммы [23, 24]. Электрод ЭВЛ-1МЗ.1 был подготовлен согласно инструкции по эксплуатации с использованием раствора хлорида калия ($3,5\text{ моль/дм}^3$)

в качестве внутреннего электролита. Потенциал электрода ЭВЛ-1МЗ.1 предварительно поверяли относительно контрольного хлорсеребряного электрода 6.0728.040 (Metrohm AG, Швейцария) с аналогичной системой сравнения с допустимым отклонением $\pm 2\text{ мВ}$. Индикаторный платиновый screen-printed электрод контактировал с исследуемыми растворами, тогда как хлорсеребряный электрод ЭВЛ-1МЗ.1 – с раствором хлорида калия ($3,5\text{ моль/дм}^3$). Исходным раствором служил натрий-фосфатный буфер рН 7,4, содержащий $10^{-2}\text{ моль/дм}^3\text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и $10^{-4}\text{ моль/дм}^3\text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Выбор такого состава медиаторной системы обусловлен тем, что он используется в анализе проб пищевых продуктов [10–18, 21].

Измерение рН. В измерениях использовали лабораторный комбинированный рН-электрод ЭСК-10603 (ООО «Измерительная техника, Россия), который был подготовлен согласно инструкции по эксплуатации с использованием раствора хлорида калия ($3,0\text{ моль/дм}^3$) в качестве внутреннего электролита. Электрод ЭСК-10603 был предварительно откалиброван относительно буферных растворов с эталонными значениями рН 1,65, 4,01 и 9,18. Линейная калибровочная кривая имела уравнение $E = 430,189 - 57,947 \times \text{pH}$ с коэффициентом аппроксимации $R^2 = 0,9999$.

Результаты и их обсуждение

Анализ антиоксидантов. L-цистеин, L-аскорбиновая и галловая кислоты, которые окисляются феррицианидом калия в стехиометрии 1, 2 и 4 соответственно, были проанализированы для контроля [17]. Полученные зависимости снижения потенциала индикаторного электрода от концентрации эталонных антиоксидантных соединений в электрохимической ячейке ($C_{\text{эхя}}$) имели линейный вид и описывались уравнениями (рис. 2):

$$\Delta E = -84,578 \times C_{\text{эхя}} - 30,133 \quad (R^2 = 0,9955) \\ \text{для L-цистеина,}$$

$$\Delta E = -162,33 \times C_{\text{эхя}} - 45,512 \quad (R^2 = 0,9961) \\ \text{для L-аскорбиновой кислоты,}$$

$$\Delta E = -305 \times C_{\text{эхя}} - 64,5 \quad (R^2 = 0,9997) \\ \text{для галловой кислоты.}$$

Анализ потенциально мешающих веществ в напитках. На первом этапе работы исследуемые вещества были протестированы на уровне их максимально допустимого содержания в напитках с целью установления наличия интерференционных эффектов. Максимально допустимые уровни веществ в напитках определили исходя из литературных данных. Согласно отчету [25] популярные газированные напитки и соки содержат следующие количества углеводов (г/дм^3): 1,02–87,36 сахарозы, 7,28–72,31 фруктозы, 6,24–63,30 глюкозы, 1,03–2,09 мальтозы, лактоза и

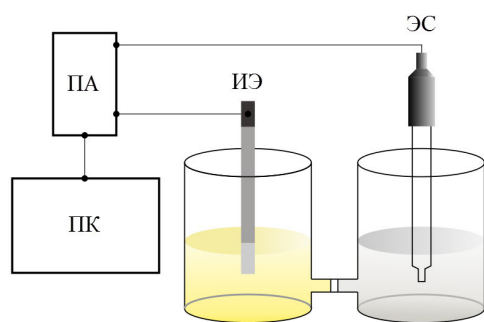


Рисунок 1. Схематическое изображение процедуры измерения потенциала в электрохимической ячейке с разделенными электродными пространствами:

ИЭ – индикаторный электрод; ЭС – электрод сравнения; ПА – потенциометрический анализатор; ПК – персональный компьютер

Figure 1. Measuring the potential in an electrochemical cell with separated electrode spaces: ИЭ – indicator electrode; ЭС – reference electrode; ПА – potentiometric analyzer; ПК – personal computer

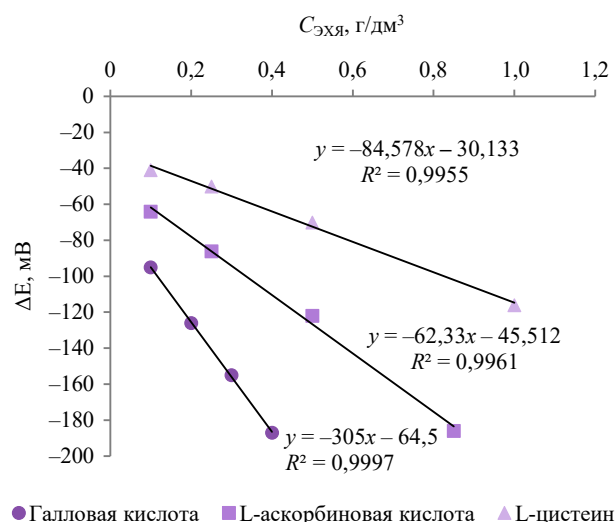


Рисунок 2. Изменение потенциала индикаторного электрода (ΔE) в натрий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,01 моль/дм³ $K_3[Fe(CN)_6]$ и 0,0001 моль/дм³ $K_4[Fe(CN)_6]$, в зависимости от концентрации добавленных антиоксидантов ($C_{эха}$)

Figure 2. Indicator electrode potential (ΔE) in sodium phosphate buffer pH 7.4 (0.01 mol/dm³ $K_3[Fe(CN)_6]$ and 0.0001 mol/dm³ $K_4[Fe(CN)_6]$) at different concentrations ($C_{эха}$) of antioxidants

галактоза отсутствуют. Коровье молоко содержит около 50 г/дм³ лактозы [26]. Согласно ГОСТ 32715-2014 общее содержание сахаров в десертных и ликерных винах не нормируется, но на практике может колебаться в интервалах 15–200 г/дм³. Таким образом, для анализа были выбраны следующие максимально допустимые концентрации углеводов в напитках (г/дм³): 5 для мальтозы, 50 для лактозы и 100 для глюкозы, фруктозы и сахарозы. Максимально допустимые уровни пищевых добавок в напитках были определены согласно СанПиН 2.3.2 1293-03 и ТР ТС 029/2012.

Медиаторная система $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ стабильная в слабокислой, нейтральной и слабощелочной средах, а потенциал инертного индикаторного электрода зависит не только от концентрации потенциалопределяющих ионов ($[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$), но и от pH и ионной силы раствора [23, 27–29]. С целью более корректной интерпретации результатов одновременно с измерением потенциала контролировали изменение pH. В отсутствии анализируемых веществ значение потенциала платинового электрода в натрий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 10^{-2} моль/дм³ $K_3[Fe(CN)_6]$ и 10^{-4} моль/дм³ $K_4[Fe(CN)_6]$, составило 342 ± 2 мВ ($n = 7$). Значения потенциалов и pH, зарегистрированные в присутствии максимально допустимого содержания анализируемых веществ в напитках, указаны в таблице 1.

Уменьшение потенциала индикаторного электрода без значительного изменения pH было зарегистрировано в присутствии лактозы (–4 мВ), фруктозы (–7 мВ), метабисульфита натрия (–62 мВ), гидросульфита натрия (–62 мВ), индигокармина (–65 мВ) и сульфита натрия (–73 мВ). Механизм интерференции лактозы и фруктозы остается неясным и может быть обусловлен изменением ионной силы раствора и/или структуры двойного электрического слоя в приэлектродном пространстве. При комнатной температуре в водной среде метабисульфиты ($S_2O_5^{2-}$) гидролизуются с образованием гидросульфитов (HSO_3^-), которые затем гидролизуются до сульфитов (SO_3^{2-}) [30]. Стандартный окислительно-восстановительный потенциал сульфит-ионов, в зависимости от продуктов реакции, составляет –0,58–1,12 В. Поэтому сульфиты легко окисляются феррицианидом калия, стандартный окислительно-восстановительный потенциал которого равен +0,364 В [31]. Аналогичные интерференционные эффекты следует ожидать от метабисульфита калия (E224), гидросульфитов калия (E228) и кальция (E227), а также от сульфитов калия (E225) и кальция (E226). Стандартный окислительно-восстановительный потенциал индигокармина равен –0,125 В, поэтому он окисляется феррицианидом калия в настоящих экспериментальных условиях [32]. Увеличение потенциала индикаторного электрода за счет снижения pH было зарегистрировано в присутствии яблочной (+11 мВ), лимонной (+25 мВ), винной (+27 мВ) и фосфорной (+32 мВ) кислот.

На втором этапе работы вещества с обнаруженными интерференционными эффектами были протестированы в более низких концентрациях (табл. 2), а полученные результаты были сопоставлены с результатами анализа антиоксидантов (рис. 2). Поскольку интерференционные эффекты лактозы и фруктозы, яблочной, лимонной, винной и фосфорной кислот наблюдаются только при их высоких концентрациях в электрохимической ячейке, то они могут быть нивелированы за счет разбавления анализируемой пробы. Из таблицы 2 следует, что отсутствие мешающего действия фосфорной кислоты обеспечивается в результате двукратного разбавления пробы. Мешающее действие лактозы, лимонной, винной и яблочной кислот устраняется в результате трехкратного разбавления пробы, тогда как для полного преодоления интерференционного эффекта фруктозы требуется пятикратное разбавление. Учитывая возможный синергизм действия кислот в случае их совместного присутствия, рекомендуемое разбавление пробы в электрохимической ячейке составляет не менее шести раз.

Промышленное использование полусинтетического красителя индигокармина ограничено из-за его плохой устойчивости к свету [33]. Поэтому среди проанализированных соединений в анализе

напитков опасение вызывают только сульфиты, которые, например, добавляются в процессе виноделия. В отличие от красных вин белые вина содержат меньшие количества природных антиоксидантов, поэтому интерференция сульфитов в белых винах вызывает озабоченность [17]. Проб-

лема интерференции сульфитов является общей для методов определения антиоксидантной активности. В частности, положительная интерференция сульфитов была зарегистрирована в спектрофотометрических анализах Фолина-Чокальтеу, FRAP и ABTS [34].

Таблица 1. Результаты измерения потенциала (Е) и активности ионов водорода (pH) в присутствии максимально допустимого содержания анализируемых веществ в напитках

Table 1. Potential (E) and activity of hydrogen ions (pH) at the maximal permissible content of analytes in beverages

Вещество	$C_{\text{эля}}, \text{г/дм}^3$	Е, мВ	pH
Углеводы:			
– Глюкоза, D-(+)-	100 ^a	342	7,3
– Фруктоза, D-(-)-	100 ^a	335	7,2
– Сахароза	100 ^a	342	7,3
– Лактоза, D-(+)-	50 ^b	338	7,3
– Мальтоза, D-(+)-	5 ^a	341	7,4
Красители:			
– Тартразин (E102)	0,2 ^c	342	7,5
– Желтый «солнечный закат» FCF (E110)	0,2 ^c	341	7,5
– Понсо 4R (E124)	0,2 ^c	341	7,5
– Красный очаровательный АС (E129)	0,2 ^c	340	7,5
– Индигокармин (E132)	0,2 ^c	277	7,2
– Бриллиантовый голубой FCF (E133)	0,2 ^c	340	7,5
Консерванты:			
– Бензойная кислота (E210)	0,2 ^c	346	7,0
– Сульфит натрия (E221)	0,3 ^c	269	7,2
– Гидросульфит натрия (E222)	0,3 ^c	280	6,9
– Пиросульфит/метабисульфит натрия (E223)	0,3 ^c	280	6,9
– Муравьиная кислота (E236)	0,1 ^c	340	7,0
– Уксусная кислота (E260)	2,0 ^d	342	4,3
Регуляторы кислотности и антиокислители:			
– Яблочная кислота (E296)	3,0 ^c	353	3,2
– Лимонная кислота (E330)	5,0 ^c	367	2,8
– Цитрат натрия трехзамещенный (E331iii)	4,0 ^c	345	7,4
– Винная кислота (E334)	4,0 ^c	369	2,7
– Тартрат калия-натрия (E337)	4,0 ^d	344	7,4
– Фосфорная кислота (E338)	2,0 ^c	374	2,6
– Янтарная кислота (E363)	0,1 ^c	342	7,0
– Этилендиаминтетраацетат динатрий (E386)	0,2 ^c	343	7,2
Сахарозаменители:			
– Сорбит (E420)	0,40 ^d	341	7,4
– Маннит (E421)	0,40 ^d	341	7,4
Подсластители:			
– Ацесульфам калия (E950)	0,35 ^c	342	7,4
– Цикламат натрия (E952)	0,40 ^c	341	7,4
– Сахарин (E954)	0,08 ^c	344	7,2

^a Протестированная концентрация соответствует максимально допустимому содержанию вещества в напитках согласно [25];

^b Протестированная концентрация соответствует максимально допустимому содержанию вещества в напитках согласно [26];

^c Протестированная концентрация соответствует максимально допустимому содержанию вещества в напитках согласно СанПиН 2.3.2 1293-03 и ТР ТС 029/2012;

^d Протестированная концентрация предложена авторами работы, поскольку максимально допустимое содержание вещества в напитках регламентируется согласно технологической документации производителя.

^a The concentration corresponds to the maximal permissible content of the substance in beverages as specified in [25];

^b The concentration corresponds to the maximal permissible content of the substance in beverages as specified in [26];

^c The concentration corresponds to the maximal permissible content of the substance in beverages as specified in Sanitary Standards and Regulations SanPiN 2.3.2 1293-03 and Technical Regulations of Customs Union TR CU 029/2012;

^d The concentration was chosen because in this case the maximal permissible content of the substance in beverages depends on the manufacturer.

Таблица 2. Результаты изучения обнаруженных интерференционных эффектов

Table 2. Interference effects

Вещество	$C_{\text{эля}}, \text{ г/дм}^3$	Зависимость $\Delta E = f(C_{\text{эля}})$	Интерференция	
			Направленность	Интенсивность
Лактоза, D-(+)-	25–50	$-0,0649 \times C - 1,1612$, $R^2 = 0,9999$	Положительная	Незначительная
Фруктоза, D-(-)-	25–100	$-0,0623 \times C - 1,2$, $R^2 = 0,999$	Положительная	Незначительная
Индигокармин	0,02–0,2	$-242,92 \times C - 19,08$, $R^2 = 0,9593$	Положительная	Значительная
Сульфит натрия	0,03–0,3	$-231,12 \times C - 5,9235$, $R^2 = 0,9808$	Положительная	Значительная
Гидросульфит натрия	0,03–0,3	$-199,25 \times C - 7,3214$, $R^2 = 0,9845$	Положительная	Значительная
Метабисульфит натрия	0,03–0,3	$-193,47 \times C - 5,6316$, $R^2 = 0,985$	Положительная	Значительная
Лимонная кислота	2–5	$7,1034 \times C - 11,241$, $R^2 = 0,9927$	Отрицательная	Умеренная
Винная кислота	1,5–4	$8,4136 \times C - 6,3356$, $R^2 = 0,9983$	Отрицательная	Умеренная
Яблочная кислота	1,5–3	$6,38 \times C - 8,03$, $R^2 = 0,9983$	Отрицательная	Умеренная
Фосфорная кислота	1,5–2	$33,6 \times C - 34,867$, $R^2 = 0,9988$	Отрицательная	Значительная

Выводы

Провели тщательное изучение реакционной способности 30 потенциально мешающих веществ, которые встречаются в напитках, по отношению к медиаторной системе гексацианоферратов калия в условиях, модулирующих потенциометрическое определение антиоксидантной активности. Полученные результаты позволяют утверждать, что в напитках феррицианид калия способен окислять соединения, отличные от природных антиоксидантов. Значительная положительная интерференция была зарегистрирована для индигокармина (E132), сульфита натрия (E221), гидросульфита натрия (E222) и метабисульфита натрия (E223). Она будет наблюдаться в случае других сульфитных соединений (E224–E228). Кроме того, в нашей предыдущей работе [17] сообщалось о положительной интерференции этилового спирта. Интерференционные эффекты сульфитов и этилового спирта вызывают озабоченность в анализе белых вин и крепких алкогольных напитков соответственно.

Критерии авторства

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за достоверность информации и уникальность разработок.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All authors equally participated in the writing of the manuscript and are equally responsible for its accuracy and authenticity

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, *et al.* Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in Physiology*. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
2. Seyedadjadi N, Grant R. The potential benefit of monitoring oxidative stress and inflammation in the prevention of non-communicable diseases (NCDs). *Antioxidants*. 2021;10(1). <https://doi.org/10.3390/antiox10010015>
3. Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2021;20:689–709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>

4. Al-Gubory KH, Laher I. Nutritional antioxidant therapies: Treatments and perspectives. Cham: Springer; 2017. 553 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-67625-8>
5. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016;64(5):997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
6. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E. Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016;64(5):1028–1045. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04743>
7. Haque MdA, Morozova K, Ferrentino G, Scampicchio M. Electrochemical methods to evaluate the antioxidant activity and capacity of foods: A review. *Electroanalysis*. 2021;33(6):1419–1435. <https://doi.org/10.1002/elan.202060600>
8. Brainina KhZ, Ivanova AV, Sharafutdinova EN, Lozovskaya EL, Shkarina EI. Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation. *Talanta*. 2007;71(1):13–18. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.018>
9. Sharafutdinova EN, Inzhevatova OV, Tobolkina NV, Ivanova AV, Brainina KhZ. Potentiometric determination of the antioxidant activity: Evaluation of the main metrological characteristics. *Industrial Laboratory. Materials Diagnostics*. 2008;74(6):9–14. (In Russ.) [Потенциометрический метод определения антиоксидантной активности: оценка основных метрологических характеристик / Е. Н. Шарафутдинова [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2008. Т. 74. № 6. С. 9–14.]. <https://elibrary.ru/JUCWJH>
10. Ivanova AV, Gerasimova EL, Brainina KhZ. Potentiometric study of antioxidant activity: Development and prospects. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2015;45(4):311–322. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.910443>
11. Ivanova AV, Gerasimova EL, Gazizullina ER, Popova KG, Matern AI. Study of the antioxidant activity and total polyphenol concentration of medicinal plants. *Journal of Analytical Chemistry*. 2017;72(4):415–420. <https://doi.org/10.1134/S1061934817040049>
12. Ivanova AV, Gerasimova EL, Gazizullina ER. An integrated approach to the investigation of antioxidant properties by potentiometry. *Analytica Chimica Acta*. 2020;1111:83–91. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.041>
13. Brainina Kh, Stozhko N, Bukharinova M, Khamzina E, Vidrevich M. Potentiometric method of plant microsuspensions antioxidant activity determination. *Food Chemistry*. 2019;278:653–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.098>
14. Tarasov AV, Bukharinova MA, Khamzina EI. Aqueous extracts antioxidant activity determination of some plants from the Ural region. *Food Industry*. 2018;3(2):31–38. (In Russ.). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2018-3-2-5>
15. Chugunova OV, Zavorokhina NV, Vyatkin AV. The research of antioxidant activity and its changes during storage of fruit and berry raw materials of the Sverdlovsk region. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2019;190(11):59–65. (In Russ.). https://doi.org/10.32417/article_5dcd861e8e0053.57240026
16. Chugunova OV, Arisov AV, Tiunov VM, Vyatkin AV. Study of antioxidant indicators of cherry fruit varieties zoned in Sverdlovsk region. *Chemistry of Plant Raw Materials*. 2022;(3):177–185. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220310890>
17. Tarasov AV, Chugunova OV, Stozhko NYu. Potentiometric sensor system based on modified thick-film electrodes for determining the antioxidant activity of beverages. *Food Industry*. 2020;5(3):85–96. (In Russ.). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2020-5-3-10>
18. Tarasov A, Bochkova A, Muzyukin I, Chugunova O, Stozhko N. The effect of pre-treatment of Arabica coffee beans with cold atmospheric plasma, microwave radiation, slow and fast freezing on antioxidant activity of aqueous coffee extract. *Applied Sciences*. 2022;12(12). <https://doi.org/10.3390/app12125780>
19. Chugunova OV, Arisov AV, Tiunov VM, Vyatkin AV. Terroir influence on the antioxidant activity of grape wines. *Food Industry*. 2022;7(3):83–94. (In Russ.). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2022-7-3-9>
20. Pastushkova EV, Tikhonov SL, Chugunova OV, Pischikov GB. Tea with herbal additions: Their antioxidant activity and its dependence on high pressure pre-treatment before extraction. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*. 2019;11(3):28–38. <https://doi.org/10.34302/crpfst/2019.11.3.3>
21. Zavorokhina NV, Bogomazova YuI, Tarasov AV. Application of the Harrington's desirability function for modeling the composition of beverage of geroprotective direction. *Food Industry*. 2018;(8):70–74. (In Russ.). [Заворохина Н. В., Богомазова Ю. И., Тарасов А. В. Применение обобщенной функции желательности Харрингтона для моделирования состава напитков геропротекторной направленности // Пищевая промышленность. 2018. № 8. С. 70–74.]. <https://elibrary.ru/XVAKBN>
22. Zavorokhina NV, Mysakov DS, Bochkova AG. Development of adaptogenic beverages from Arctic raw materials for the Far North residents. *Food Industry*. 2022;7(3):41–49. <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2022-7-3-5>
23. Brainina KhZ, Tarasov AV, Kazakov YaE, Vidrevich MB. Platinum electrode regeneration and quality control method for chronopotentiometric and chronoamperometric determination of antioxidant activity of biological fluids. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2018;808:14–20. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.11.065>
24. Zoski CG. Handbook of electrochemistry. Elsevier Science; 2007. 935 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-51958-0.X5000-9>

25. Walker RW, Dumke KA, Goran MI. Fructose content in popular beverages made with and without high-fructose corn syrup. *Nutrition*. 2014;30(7–8):928–935. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.04.003>
26. Katoch GK, Nain N, Kaur S, Rasane P. Lactose intolerance and its dietary management: An update. *Journal of the American Nutrition Association*. 2022;41(4):424–434. <https://doi.org/10.1080/07315724.2021.1891587>
27. Luo J, Sam A, Hu B, DeBruler C, Wie X, Wang W, *et al.* Unraveling pH dependent cycling stability of ferricyanide/ferrocyanide in redox flow batteries. *Nano Energy*. 2017;42:215–221. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2017.10.057>
28. Brainina KhZ, Tarasov AV, Khodos MYa. Determination of the oxidant activity of chlorinated water by chronoamperometry. *Journal of Analytical Chemistry*. 2017;72(8):911–916. <https://doi.org/10.1134/S1061934817080056>
29. O'Reilly JE. Oxidation-reduction potential of the ferro-ferricyanide system in buffer solutions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1973;292(3):509–515. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(73\)90001-7](https://doi.org/10.1016/0005-2728(73)90001-7)
30. Lidin RA, Molochko VA, Andreeva LL. Chemical properties of inorganic substances. Moscow: Khimiya; 2000. 480 p. (In Russ.). [Лидин Р. А., Молочко В. А., Андреева Л. Л. Химические свойства неорганических веществ. М.: Химия, 2000. 480 с.].
31. Lur'e YuYu. Handbook of analytical chemistry. Moscow: Khimiya; 1989. 448 p. (In Russ.). [Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1989. 448 с.].
32. Tyree B, Webster DA. Electron-accepting properties of cytochrome o purified from *Vitreoscilla*. *Journal of Biological Chemistry*. 1978;253(21):7635–7637. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)34417-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)34417-4)
33. de Keijzer M, van Bommel MR, Hofmann-de Keijzer R, Knaller R, Oberhumer E. Indigo carmine: Understanding a problematic blue dye. *Studies in Conservation*. 2012;57(Sup1):S87–S95. <https://doi.org/10.1179/2047058412Y.0000000058>
34. Nardini M, Garaguso I. Effect of sulfites on antioxidant activity, total polyphenols, and flavonoid measurements in white wine. *Foods*. 2018;7(3). <https://doi.org/10.3390/foods7030035>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2454>
<https://elibrary.ru/LJWJXN>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Галеты повышенной пищевой ценности с соевым белковым продуктом



Е. С. Стаценко^{1,*}, М. А. Штарберг², Е. А. Бородин²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сои , Благовещенск, Россия

² Амурская государственная медицинская академия
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Благовещенск, Россия

Поступила в редакцию: 01.02.2023

Принята после рецензирования: 18.03.2023

Принята к публикации: 04.04.2023

*Е. С. Стаценко: ses@vniiso.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-2240-0614>

М. А. Штарберг: <https://orcid.org/0000-0002-4656-638X>

Е. А. Бородин: <https://orcid.org/0000-0002-0983-4541>

© Е. С. Стаценко, М. А. Штарберг, Е. А. Бородин, 2023



Аннотация.

При разработке новых рецептов и технологий пищевых продуктов, в том числе мучных кондитерских изделий, особое внимание уделяется повышению их пищевой ценности. Галеты относятся к продуктам массового потребления, они удобны для быстрого питания и перекусов, а также являются перспективным объектом для обогащения функциональными пищевыми ингредиентами. Цель исследования – разработка рецептуры галет с обогащающей добавкой на основе соевого белкового продукта и изучение качества и пищевой ценности готового изделия.

Объектами исследования являлись измельченный белковый продукт, полученный из соевого зерна по запатентованной технологии (патент № 2218816), и экспериментальные образцы галет на основе мучной смеси с массовой долей соевого белкового продукта от 2,5 до 15,0 % (кратность 2,5 %) от общей массы пшеничной муки. Контрольный образец – галеты Арктика. Физико-химические и другие показатели качества готовых изделий определяли с помощью стандартных методов. Изофлавоноиды устанавливали методом ВЭЖХ с использованием элюента метанол:вода.

Замена в рецептуре галет части пшеничной муки соевым белковым продуктом привела к повышению пищевой ценности готовых изделий и уменьшению намокаемости (с 196 до 172 %) и содержания сырой клейковины (с 30,7 до 28,4 %). Установлено, что оптимальное содержание соевого белкового продукта в рецептуре галет не должно превышать 7,5 % от общей массы пшеничной муки. Увеличение массовой доли добавки более 7,5 % привело к снижению показателя намокаемости ниже требуемых значений (< 170 %) и ухудшению органолептических характеристик – пористости и хрупкости. Добавление соевого белкового продукта способствует повышению пищевой ценности галет по белку на 21,6 %, жиру – на 14,1 %, минеральным веществам – на 11,1 %, изофлавоноидам – на 140,8 % (с 4,83 до 11,63 мг/100 г) при снижении содержания общих углеводов на 6,5 % по сравнению с контролем.

Была разработана рецептура и технология для промышленного производства галет с соевым белковым продуктом. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования галет с соевым белковым продуктом в качестве пищевых продуктов функциональной направленности, т. к. степень удовлетворения суточной физиологической потребности в функциональных пищевых ингредиентах при употреблении 100 г изделий увеличивается до значимых величин по фосфору (с 11,7 до 20,1 %), витамину Е (с 12,6 до 18,0 %) и изофлавоноидам (с 9,6 до 23,2 %) по сравнению с контролем.

Ключевые слова. Мучные кондитерские изделия, галеты, соя, белковый продукт, качество, обогащение, пищевая ценность, клейковина, изофлавоноиды

Для цитирования: Стаценко Е. С., Штарберг М. А., Бородин Е. А. Галеты повышенной пищевой ценности с соевым белковым продуктом // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 513–524. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2454>

Functional Biscuits with Soy Protein



Ekaterina S. Statsenko^{1,*}, **Mikhail A. Shtarberg²**,
Eugene A. Borodin²

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Soybean , Blagoveshchensk, Russia

² Amur State Medical Academy of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Blagoveshchensk, Russia

Received: 01.02.2023

Revised: 18.03.2023

Accepted: 04.04.2023

*Ekaterina S. Statsenko: ses@vniisoi.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-2240-0614>

Mikhail A. Shtarberg: <https://orcid.org/0000-0002-4656-638X>

Eugene A. Borodin: <https://orcid.org/0000-0002-0983-4541>

© E.S. Statsenko, M.A. Shtarberg, E.A. Borodin, 2023



Abstract.

As a rule, modern confectionery products have added nutritional value, which makes them functional products. As a popular snack, biscuits are a promising object for fortification with functional ingredients. This article introduces a new formulation for biscuits fortified with soy protein.

The research featured crushed soy protein obtained using a patented technology (patent No. 2218816). The experimental biscuits included a mix of wheat flour with 2.5–15.0% soy protein. The control sample was represented by commercial biscuits of the Arktika brand. Physicochemical and other quality indicators were determined by standard methods. The isoflavonoid test involved high performance liquid chromatography with methanol:water eluent.

The experimental biscuits had a higher nutritional value; the absorption indicator fell from 196 to 172%. The crude gluten content dropped from 30.7 to 28.4%. The optimal content of soy protein in the new formulation was below 7.5% of the total mass of wheat flour. A higher mass fraction brought the absorption index below the standard value (< 170%) and spoiled the porosity and brittleness. Compared with the control sample, the nutritional value of the experimental sample improved as follows: protein – by 21.6%, fat – by 14.1%, minerals – by 11.1%, isoflavones – by 140.8% (from 4.83 to 11.63 mg/100 g). Total carbohydrates dropped by 6.5%.

The formulation demonstrated good prospects for industrial production. The new biscuits with soy protein can be classified as functional food: compared to the conventional biscuits, the recommended daily intake (100 g) for phosphorus increased from 11.7 to 20.1%, vitamin E – from 12.6 to 18.0%, for isoflavones – from 9.6 to 23.2%.

Keywords. Flour products, biscuits, soybean, protein products, quality, fortification, nutritional value, gluten, isoflavonoids

For citation: Statsenko ES, Shtarberg MA, Borodin EA. Functional Biscuits with Soy Protein. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):513–524. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2454>

Введение

Вопросы питания населения в развитых странах стали рассматриваться на уровне общегосударственной задачи. Дефицит продуктов питания приводит к постоянному росту цен, что негативно сказывается на доступности полноценных продуктов питания для большей части населения. Кроме снижения качества жизни, дефицит поступающих с пищей необходимых питательных веществ, витаминов и функциональных ингредиентов может привести к понижению иммунитета, росту риска возникновения и развития многих острых и хронических заболеваний, а также уменьшению продолжительности жизни. В многочисленных медицинских исследованиях установлено, что при недостаточном и неполноценном питании у человека раз-

вивается белково-энергетическая недостаточность, приводящая к нарушению функции дыхательной мускулатуры и ухудшению легочного газообмена. Также страдает иммунная защита организма, что приводит к повышенному риску заболевания острыми респираторными инфекциями [1–3].

Стратегия повышения качества пищевой продукции в РФ до 2030 г. направлена на совершенствование имеющихся и развитие новых пищевых производств, способных обеспечить полноценное питание населения и увеличить долю продуктов питания, предназначенных для профилактики заболеваний, снижения алиментарных заболеваний и повышения качества и продолжительности жизни [1, 2]. Это может быть достигнуто пропагандой здорового питания, а также разработкой новых пищевых

продуктов с увеличением ассортимента продуктов функционального, диетического и профилактического направления. Для этого необходима разработка рецептур продуктов с тщательным изучением их физико-химических показателей, пищевой и энергетической ценности, потребительских свойств и других характеристик [1–3].

По данным ряда медицинских и научных учреждений, в частности ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», россияне стали испытывать в питании дефицит полноценного белка и связанный с этим дефицит многих незаменимых аминокислот, а также недостаток про- и пребиотиков, полиненасыщенных жирных кислот, витаминов, минеральных веществ и некоторых других необходимых человеку компонентов пищи [1–3].

К принципам рационального питания относятся:

- умеренность в употреблении пищи, т. е. исключение переедания при обеспечении потребности организма в энергии для выполнения жизненных функций;
- сбалансированность, т. е. удовлетворение потребности организма в жизненно необходимых и незаменимых веществах, обеспечивающих его оптимальное функционирование;
- разнообразие питания [1].

Концепция сбалансированного питания, разработанная академиком А. А. Покровским и дополненная академиком В. А. Тутельяном, подразумевает, что общий калораж суточной диеты человека должен соответствовать его энергозатратам. Суточный рацион должен быть сбалансирован по основным макронутриентам (белки, жиры и углеводы) с наличием в его составе в достаточных количествах всех эссенциальных компонентов: незаменимых аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот, особенного семейства омега-3, витаминов, минералов и микроэлементов, пищевых волокон [3].

В России, как и в других странах, ведутся работы по созданию функциональных продуктов питания и совершенствованию технологии их производства. Перспективным видится разработка хлебобулочных и мучных кондитерских изделий повышенной пищевой ценности [4, 5]. В качестве обогащаемого продукта используются галеты, крекеры, хлебцы и т. п. Это связано с тем, что они являются продуктами массового потребления и основными источниками углеводов, наряду с хлебобулочными изделиями, а также удобными для быстрого питания и перекусов при активном образе жизни [6, 7].

С целью придания создаваемым продуктам питания функциональности и улучшения потребительских характеристик целесообразно обогащать их состав натуральными пищевыми добавками, которые содержали бы функциональные пищевые ингредиенты (ГОСТ Р 52349-2005) [8–11]. К функциональным пищевым ингредиентам относят целый ряд веществ

различной химической природы, содержащихся в некоторых видах сырья растительного и животного происхождения. Речь идет о полноценных белках с высоким содержанием незаменимых аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот, жирно- и водорастворимых витаминов, макро- и микроэлементов. Также значимы пищевые волокна, пре- и пробиотики, без которых невозможно полноценное функционирование желудочно-кишечной системы [2].

Новые рецептуры создаются комбинированием зернового, бобового, плодового, овощного и других видов растительного сырья [8–11]. Это способствует расширению ассортимента данной группы продукции, улучшению качества и повышению пищевой и энергетической ценности готовых изделий [6–9, 12]. Доказана целесообразность использования овощных, плодовых и ягодных порошков (голубики, клюквы, боярышника и ежевики) в рецептурах хлебобулочных изделий функционального назначения [6, 13]. Пищевую и биологическую ценность мучных и кулинарных изделий можно повысить путем частичной замены рецептурного количества молока на концентрат хлореллы, который имеет сбалансированный аминокислотный состав и содержит витамины, макро- и микроэлементы [14]. Улучшить качество и повысить пищевую ценность пряничных изделий можно, используя муку из отрубей гречихи, зерна риса и пшеницы, измельченных семян нута [9, 15–17].

Интерес к сое и продуктам ее переработки возрос из-за высокого содержания веществ, относимых к изофлавоноидам. Изофлавоноиды – это соединения флавоноидной природы, обладающие умеренным иммуномодулирующим и эстрогеноподобным действием, а также противовоспалительными и антиоксидантными свойствами. К основным изофлавоноидам сои относятся генестеин и диадзеин, в меньшем количестве глицитеин. Изофлавоноиды присутствуют в сое как в виде указанных агликонов, так и в виде их гликозидов (генистин, диадзин и глицитин), малонил- и ацетил производных [18–21]. Эти вещества участвуют во многих метаболических процессах в организме, формируют иммунитет и осуществляют регуляторные функции [2, 3, 22].

Также производители обращают внимание на соевое сырье при создании пищевых добавок из-за большого количества функциональных пищевых ингредиентов и низкой себестоимости. Кроме того, при комплексной переработке такое сырье используется максимально эффективно, практически не образуя отходов, загрязняющих окружающую среду [8].

Употребление пищевых продуктов, содержащих сою, рекомендовано для уменьшения риска возникновения сердечно-сосудистых и других заболеваний [23, 24]. Исследованиями доказана целесообразность внесения в рецептуру хлебобулочных и

мучных кондитерских изделий продуктов переработки сои [20–22]. Это связано с ее богатым химическим составом и практически полноценным белком. При таком обогащении часто используют различные виды соевой муки и продукты ее переработки. В добавках из соевого зерна содержится лизин, которым бедна пшеница, а также полиненасыщенные жирные кислоты, фосфолипиды, витамины, минеральные и другие вещества [9, 10, 24]. Е. S. Statsenko и др. разработали рецептуру хлеба с использованием муки из пророщенного соевого зерна в количестве 20 % от общей массы пшеничной муки, что позволило повысить пищевую и биологическую ценность изделия [8]. Смешивание пшеничной муки с обезжиренной соевой мукой изменяет органолептические свойства изделия и увеличивает содержание белка [25, 26].

Во Всероссийском НИИ сои (г. Благовещенск, Амурская область) разработаны технологии получения хлебобулочных и мучных кондитерских изделий с использованием вторичного соевого сырья в количестве 10–50 % (оболочка, зародыш, дробленые семядоли), а также других обогащающих добавок на основе сои (патент № 2532987). Доказано, что такие добавки повышают в готовых изделиях содержание белка, минеральных веществ, витаминов и пищевых волокон с одновременным снижением массовой доли простых углеводов [8, 27, 28].

Целью исследования являлась разработка рецептуры галет с соевым белковым продуктом и изучение их качественного и количественного состава.

Научная новизна исследования заключается в получении мучного кондитерского изделия в виде галет повышенной пищевой ценности за счет введения в их состав соевого белкового продукта, технология которого разработана и запатентована Всероссийским НИИ сои.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись соевый белковый продукт (ТУ 9146-014-00668442-04), образцы галет Арктика и галет с соевым белковым продуктом, пшеничная мука высшего сорта (ГОСТ 26574-2017).

Определение показателей качества галет с соевым белковым продуктом проводилось согласно следующей нормативной документации: кислотность – ГОСТ 5898-2022; содержание влаги (г/100 г) – ГОСТ 5900-2014; количество и качество сырой клейковины в пшеничной и комбинированной муке (%) – ГОСТ 27839-2013; намокаемость (%) – ГОСТ 10114-80; толщина галет (мм) – ГОСТ 14032-2017; витамин Е в галетах (мг/100 г) – фотоколориметрическим методом [29]; органолептические показатели галет (по пятибалльной шкале) и характеристика (форма, поверхность, вид в изломе, вкус и запах) – ГОСТ 14032-2017, ГОСТ 5897-90 и ГОСТ 14032-2017.

Степень удовлетворения суточной потребности в пищевых волокнах, витамине Е, калии, фосфоре, кальции и магнии при употреблении 100 г экспериментальных образцов галет была рассчитана в соответствии с МР 2.3.1.0253-21, в изофлавоноидах – в соответствии с МР 2.3.1.1915-04.

Содержание изофлавоноидов в водно-метанольных экстрактах из соевого белкового продукта и в экспериментальных образцах галет определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Милихром А-02 с колонкой ProntoSil-120-5-C18 AQ, dp = 5 мкм [22]. Регистрация показателей проводилась при длине волны 256 нм с использованием элюента метанол: вода с градиентом метанола от 10 до 90 % при скорости потока 100 мкл/мин, максимальном давлении 1,8 МПа и температуре в колонке 40 °С. Для построения калибровочных графиков использовали стандарты изофлавоноидов аналитической чистоты. Идентифицированные формы изофлавоноидов: изофлавоны (диадзин, глицитин и генистин), малонил производные (малонил диадзин, малонил глицитин и малонил генистин) и агликоны (диадзеин, глицитеин и генистеин).

Зависимость показателей намокаемости и содержания сырой клейковины от массовой доли соевого белкового продукта в рецептуре описана при помощи уравнения линейной регрессии.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Office Excel. Математическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии с теорией математической статистики по общепринятым методикам.

В рецептуре галет повышенной пищевой ценности был использован соевый белковый продукт, который получали в соответствии с патентом № 2218816 по следующей технологии: инспекция соевого зерна, мойка, замачивание в двукратном количестве воды при температуре 60 °С, измельчение набухшего зерна с водой в соотношении 1:8, нагревание и коагуляция 5 %-ной уксусной кислотой с осаждением белка, отделение от сыворотки путем фильтрования, отжим и сушка конвективным способом (рис. 1).

Соевый белковый продукт представляет собой сушеные частицы различного размера и формы светло-желтого цвета с оттенками, а также с приятным запахом, свойственным соевому сырью. Для использования в рецептуре галет соевый белковый продукт измельчали до частиц размером 0,01–0,05 мм (рис. 2).

Химический состав и пищевая ценность соевого белкового продукта с массовой долей влаги $6,3 \pm 0,02$ г/100 г представлены в таблице 1.

Анализ таблицы показывает, что соевый белковый продукт содержит высокое количество белка с незаменимыми аминокислотами, а также богат



Рисунок 1. Технологическая схема производства соевого белкового продукта

Figure 1. Soy protein production: technological scheme



Рисунок 2. Фотографии внешнего вида соевого белкового продукта: а – соевый белковый продукт; б – соевый белковый продукт в виде муки

Figure 2. Photos of soy protein product: a – soy protein product; b – soy protein product in the form of flour

Таблица 1. Химический состав, пищевая и энергетическая ценность соевого белкового продукта, М ± m

Table 1. Chemical composition and nutritional and energy value of soy protein product, M ± m

Содержание основных веществ, г/100 г					Энергетическая ценность, ккал	
Белки	Жиры	Простые углеводы	Пищевые волокна	Минеральные вещества		
40,390 ± 0,022	21,460 ± 0,017	20,920 ± 0,004	6,530 ± 0,084	4,400 ± 0,010	438,4	
Содержание некоторых минеральных веществ, витамина Е и изофлавоноидов, мг/100 г						
Калий	Фосфор	Кальций	Магний	Витамин Е	Изофлавоноиды	
1949,00 ± 15,38	912,00 ± 12,38	555,00 ± 3,00	522,00 ± 2,00	9,100 ± 0,030	68,9 ± 3,0	
Содержание незаменимых аминокислот, мг/100 г						
Лизин	Фенилаланин	Лейцин	Изолейцин	Валин	Треонин	Метионин + цистин
6,390 ± 0,001	3,590 ± 0,001	8,350 ± 0,014	1,330 ± 0,008	9,300 ± 0,069	4,000 ± 0,002	4,460 ± 0,007
Содержание жирных кислот, мг/100 г						
Пальмитиновая кислота	Стеариновая кислота	Линолевая кислота (ω-6)	Линоленовая кислота (ω-3)		Олеиновая кислота	
10,760 ± 0,004	3,950 ± 0,001	60,310 ± 0,065	7,800 ± 0,019		29,960 ± 0,066	

жиром с полиненасыщенными жирными кислотами, пищевыми волокнами, минеральными веществами и витамином Е.

Результаты и их обсуждение

При проведении исследований и получении галет контрольным образцом служили галеты Арктика. Тесто получали безопасным способом (рис. 3). Предварительно готовили комбинированную муку путем измельчения сушеного соевого белкового продук-

та и смешивания его с пшеничной мукой высшего сорта. Массовая доля соевого белкового продукта при смешивании составила от 2,5 до 15,0 % (кратность 2,5 %) от общей массы пшеничной муки.

В ходе настоящего исследования была проведена оценка сенсорных показателей экспериментальных образцов галет, которая характеризует их качество согласно требованиям ГОСТ 14032-2017 (табл. 2).

Анализ таблицы 2 позволяет сделать вывод о том, что органолептические показатели всех без

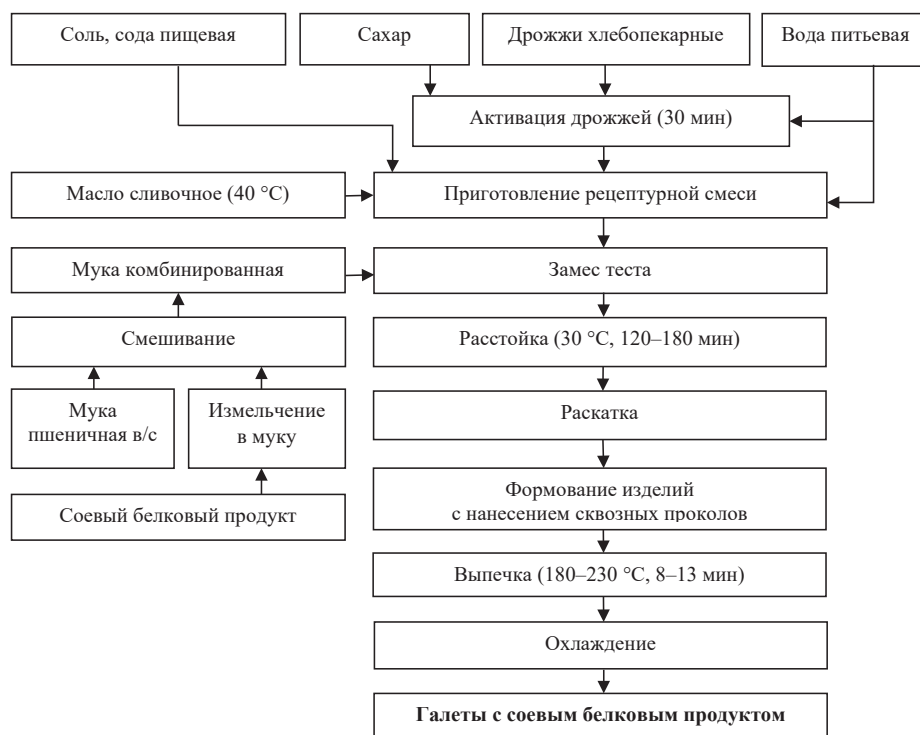


Рисунок 3. Технологическая схема производства галет с соевым белковым продуктом

Figure 3. Biscuits fortified with soy protein: technological scheme

Таблица 2. Оценка органолептических показателей экспериментальных образцов галет

Table 2. Sensory evaluation of experimental biscuits

Показатель	Характеристика						
	Контроль	Массовая доля соевого белка, %					
		2,5	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0
Форма	Квадратная, углы и края без повреждений, наличие изделий с приподнятыми краями (не более 5 % к массе)						
Поверхность	Ровная, гладкая, со сквозными проколами и следами соевого белкового продукта, с наличием мелких вздутий						
Цвет	От соломенно-желтого до светло-коричневого с более темной окраской вздутий на верхней поверхности и краях галет, свойственный используемому сырью						
Вид в изломе	Слоистый, равномерно-пористый, без следов непромеса и закала, хорошо пропеченный. У образцов с 10, 12,5 и 15 % соевого белкового продукта недостаточно пористый и слоистый						
Вкус и запах	Приятные, хорошо выраженные, свойственные компонентам рецептуры, без постороннего привкуса и запаха. У образцов с 10, 12,5 и 15 % соевого белкового продукта наблюдалась потеря хрупкости разной степени						
Сумма баллов	29,4	29,2	29,0	28,1	27,0	26,1	25,3

исключения экспериментальных образцов галет соответствовали требованиям нормативной документации (сумма баллов 25,3–29,4). Однако у образцов с добавлением соевого белкового продукта в количестве 10, 12,5 и 15 % от общей массы пшеничной муки наблюдался недостаточно пористый и слоистый вид в изломе и потеря хрупкости, что подтверждается снижением показателя намокаемости (рис. 4).

Зависимость показателя намокаемости галет (H) от содержания в них соевого белкового продукта ($C_{\text{СБП}}$) можно представить в виде уравнения линейной регрессии при коэффициенте корреляции $R = 0,98$:

$$H = 195,425 - 3,184 \times C_{\text{СБП}} \quad (1)$$

Из данного уравнения следует, что между показателем намокаемости и содержанием соевого белкового продукта в галетах существует обратно пропорциональная связь: чем больше содержание соевого белкового продукта, тем меньше показатель намокаемости. Из графика на рисунке 2 видно, что максимальное допустимое содержание соевого белкового продукта в изделии может составлять не более 7,5 %, т. к. в галетах с 10, 12,5 и 15 % соевого белкового продукта этот показатель равен 159,5, 155,1 и 150,2 % соответственно (норма для галет не менее 170 %, ГОСТ 10114-80).

Комбинированная мука для производства галет исследована на количество и качество содержащейся в ней клейковины. Контроль – мука пшеничная высшего сорта торговой марки Макфа, содержание клейковины в которой составило 30,7 %. В комбинированной муке с содержанием 10, 12,5 и 15 % соевого белкового продукта содержание клейковины было 27,6, 26,9 и 26,1 % соответственно (норма не менее 28,0 %) (рис. 5).

Отмечалось ухудшение качества клейковины. Клейковина в пшеничной муке с 10, 12,5 и 15 % соевого белкового продукта была пониженной эластичности и растяжимости – от 10 до 8 см соответственно.

Зависимость содержания клейковины (K) в комбинированной муке от содержания в ней соевого белкового продукта ($C_{\text{СБП}}$) наиболее точно аппроксимируется при помощи уравнения линейной регрессии с коэффициентом корреляции $R = 0,99$:

$$K = 30,693 - 0,306 \times C_{\text{СБП}} \quad (2)$$

Из данного уравнения следует, что между содержанием клейковины и массовой долей соевого белкового продукта в комбинированной муке существует обратно пропорциональная связь: чем больше соевого белкового продукта в комбинированной муке, тем меньше содержание клейковины, т. к. в соевом белковом продукте и соевом зерне полностью отсутствует глютен (клейковина).

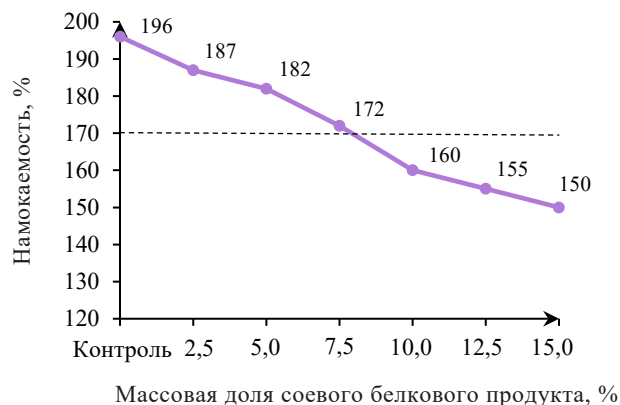


Рисунок 4. Зависимость показателя намокаемости галет от содержания соевого белкового продукта (----- – граница нормы)

Figure 4. Effect of soy content on absorption index: ----- – standard limit

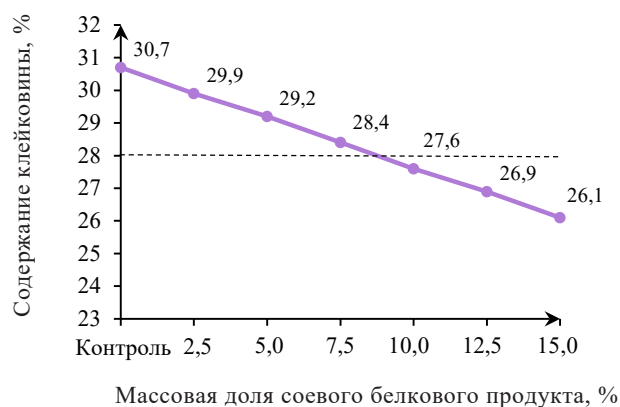


Рисунок 5. Зависимость содержания клейковины в муке от массовой доли в ней соевого белкового продукта (----- – граница нормы)

Figure 5. Effect of soy protein mass fraction on gluten content in flour: ----- – standard limit

Таким образом, замена части пшеничной муки соевым белковым продуктом в рецептуре галет Арктика влияет на нормируемые показатели, такие как намокаемость изделий, количество и качество сырой клейковины в муке. Это определило возможность использования соевого белкового продукта в количестве 7,5 % от общей массы пшеничной муки в рецептуре. На основании этого составлена новая рецептура, представленная в таблице 3.

В ходе исследований установлено улучшение химического состава галет с соевым белковым продуктом относительно контроля при влажности изделий $6,6 \pm 0,2$ г/100 г (табл. 4).

Из таблицы 4 следует, что введение в рецептуру галет соевого белкового продукта в количестве 7,5 % от общей массы пшеничной муки

Таблица 3. Рецепт галет с соевым белковым продуктом

Table 3. Optimal formulation for biscuits fortified with soy protein

Наименование сырья	Массовая доля сухих веществ, %	Расход сырья на 1 тонну готовых изделий, кг	
		в натуре	в сухих веществах
Мука пшеничная высшего сорта	86,00	869,88	748,10
Соевый белковый продукт (7,5 % от общей массы муки)	96,40	70,53	67,99
Масло сливочное	84,00	212,13	117,37
Сахар (для активации дрожжей)	99,85	4,67	4,66
Дрожжи хлебопекарные	25,00	17,95	4,49
Соль	96,50	1,92	1,87
Сода пищевая	50,00	1,86	0,93
Итого сырья	65,00	1374,74	945,41
Выход готовой продукции	93,40	1000,00	934,00
Влажность	6,6 ± 0,2	–	–

Таблица 4. Физико-химические показатели экспериментальных образцов галет

Table 4. Physical and chemical profile of experimental biscuits

Показатель	Галеты Арктика (контроль)	Галеты с соевым белковым продуктом (опыт)
Белок, г/100 г	10,2	12,4
Жир, г/100 г	9,9	11,3
Углеводы, г/100 г	70,7	66,1
Пищевые волокна, г/100 г	0,1	0,6
Минеральные вещества, г/100 г	2,7	3,0
Калий, мг/100 г	115	245
Фосфор, мг/100 г	82	141
Кальций, мг/100 г	23	62
Магний, мг/100 г	15	51
Витамин Е, мг/100 г	1,9	2,7
Энергетическая ценность, ккал	412,7	415,7
Толщина галет, мм	9,0 ± 0,4	6,6 ± 0,4
Намокаемость, %	196	172
Кислотность, град.	2,4	2,6

способствует повышению их пищевой ценности по белку на 21,6 %, жиру – на 14,1 %, минеральным веществам – на 11,1 %, а также снижению содержания общих углеводов на 6,5 %. Кроме этого, включение соевого белкового продукта в рецептуру галет влияет на их толщину и кислотность. Установлено, что толщина галет с 7,5 % соевого белкового продукта составляет 6,6 ± 0,4 мм и соответствует норме ГОСТ 14032-2017 (не более 11 мм), но на 2,4 мм меньше контроля при одинаковой толщине полуфабриката (4,0 ± 0,5 мм). Кислотность галет с соевым белковым продуктом находилась в пределах установленной нормы (не более 3,0 град.), хотя повысилась на 0,2 град. относительно контроля.

Таблица 5. Сравнительный анализ содержания изофлавоноидов в соевом зерне и соевом белковом продукте по результатам ВЭЖХ, мг/100 г

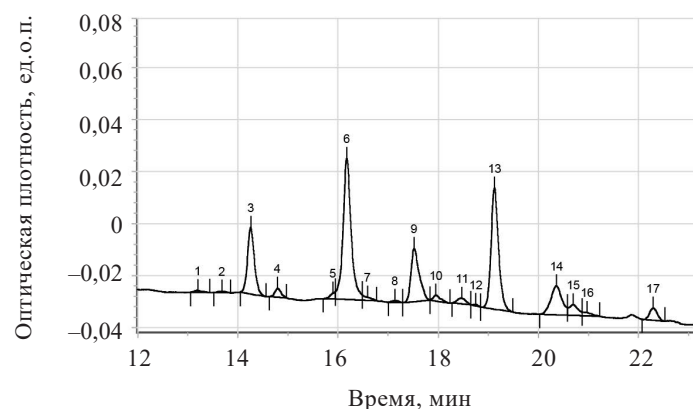
Table 5. Isoflavones in soy vs. soy protein product, HPLC, mg/100 g

Изофлавоноиды	Соевое зерно сорта Сентябринка	Соевый белковый продукт
Диадзин	18,1	11,4
Глицитин	4,6	1,0
Генистин	22,7	21,1
Малонил диадзин	68,4	10,9
Малонил глицитин	8,1	0,7
Малонил генистин	80,9	16,6
Диадзеин	4,8	4,3
Глицитеин	0,7	0,5
Генистеин	12,8	1,5
Итого	221,1	68,9

Соевый белковый продукт и экспериментальные образцы галет были исследованы на наличие изофлавоноидов (рис. 6–8).

В таблице 5 представлен сравнительный анализ изофлавоноидного состава соевого зерна сорта Сентябринка, исследованного ранее [30] и полученного из него соевого белкового продукта.

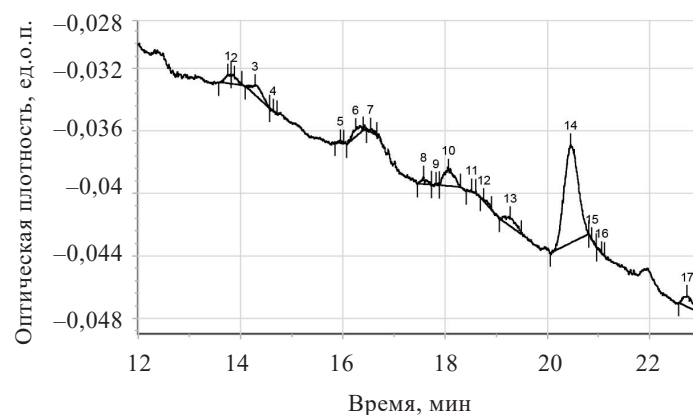
Из таблицы 5 видно, что общее содержание изофлавоноидов в соевом белковом продукте в 3,2 раза ниже, чем в соевом зерне. Это связано с особенностями технологии получения соевого белкового продукта, при которой соевое зерно проходило стадии термической обработки и физико-химической трансформации. В результате произошло снижение содержания отдельных форм изофлавоноидов по сравнению с исходным сырьем. Суммарное содержание всех идентифицированных изофлавоноидов осталось достаточно высоким.



3 – диадзин; 4 – глицитин; 6 – генистин; 9 – малонил диадзин; 10 – малонил глицитин; 13 – малонил генистин;
14 – диадзеин; 16 – глицитеин; 17 – генистеин

Рисунок 6. Хроматограмма изофлавоноидного состава соевого белкового продукта

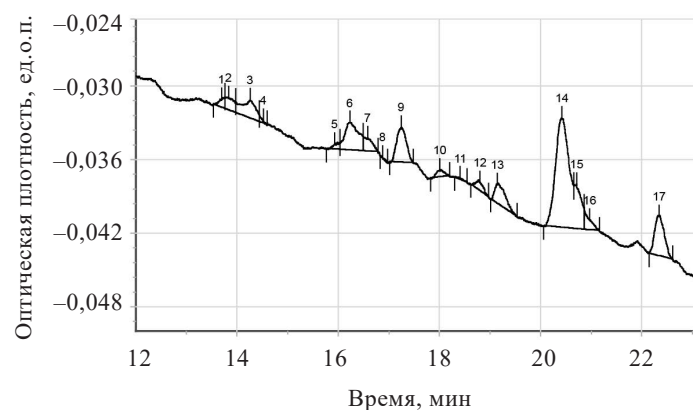
Figure 6. Isoflavonoid composition: chromatogram, soy protein product



3 – диадзин; 4 – глицитин; 6 – генистин; 9 – малонил диадзин; 10 – малонил глицитин; 13 – малонил генистин;
14 – диадзеин; 16 – глицитеин; 17 – генистеин

Рисунок 7. Хроматограмма изофлавоноидного состава образцов галет Арктика

Figure 7. Isoflavonoid composition: chromatogram, control



3 – диадзин; 4 – глицитин; 6 – генистин; 9 – малонил диадзин; 10 – малонил глицитин; 13 – малонил генистин;
14 – диадзеин; 16 – глицитеин; 17 – генистеин

Рисунок 8. Хроматограмма изофлавоноидного состава образцов галет с соевым белковым продуктом

Figure 8. Isoflavonoid composition: chromatogram, experimental formulation

Таблица 6. Сравнительный анализ содержания изофлавоноидов в экспериментальных образцах галет по результатам ВЭЖХ, мг/100 г

Table 6. Isoflavones in experimental biscuits vs. control, HPLC, mg/100 g

Показатель	Галеты Арктика (контроль)	Галеты с соевым белковым продуктом (опыт)
Диадзин	0,475	1,354
Глицитин	0	0,080
Генистин	0,198	1,477
Малонил диадзин	0,133	1,768
Малонил глицитин	0,498	0,202
Малонил генистин	0,286	0,861
Диадзеин	2,960	4,093
Глицитеин	0,008	0,424
Генистеин	0,208	1,376
Итого	4,83	11,63

В таблице 6 представлен сравнительный анализ изофлавоноидного состава экспериментальных образцов галет.

Суммарное содержание изофлавоноидов в опытных образцах галет с 7,5 % соевого белкового продукта составило 11,63 мг/100 г, что на 6,8 мг больше, чем в контрольных образцах. Это составляет 9,6 и 23,2 % от рекомендуемой нормы потребления соответственно (МР 2.3.1.1915-04). Аналогично результатам, полученным ранее [30], в настоящем исследовании установлена зависимость содержания в конечном продукте изофлавоноидов от массовой доли вводимой в рецептуру соевой обогащающей добавки: чем больше добавки в рецептуре изделия, тем выше общее содержание изофлавоноидов.

Установленная оптимальная массовая доля соевого белкового продукта (7,5 % от содержания муки) в рецептуре галет доказывает возможность использования разработанного изделия в качестве пищевого продукта функциональной направленности, т. к. степень удовлетворения в функциональных пищевых ингредиентах при употреблении 100 г такого изделия увеличивается до значимых величин (ГОСТ Р 52349-2005) по фосфору (с 11,7 до 20,1 %), витамину Е (с 12,6 до 18,0 %) и изофлавоноидам (с 9,6 до 23,2 %) по сравнению с контролем. Повысилась суточная степень удовлетворения потребности в калии (с 3,3 до 7,0 %), кальции (с 2,3 до 6,2 %) и магнии (с 3,7 до 12,2 %) (табл. 7).

По результатам проведенных исследований разработана техническая документация для промышленного производства галет с соевым белковым продуктом (СТО 00668442-003-2022. Изделия мучные кондитерские. Галеты с соевым белковым продуктом. Технические условия).

Таблица 7. Степень удовлетворения суточной потребности в исследованных веществах при употреблении 100 г экспериментальных образцов галет, %

Table 7. Daily intake percentage per 100 g experimental biscuits, %

Показатель	Галеты Арктика (контроль)	Галеты с соевым белковым продуктом (опыт)
Пищевые волокна	0,5	3,0
Витамин Е	12,7	18,0
Калий	3,3	7,0
Фосфор	11,7	20,1
Кальций	2,3	6,2
Магний	3,7	12,2
Изофлавоноиды	9,6	23,2

Выводы

Замена части пшеничной муки на соевый белковый продукт в рецептуре галет Арктика не только улучшает их пищевую ценность, но и влияет на нормируемые показатели, уменьшая намокаемость (с 196 до 172 %) и содержание сырой клейковины в комбинированной муке (с 30,7 до 28,4 %). Это определило возможность использования соевого белкового продукта в количестве 7,5 % от общей массы пшеничной муки в рецептуре, что способствует повышению их пищевой ценности по белку (на 21,6 %), жиру (на 14,1 %) и минеральным веществам (на 11,1 %) при снижении содержания общих углеводов на 6,5 % по сравнению с контролем. Внесение такого количества соевого белкового продукта в рецептуру доказывает возможность использования галет с соевым белковым продуктом в качестве пищевых продуктов функциональной направленности, т. к. степень удовлетворения в функциональных пищевых ингредиентах (ГОСТ Р 52349-2005) при употреблении 100 г продукта повышается до значимых величин по фосфору (с 11,7 до 20,1 %), витамину Е (с 12,6 до 18,0 %) и изофлавоноидам (с 9,6 до 23,2 %) в сравнении с контролем.

Критерии авторства

Е. С. Стаценко – анализ данных литературы по проблеме, разработка дизайна исследования, получение экспериментальных данных и их анализ, формулирование выводов, работа над манускриптом: написание глав «Введение», «Объекты и методы исследования», «Результаты и их обсуждение», «Выводы», «Список литературы». Е. А. Бородин и М. А. Штарберг – анализ данных литературы по проблеме, разработка методов химического анализа и проведение анализа, получение экспериментальных данных и их анализ, работа над манускриптом: написание глав «Введение», «Объекты и методы исследования», «Результаты и их обсуждение».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

E.S. Statsenko performed the review, developed the research design, obtained the experimental data, analyzed the results, formulated the conclusions, and wrote the Introduction, Study Objects and Methods,

Results and Discussion, Conclusions, and References. E.A. Borodin and M.A. Shtarberg performed the review, designed the chemical analysis, obtained experimental data, analyzed the results, and wrote the Introduction, Study Objects and Methods, and Results and Discussion.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Strategy for improving the quality of food products of the Russian Federation through 2030 [Internet]. [cited 2023 Jan 09]. Available from: <https://static.government.ru/media/files/9JUDtBOPqmoAatAhvT2wJ8UPT5Wq8qIo.pdf>
2. Tutel'yan VA, Nikityuk DB. Nutritiology and clinical nutritiology. Moscow: GEOTAR-Media; 2021. 1008 p. (In Russ.). [Тутельян В. А., Никитюк Д. Б. Нутрициология и клиническая диетология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР Медиа, 2021. 1008 с.]. <https://www.elibrary.ru/RLLIOP>
3. Popova AYU, Tutelyan VA, Nikityuk DB. On the new (2021) norms of physiological requirements in energy and nutrients of various groups of the population of the Russian Federation. Problems of Nutrition. 2021;90(4):6–19. (In Russ.). <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-6-19>
4. Shishkina AN, Sadygova MK, Belova MV, Astashov AN, Ivanova ZI. Use of secondary raw material of animal products in the technology of production of bakery products based on wheat amaranth mixture. Scientific Study and Research Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry. 2019;20(2):303–311. <https://www.elibrary.ru/BXSXLU>
5. Veselova AYU, Morozova AP. New technology for functional bakery products. Food Industry. 2021;46(2):20–23. (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/cl-34900-2021-2-20-23>
6. Yegorova SV, Slavyanskiy AA, Postnikova TA, Ustinova LV, Rostegaev RS. Production of high-protein biscuits for people with increased physical activity. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(4):95–101. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-4-95-101>
7. Nekrasova KL, Popov VG. Scientific approach to the production of functional food ingredients based on unconventional plant materials. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(2):77–82. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-2-77-82>
8. Statsenko ES, Nizkiy SE, Litvinenko OV, Kodirova GA. Development of technology for food concentrates of culinary sauces of increased nutritional and biological value. AIMS Agriculture and Food. 2020;5(1):137–149. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.1.137>
9. Petković M, Filipović V, Filipović J, Đurović I, Miletić N, Radovanović J. Chemical, antioxidative, and sensory characteristics of wheat bread partially substituted with black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) powder. Journal of Food Processing and Preservation. 2021;45(1). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15027>
10. 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. <https://www.elibrary.ru/XNIEMZ>
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. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/422/1/012021>
12. Zaytseva LV, Ruban NV, Tsyganova TB, Mazukabzova EV. Fortified confectionery creams on vegetable oils with a modified carbohydrate profile. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):500–510. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2377>
13. Shaburova GV, Lukyanova EA. Fruits and berries in technology of bakery and flour confectionery products. Innovative Machinery and Technology. 2018;17(4):35–38. (In Russ.). [Шабурова Г. В., Лукьянова Е. А. Плоды и ягоды в технологии хлебобулочных и мучных кондитерских изделий // Инновационная техника и технология. 2018. Т. 17. № 4. С. 35–38.]. <https://www.elibrary.ru/YVOCLJ>
14. Bochkareva ZA, Volshenkova ES. Advanced production technology of flour-based foods with chlorella concentrate. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(2):212–221. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-2-212-221>
15. Klochkova IS, Davidovich VV. Technology of bakery products with use of raw material containing protein. Scientific Journal of the Far East State Technical Fisheries University. 2018;46(3):62–67. (In Russ.). [Клочкова И. С., Давидович В. В. Технология хлебобулочных изделий с использованием белоксодержащего растительного сырья // Научные труды Дальрыбвтуза. 2018. Т. 46. № 3. С. 62–67.]. <https://www.elibrary.ru/YRNPXV>

16. Collar C. Impact of visco-metric profile of composite dough matrices on starch digestibility and firming and retrogradation kinetics of breads thereof: Additive and interactive effects of non-wheat flours. *Journal of Cereal Science*. 2016;69:32–39. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.02.006>
17. Sun Y, Miao R, Guan L. Effect of germinated brown rice flour on volatile compounds and sensory evaluation of germinated brown rice steamed bread. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021;45(1). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14994>
18. Hu C, Wong W-T, Wu R, Lai W-F. Biochemistry and use of soybean isoflavones in functional food development. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020;60(12):2098–2112. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1630598>
19. Xiao Y, Zhang S, Tong H, Shi S. Comprehensive evaluation of the role of soy and isoflavone supplementation in humans and animals over the past two decades. *Phytotherapy Research*. 2017;32(3):384–394. <https://doi.org/10.1002/ptr.5966>
20. Petibskaya VS. Soybean: Chemical composition and usage. Krasnodar: All-Russia Research Institute of Oil Crops by V.S. Pustovoi; 2012. 432 p. (In Russ.). [Петибская В. С. Соя: химический состав и использование. Краснодар: Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В. С. Пустовойта, 2012. 432 с.]. <https://www.elibrary.ru/SIXAUP>
21. 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>
22. Messina M, Duncan A, Messina V, Lynch H, Kiel J, Erdman Jr. JW. The health effects of soy: A reference guide for health professionals. *Nutrition*. 2022;9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.970364>
23. Messina M, Shearer G, Petersen K. Soybean oil lowers circulating cholesterol levels and coronary heart disease risk, and has no effect on markers of inflammation and oxidation. *Nutrition*. 2021;89. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111343>
24. Urade R. Fortification of bread with soy protein to normalize serum cholesterol and triacylglycerol levels. In: Preedy VR, Watson RR, editors. *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. 2nd edition. Academic Press; 2019. pp. 365–373. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00028-9>
25. 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>
26. Mahmoodi MR, Mashayekh M, Entezari MH. Fortification of wheat bread with 3–7% defatted soy flour improves formulation, organoleptic characteristics, and rat growth rate. *International Journal of Preventive Medicine*. 2014;5:37–45.
27. Kodirova GA, Kubankova GV. Secondary soy raw material as a component in the production of flour confectionery. *Bulletin of KSAU*. 2018;141(6):182–186. (In Russ.). [Коди́рова Г. А., Кубанкова Г. В. Вторичное соевое сырье как компонент в производстве мучных кондитерских изделий // Вестник КрасГАУ. 2018. Т. 141. № 6. С. 186–190.]. <https://www.elibrary.ru/YRIYOT>
28. Kubankova GV. Improvement of technology and commodity characteristics of bread enriched with flour from secondary soy raw materials. *The Bulletin of the Far Eastern Federal University. Economics and Management*. 2022;102(2):148–158. (In Russ.). [Кубанкова Г. В. Совершенствование технологии и товароведная характеристика хлеба, обогащённого мукой из вторичного соевого сырья // Известия ДВФУ. Экономика и управление. 2022. Т. 102. № 2. С. 148–158.]. <https://www.elibrary.ru/ZTFLJE>
29. Chemist's handbook 21 [Internet]. [cited 2023 Jan 09]. Available from: <https://chem21.info/page/089035213088113183078107012092198157182209128198>
30. Statsenko ES, Shtarberg MA, Borodin EA. Isoflavonoids in soy and soy-containing foods. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(2):222–232. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2359>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2455>
<https://elibrary.ru/LQEJER>

Обзорная статья
<https://fppt.ru>

Закваски спонтанного (естественного) брожения: особенности технологии и роль в современном хлебопекарном производстве



И. М. Жаркова^{1,*}, Ю. Ф. Росляков², Д. С. Иванчиков¹

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

² Кубанский государственный технологический университет^{ROR}, Краснодар, Россия

Поступила в редакцию: 23.01.2023

Принята после рецензирования: 13.02.2023

Принята к публикации: 07.03.2023

*И. М. Жаркова: zharir@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-8662-4559>

Ю. Ф. Росляков: <https://orcid.org/0000-0003-1431-4804>

Д. С. Иванчиков: <https://orcid.org/0000-0001-9814-6005>

© И. М. Жаркова, Ю. Ф. Росляков, Д. С. Иванчиков, 2023



Аннотация.

Хлебобулочные изделия, изготовленные на заквасках, характеризуются широким спектром вкусо-ароматических характеристик, увеличенным сроком хранения и т. д. Отмечается активизация научных исследований, направленных на изучение микробиома хлебопекарных заквасок. Цель работы – обобщение, систематизация и анализ современных данных об особенностях ведения заквасок спонтанного брожения, способов их получения и роли в организации технологического процесса на современных предприятиях хлебопекарной отрасли.

Объектом исследования являлась российская и зарубежная научная литература открытого доступа – монографии, статьи и патенты на изобретения, связанные с исследованием различных аспектов производства и использования хлебопекарных заквасок спонтанного брожения. Поиск вели по информационным базам PubMed и eLIBRARY.RU в обратной хронологической последовательности (период поиска 2000–2022 гг.). Отбор источников осуществляли с учетом полноты и системности изложения материала, его достоверности и релевантности. Анализ и систематизацию информации проводили голографическим методом и методом апперцепирования.

Провели анализ и систематизацию исследований российских и зарубежных ученых в отношении факторов, влияющих на микробиом хлебопекарных заквасок, в частности спонтанного брожения. В работе была показана взаимосвязь между сырьем, используемым на стадии выведения заквасок спонтанного брожения, и показателями их качества. Актуальность приобретают исследования, связанные с изучением трансформации биоактивных соединений в процессе ферментации закваски. Это обусловлено поиском и расширением набора эффективных инструментов для разработки хлебобулочной продукции, обладающей специфическими питательными свойствами (пониженный гликемический индекс, повышенное количество биологически доступных питательных веществ, пониженное содержание акриламида, сниженная аллергенность глина).

Научный и практический интерес представляют выделение, идентификация и характеристика микроорганизмов, входящих в микробиом заквасок спонтанного брожения, для поиска специфических штаммов, которые позволяют разрабатывать закваски, предназначенные для различных узконаправленных целей.

Ключевые слова. Хлебопечение, хлеб, закваска, дрожжи, микробиом закваски, вкус и аромат хлеба, качество, биологический эффект

Для цитирования: Жаркова И. М., Росляков Ю. Ф., Иванчиков Д. С. Закваски спонтанного (естественного) брожения: особенности технологии и роль в современном хлебопекарном производстве // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 525–544. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2455>

Sourdoughs of Spontaneous (Natural) Fermentation in Modern Bakery Production



Irina M. Zharkova^{1,*}, Yuriy F. Roslyakov², Danil S. Ivanchikov¹

¹ Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia

² Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia

Received: 23.01.2023

Revised: 13.02.2023

Accepted: 07.03.2023

*Irina M. Zharkova: zharir@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-8662-4559>

Yuriy F. Roslyakov: <https://orcid.org/0000-0003-1431-4804>

Danil S. Ivanchikov: <https://orcid.org/0000-0001-9814-6005>

© I.M. Zharkova, Yu.F. Roslyakov, D.S. Ivanchikov, 2023



Abstract.

Sourdough bakery products have a wide range of tastes and aromas, an extended shelf-life, and other benefits that are important for food producers and consumers. Recent years have seen a growing research interest in the microbiome of bakery sourdoughs. The research objective was to generalize, systematize, and analyze modern data on spontaneous fermentation starters, their production methods, and their role in the technological process at modern bakeries.

The study featured domestic and foreign monographs, research articles, and patents related to various aspects of the production and commercial use of spontaneously fermented baking starters. The search covered publications indexed in PubMed and eLIBRARY.RU in 2000–2022. The sources were selected based on such indicators as completeness, consistency, reliability, and relevance. The obtained data were analyzed and systematized in line with the method of apperception and holography.

The analysis focused on the factors that affect the microbiome of baking starter cultures, in particular, spontaneous fermentation. Another aspect included the effect of the raw materials used at the stage of breeding spontaneous fermentation starter cultures on their quality indicators. The transformation of bioactive compounds in the process of sourdough fermentation proved to be an increasingly relevant research matter. Food producers are looking for more effective tools to develop bakery products with specific nutritional properties, e.g., lower glycemic index, increased content of bioactive nutrients, reduced acrylamide content, low gliadin allergenicity, etc.

The isolation and profiling of microorganisms included in the microbiome of spontaneous fermentation sourdough cultures is of practical interest because new strains might produce starter cultures intended for various target audiences.

Keywords. Bakery, bread, sourdough, yeast, sourdough microbiome, taste and aroma of bread, quality, biological effect

For citation: Zharkova IM, Roslyakov YuF, Ivanchikov DS. Sourdoughs of Spontaneous (Natural) Fermentation in Modern Bakery Production. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):525–544. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2455>

Введение

Характерной особенностью большинства хлебо-булочных изделий является наличие хорошо разрыхленной структуры мякиша (в нормативную и техническую документацию для хлеба, булочных и сдобных изделий включен физико-химический показатель «пористость мякиша»). Эффект разрыхления теста – это насыщение однородной и пластичной массы теста пузырьками газа, который приводит к образованию хорошо развитого губчато-сетчатого клейковинного каркаса. Последующее формирование характерной структуры мякиша достигается за счет использования химического, механического или биологического воздействия на тесто.

Химический способ разрыхления теста часто применяется при производстве мучных кондитерских изделий. Однако среди хлебобулочной продукции можно найти рецептуры, предусматривающие внесение химических разрыхлителей. Например, традиционный ирландский и шотландский содовый хлеб, зерновой и безглютеновый хлеб [1–3].

Для внедрения механического способа разрыхления теста в промышленном масштабе разрабатываются установки, предназначенные для сбивания теста под давлением сжатого воздуха [4]. Полученное таким образом тесто представляет собой пенообразную массу со стабильными физико-химическими характеристиками, а хлеб имеет хорошо разрыхленный и эластичный мякиш [5, 6]. Однако для получения

продукции, обладающей привычными для потребителя вкусом и ароматом, необходимо введение в рецептуру дополнительных ингредиентов. Например, органических кислот, фруктовых соков, молочной сыворотки или полуфабрикатов, содержащих молочнокислые бактерии и их метаболиты [4, 7].

Самым распространенным способом разрыхления теста при производстве хлебобулочных изделий является биологический способ, предусматривающий использование специальных ингредиентов (хлебопекарные дрожжи и пивоваренные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* штамм Y9194) или полуфабрикатов (закваски и жидкие дрожжи), которые служат источником технологической микрофлоры (дрожжевых клеток и молочнокислых бактерий) и изготавливаются на предприятии [8–11]. Эффект разрыхления теста достигается за счет диоксида углерода, образующегося в результате жизнедеятельности микроорганизмов (дрожжей и гетероферментативных молочнокислых бактерий). Особенностью продукции, изготовленной с использованием биологических разрыхлителей, наряду с характерной текстурой мякиша, структурой пористости и объемом изделий, является наличие специфических и неповторимых оттенков вкуса и запаха [12–16].

В индустриальном хлебопечении используют коммерческие хлебопекарные дрожжи (сушеные, инстантные и прессованные, дрожжевое молоко), представленные различными штаммами вида *S. cerevisiae*, а также жидкие дрожжи и закваски, произведенные с использованием чистых культур микроорганизмов – дрожжей и молочнокислых бактерий [8, 9, 17–20].

Преимущества, которые дает применение заквасок производителям и потребителям, а также основные классификационные признаки заквасок, принятые в Российской Федерации и зарубежом, обобщены и представлены на рисунке 1.

Благодаря наличию в заквасках комбинаций микроорганизмов дрожжевых клеток и молочнокислых бактерий достигается выработка продукции, которая обладает широким спектром вкусо-ароматических веществ, что высоко ценится потребителями [14, 15, 21, 22]. Также важными преимуществами хлебобулочных изделий, изготовленных на заквасках, являются увеличенный срок хранения (за счет повышения кислотности и микробиологической стойкости, замедления процесса черствения); возможность устранения чрезмерной крошковатости мякиша за счет улучшения его эластичности; снижение гликемического индекса; повышение биодоступности содержащихся в них минеральных веществ; снижение содержания глютена [23–31].

Международная классификация заквасок предполагает деление их на типы в зависимости от: – вида инокулята – источника технологической микрофлоры (тип 1, 2 и 3);

– технологических особенностей процесса получения и поддержания заквасок (тип 0, I, II, III). Закваски спонтанного брожения относят к типам 1 и I.

В Российской Федерации хлебопекарные закваски делят по большому количеству признаков. Например, в зависимости от вида муки, используемой при воспроизводстве закваски, существуют пшеничные и ржаные закваски. В последнее время появились закваски из муки нехлебопекарных злаков (ячменя и риса), которые предназначены для выработки безглютенового хлеба [32].

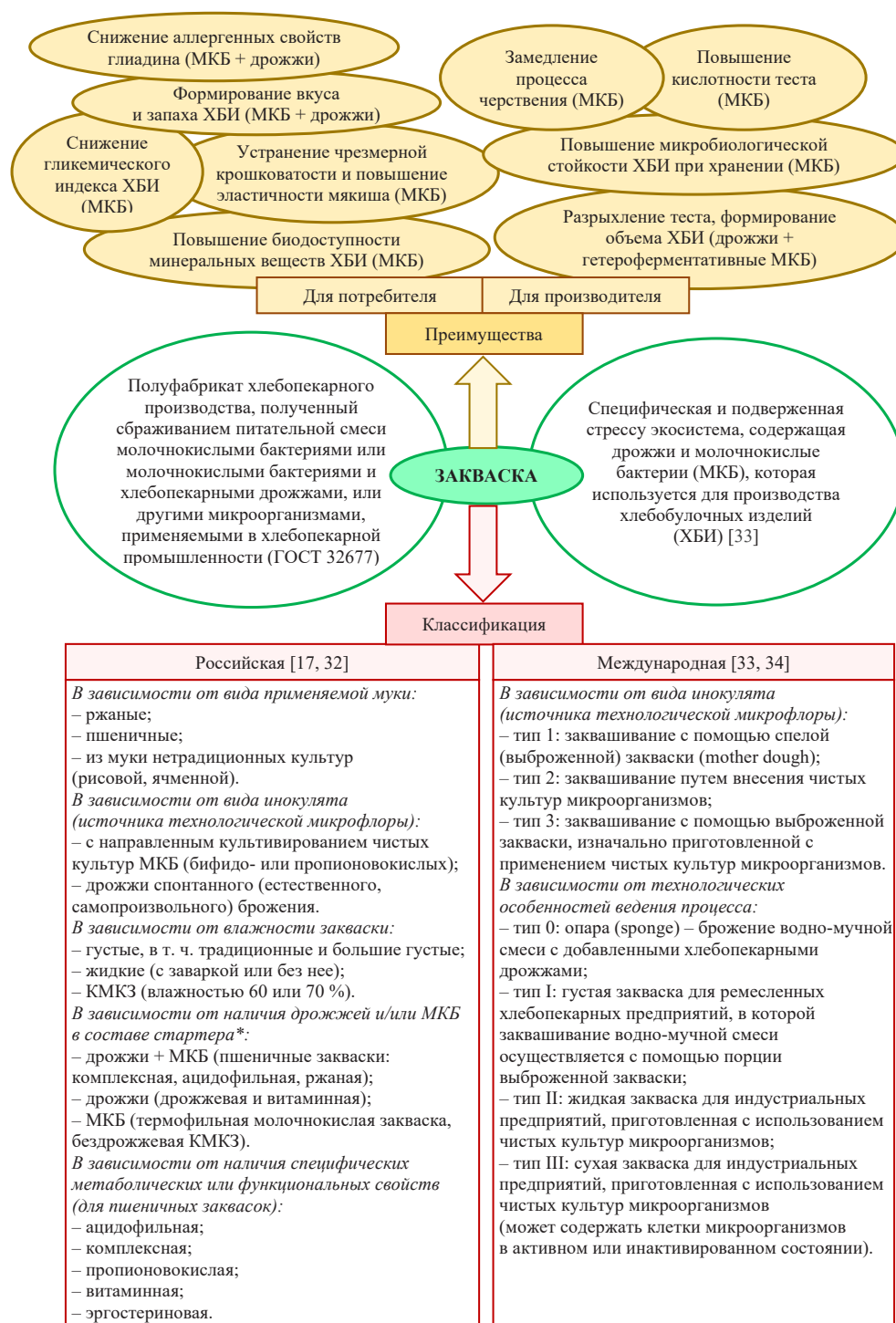
В зависимости от источника технологической микрофлоры все закваски можно разделить на две большие группы. При культивировании заквасок первой группы на начальном этапе (разводочный цикл) используют препараты чистых культур микроорганизмов [17]. Выведение заквасок второй группы, т. н. заквасок спонтанного (естественного, самопроизвольного) брожения, предусматривает использование «полезной» микрофлоры, которая естественным образом содержится в муке и в дополнительном сырье [9, 11].

Преимуществом заквасок первой группы – на чистых культурах микроорганизмов – является возможность в течение длительного времени производить большие объемы хлебобулочных изделий со стабильными показателями качества, в том числе органолептическими. Однако для ведения таких заквасок в промышленных масштабах требуется высококвалифицированный персонал, умеющий работать с микроорганизмами, способный оценить свойства заквасок и произвести необходимую корректировку технологических параметров для их стабилизации. Также необходимо наличие производственных площадей для размещения заквасочных отделений с регулируемым микроклиматом. Эти условия могут выполнить лишь крупные хлебопекарные предприятия.

При длительном ведении в производственных условиях заквасок, выведенных в разводочном цикле с использованием чистых культур микроорганизмов, происходит изменение в них видового состава микроорганизмов с преобладанием «диких» форм, т. е. требуется их периодическое обновление [32].

В Российской Федерации фундаментальные исследования жизнедеятельности микроорганизмов хлебных заквасок, разработку и совершенствование биотехнологий и ассортимента заквасок специального назначения проводят в Санкт-Петербургском филиале ФГАНУ НИИХП [32].

В последние годы расширилась сеть пекарен, специализирующихся на выпуске т. н. ремесленной продукции (по прогнозам к 2025 г. на долю пекарен, пекарен-кафе и хлебных бутиков будет приходиться 27 % общего выпуска хлебобулочных изделий в Российской Федерации) [36]. Структура таких пекарен не предусматривает наличия микробиологи-



* Стартер – это препарат чистых культур заквасочных микроорганизмов, применяемый на этапе разводного цикла заквасок.

Рисунок 1. Классификация хлебопекарных заквасок

Figure 1. Classification of bakery sourdoughs

ческой лаборатории, и их работа осуществляется в одну смену, что делает невозможным использование классических технологий ведения заквасок. Для них выпускают закваски в концентрированном жидком или сыпучем видах. Также разработан

широкий ассортимент подкислителей для изделий из смеси ржаной и пшеничной муки [37, 38].

Одним из трендов развития ремесленного (artisan bakery) или рустикального (rustic bakery) хлебопечения является использование заквасок спон-

танного брожения. В числе преимуществ таких заквасок можно назвать относительно высокую устойчивость показателей их качества при меньшей требовательности к четкому соблюдению технологических параметров и легко осуществимое консервирование с последующей активизацией бродильной и кислотообразующей микрофлоры [39]. Кроме того, при выведении закваски спонтанного брожения исключаются затраты на приобретение дорогостоящих препаратов чистых культур микроорганизмов. При ведении заквасок спонтанного брожения значение для получения качественного продукта имеет качество исходного сырья.

К дополнительным пунктам «за» использование заквасок спонтанного брожения можно отнести мнение О. В. Афанасьевой и др. о том, что использование чистых культур микроорганизмов при промышленном производстве классических заквасок важно лишь на начальном этапе их выведения, т. к. позволяет исключить стадию «селекции» нужной микрофлоры, содержащейся в муке при создании условий, которые препятствуют развитию нежелательной микрофлоры [40]. При длительном воспроизводстве классических заквасок в производственном цикле спонтанная микрофлора, вносимая с мукой, будет влиять на качество закваски, в том числе на спектр вырабатываемых в ней вкусо-ароматических веществ: через 6–12 месяцев необходимо будет снова и снова повторять выведение закваски с разводочного цикла с использованием дорогостоящих препаратов чистых культур микроорганизмов. Закваски спонтанного брожения могут сохранять исходные показатели качества на протяжении многих лет [41].

Цель данного обзора – обобщение и анализ современных данных об особенностях ведения заквасок спонтанного брожения, способов их получения и роли в организации технологического процесса на современных предприятиях хлебопекарной отрасли.

Задачи исследования:

1. Систематизация информации о сырье, используемом на стадии выведения заквасок спонтанного брожения и поддержания их в производственном цикле;
2. Анализ факторов, влияющих на качественный состав микробиома заквасок, его стабильность и органолептические показатели хлеба;
3. Выявление перспективных направлений исследований по использованию хлебопекарных заквасок спонтанного брожения в технологии хлебобулочных изделий с прогнозируемыми биологическими эффектами.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования: находящиеся в открытом доступе российские и зарубежные монографии, научные статьи и патенты на изобретения,

связанные с исследованием различных аспектов производства и использования хлебопекарных заквасок спонтанного брожения. Библиографический поиск осуществляли по следующим информационным базам: PubMed (ключевые слова: spontaneous sourdough for bread, sourdough for bread, types of sourdough, microflora of sourdough) и eLIBRARY.RU (ключевые слова: спонтанные закваски для хлеба и хлебные закваски) в обратной хронологической последовательности. Период поиска – с 2000 по 2022 гг.

Отбор источников информации осуществляли с учетом полноты и системности изложения материала, его достоверности и релевантности. Для анализа и систематизации найденной информации использовали метод апперцепирования и голографический метод.

Результаты и их обсуждение

Растущий интерес потребителей к ремесленным продуктам, в частности к хлебу, а также стремление индустриальных производителей к освоению выпуска продукции, обладающей эксклюзивными вкусовыми и ароматическими профилями, с использованием различных видов зерна и семян приводят к возрождению интереса к использованию нетрадиционной микробиоты, в том числе заквасок спонтанного брожения [9].

Хлебопекарные закваски спонтанного брожения представляют собой водно-мучные смеси (иногда с добавлением пищевой соли), подвергнутые ферментации с помощью микроорганизмов, присутствующих в исходном сырье (эндогенные или автохтонные микроорганизмы). История использования спонтанных заквасок в хлебопечении насчитывает по разным источникам от 3,5 до 6 тысячелетий [9, 11]. Однако потенциальные возможности их широкомасштабного применения в условиях ремесленных пекарен или индустриальных предприятий исследованы и определены не в полной мере.

Формирование микробиома заквасок и их технологических свойств происходит в результате совместного влияния многочисленных факторов, обусловленных как используемым сырьем, так и соблюдением определенных технологических параметров и режимов (рис. 2). При определенных условиях микробиота спонтанных заквасок может оставаться стабильной на уровне штаммов микроорганизмов в течение нескольких десятилетий ее воспроизводства в производственном цикле [41, 42]. Задокументированный возраст некоторых заквасок составляет более 100 лет, что составляет более 100 000 циклов возобновления [34, 43].

Остановимся более подробно на отдельных аспектах производства и применения хлебопекарных заквасок спонтанного брожения.

Микрофлора спонтанных заквасок (состав и стабильность во времени). Микробиом заквасок спонтанного брожения образуют представители



Рисунок 2. Факторы, влияющие на микробиом заквасок спонтанного брожения

Figure 2. Factors affecting the microbiome of sourdoughs of spontaneous fermentation

царств (доменов) *Bacteria* и *Fungi*. В таблице 1 приведен перечень некоторых микроорганизмов, имеющих значение для технологии хлебопекарных заквасок спонтанного брожения [44].

В таблице 2 приведена информация об изменении названий важных для технологии хлебопекарных заквасок спонтанного брожения микроорганизмов [44, 45].

Пшеничные и ржаные закваски имеют сходную микробиоту, состав и активность которой зависят от условий осуществления процессов их выведения и воспроизводства [42]. Численность бактериальной микрофлоры в заквасках составляет 10^8 – 10^9 КОЕ/г и состоит из факультативных и облигатных гетероферментативных видов (наиболее часто идентифицируются бактерии семейства *Lactobacillaceae*). Доминирующими видами являются *Lactiplantibacillus plantarum* и *Levilactobacillus brevis*, часто встречается *Limosilactobacillus fermentum*, в меньшем количестве *Lactobacillus casei* и *Lentilactobacillus buchneri*. Термофильный вид *Lactobacillus leichmannii* найден в единичных случаях, а *Lactobacillus delbrueckii* не обнаружен [46]. Разнообразие бактериальной микрофлоры выше в сравнении с дрожевой (численность порядка 10^6 – 10^7 КОЕ/г), представленной семейством *Saccharomycetaceae* [9, 34, 41, 47, 48]. Наиболее распространенным видом дрожжей в заквасках является *Saccharomyces cerevisiae* – обнаружены в 68 % заквасок, *Kazachstania*

humilis – 20 %, *Wickerhamomyces anomalus*, *Torulaspora delbrueckii* и *Pichia kudriavzevii* – 6 %, *Candida glabrata* – 4 % [49].

S. cerevisiae – обычные хлебопекарные дрожжи, ассимилирующие мальтозу и относительно устойчивые к кислотам в среде [9].

Дрожжи *K. humilis* относительно термоустойчивы (до 36 °C), растут в диапазоне pH от 3,5 до 7,0. Благодаря своему отрицательному отношению к мальтозе формируют устойчивые трофические отношения с мальтозо-положительными специфическими для закваски молочнокислыми бактериями, такими как *Fructilactobacillus sanfranciscensis* [34]. *F. sanfranciscensis*, благодаря окислительно-восстановительному гомеостазу (активности глутатионредуктазы и НАДН-оксидазы), выдерживает окислительный стресс, возникающий в результате окисления тиолов дрожжевыми клетками *K. humilis*.

Дрожжи в закваске сбраживают сахара муки (мальтозу, сахарозу, глюкозу и фруктозу) по пути Эмбдена-Мейергофа-Парнаса в пируват, а затем превращают пируват в этанол и диоксид углерода (спиртовое брожение). Образование глицерина и янтарной кислоты способствует балансировке окислительно-восстановительного потенциала закваски. Образующийся диоксид углерода важен для разрыхления теста при его брожении и получения хлеба с хорошо разрыхленным мякишем. Глицерин выступает в роли осмопротектора и улучшает удержание

Таблица 1. Современная систематика некоторых прокариот, имеющих значение в технологии хлебопекарных заквасок спонтанного брожения

Table 1. Modern taxonomy of prokaryotes in spontaneous fermentation baking sourdoughs

Класс	Порядок	Семейство	Род
Домен (Kingdom) Bacteria			
<i>Flavobacteriia</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Weeksellaceae</i>	<i>Chryseobacterium</i>
Тип (fillum) Bacteroidota			
<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonadales</i>	<i>Sphingomonadaceae</i>	<i>Sphingomonas</i>
<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Burkholderiales</i>	<i>Comamonadaceae</i>	<i>Comamonas</i>
<i>Gammaaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Enterobacterales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacter</i>
			<i>Escherichia</i>
		<i>Erwiniaceae</i>	<i>Erwinia</i>
		<i>Morganellaceae</i>	<i>Proteus</i>
		<i>Yersiniaceae</i>	<i>Serratia</i>
			<i>Yersinia</i>
	<i>Moraxellales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter</i>
Тип (fillum) Firmicutes			
<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>
		<i>Listeriaceae</i>	<i>Listeria</i>
		<i>Sporolactobacillaceae</i>	<i>Sporolactobacillus</i>
		<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>
	<i>Lactobacillales</i>	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>
		<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Companilactobacillus</i>
			<i>Fructilactobacillus</i>
			<i>Lacticaseibacillus</i>
			<i>Lactiplantibacillus</i>
			<i>Lactobacillus</i>
			<i>Lapidilactobacillus</i>
			<i>Lentilactobacillus</i>
			<i>Leuconostoc</i>
			<i>Levilactobacillus</i>
			<i>Limosilactobacillus</i>
			<i>Pediococcus</i>
			<i>Weissella</i>
		<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>
			<i>Streptococcus</i>
	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium</i>
Домен (Kingdom) Fungi			
Филум <i>Ascomycota</i> , клад <i>Saccharomyceta</i> , подтип <i>Saccharomycotina</i> (true yeasts), класс <i>Saccharomycetes</i> , порядок <i>Saccharomycetales</i>			
Семейство	Род	Вид	
<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>Kazachstania</i>	<i>Kazachstania unispora</i>	
	<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (baker's yeast) <i>Saccharomyces bayanus</i>	
	<i>Nakaseomyces</i>	<i>Candida glabrata</i>	
<i>Pichiaceae</i>	<i>Pichia</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>	
<i>Phaffomycetaceae</i>	<i>Wickerhamomyces</i>	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	

диоксида углерода. Янтарная кислота вызывает снижение pH и способствует образованию глютенной сети и формированию текстуры и реологических свойств теста [33].

Молочнокислые бактерии представляют собой грамположительные, каталазоотрицательные,

не образующие спор, анаэробные (аэротолерантные) бактерии, принадлежащие к типу *Firmicutes*. Они ответственны за подкисление водно-мучной смеси и закваски за счет образования молочной и/или уксусной кислот, а также за формирование аромата (в основном кислого) [34]. В заквасках

Таблица 2. Изменения в систематике и названиях некоторых микроорганизмов

Table 2. Changes in the taxonomy of some microorganisms

Устаревшее название	Современное название
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>
<i>Candida humilis</i>	<i>Kazachstania humilis</i>
<i>Saccharomyces unispora</i>	<i>Kazachstania unispora</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus pontis</i>	<i>Limosilactobacillus pontis</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus paralimentarius</i>	<i>Companilactobacillus paralimentarius</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Pichia anomala</i>	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
<i>Saccharomyces rosei</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>

спонтанного брожения могут встречаться уксуснокислые бактерии, но они не относятся к основной микробиоте закваски [50].

S. van Kerrebroeck с соавторами провели метаанализ литературных данных о 583 заквасках типов I и II [49]. Установлено, что наиболее распространенным видом молочнокислых бактерий является *F. sanfranciscensis* – выявлена в 47 % заквасок, *L. brevis* – в 17 %, *L. fermentum* – в 12 %. Кроме того, встречаются гомоферментативные виды молочнокислых бактерий, такие как *L. plantarum* (43 %), *Pediococcus pentosaceus* (14 %) и *Companilactobacillus paralimentarius* (13 %) [49]. Гетероферментативные лейконостоки и вайселлы обычно присутствуют в закваске с высоким pH (> 4,0) при низкой температуре брожения (< 30 °C) [43].

Бактерии *C. paralimentarius* не способны ассимилировать мальтозу, но усваивают фруктозу, часто встречаются вместе с *F. sanfranciscensis* [43].

Многие исследователи изучают разнообразие молочнокислых бактерий закваски, а именно выясняют взаимодействия сообществ молочнокислых бактерий и динамические механизмы в процессе ферментации с целью получения желаемого микробного сообщества закваски [51].

Установлено, что молочнокислые бактерии вида *Pediococcus acidilactici* способны продуцировать бактериоцины, подавляющие размножение спор *Bacillus subtilis* и *Penicillium commune* [46]. По данным D. Jonkuvienė и др., *Limosilactobacillus reuteri* выделяют в среду бактериоцины и жирные кислоты, обладающие высокой антимикробной активностью и могут повысить безопасность и микробиологическую устойчивость хлеба при хранении [52].

Состав закваски спонтанного брожения зависит от температуры, при которой осуществляется ведение технологического процесса: 20–22 °C оптимальны для жизнедеятельности дрожжей, а увеличение температуры до 35–40 °C способствует развитию термофильных молочнокислых бактерий и повышению кислотности закваски, что служит антагонистическим фактором по отношению к спорным бактериям «картофельной» болезни хлеба [53].

Закваски спонтанного брожения содержат устойчивую доминирующую микробиоту. Однако в отношении стабильности экосистемы закваски единого мнения в научном мире нет. Несколько факторов могут препятствовать сохранению ассоциаций видов и штаммов, типичных для данной закваски: метаболическая адаптивность к стрессовым условиям закваски, пищевые и антагонистические взаимодействия между микроорганизмами, внутренняя устойчивость микроорганизмов и существование стабильной домашней микробиоты. Необходимо провести дальнейшие исследования, чтобы выявить скрытые механизмы, лежащие в основе микробной структуры и стабильности закваски. Понимание таких механизмов было бы полезно для оценки наиболее подходящих условий, которые позволяют сохранить закваску в качестве стабильной микробной экосистемы, сохраняя в течение долгого времени характерные свойства выпекаемого хлеба [54].

Сырье, используемое на стадиях выведения заквасок спонтанного брожения и их поддержания в производственном цикле. Традиционно закваски спонтанного брожения готовят из пшеничной и ржаной муки разных сортов или их смесей. Выведение таких заквасок осуществляется путем приготовления водно-мучных смесей и их выдержки (ферментация и брожение) при определенной температуре при повторном циклическом освежении продукта брожения новой порцией питательной (водно-мучной) смеси (рис. 3).

После стабилизации микробиома в продукте брожения (через 10–20 циклов его освежения) получают закваску (в англоязычной литературе принят термин «материнское тесто» (mother dough), обозначающий также часть спелой закваски, которая идет на возобновление в производственном цикле). Затем начинается производственный цикл ведения закваски, предусматривающий отбор части выброженной закваски («материнского теста») и смешивание ее с порцией питательной (водно-мучной) смеси с последующим брожением при определенных параметрах.

Поскольку источником микрофлоры при выведении заквасок спонтанного брожения (тип 1, I) служит только используемое сырье, то усилия исследователей в разных регионах мира сосредоточены на выявлении взаимосвязи между его характеристиками

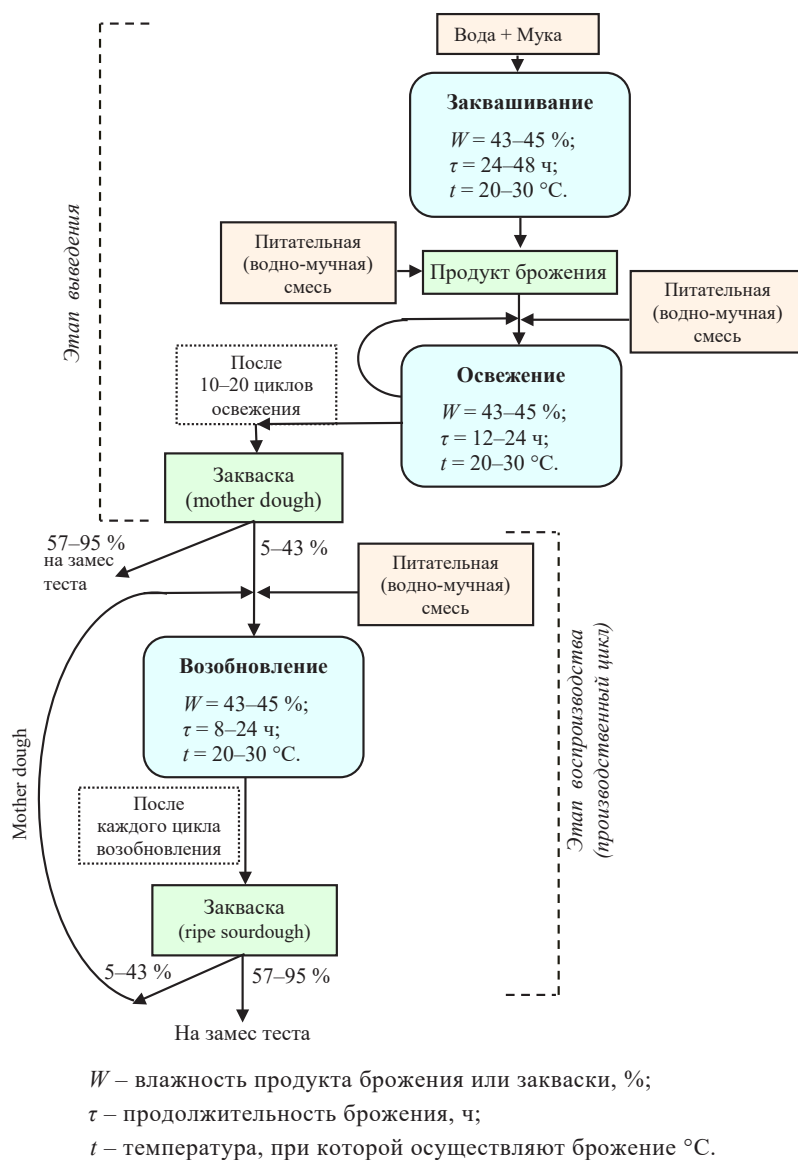


Рисунок 3. Технологический цикл выведения и воспроизведения заквасок спонтанного брожения (тип 1, I)

Figure 3. Technological cycle of breeding and reproduction of spontaneous fermentation sourdoughs (type 1, I)

(видовые и сортовые особенности, географическая принадлежность, разнообразие автохтонных микроорганизмов) и качественным составом микробиома получаемых заквасок.

От вида, сорта и качества муки (микробиологическая обсемененность, активность эндогенных ферментов, химический состав, крупность помола и степень разрушенности крахмальных гранул) зависит исходный состав микрофлоры, наличие и доступность микроорганизмам необходимых для их развития питательных веществ, разнообразие веществ-предшественников вкуса и аромата закваски и хлеба. Наличие и активность эндогенных ферментов влияют на скорость восполнения количества усвояемых углеводов, благодаря гидро-

лизу полисахаридов (крахмала), и на образование вкусо-ароматических компонентов.

Изначально мука содержит большое количество микроорганизмов, попадающих в нее при помол зерна с его поверхности и с рабочих поверхностей оборудования. Общая численность микроорганизмов в муке составляет 10^4 – 10^7 КОЕ/г, из которых до 10^3 КОЕ/г приходится на дрожжи (*Candida*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* и *Torulaspora*), до 10^4 КОЕ/г – на мицелиальные грибы («полевые» грибы: *Alternaria*, *Cladosporium* и *Fusarium*, грибы «хранения»: *Aspergillus* и *Penicillium*), до 10^7 КОЕ/г – на бактерии, принадлежащие к типу (филуму) *Firmicutes* (роды *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*,

Streptococcus и/или *Weissella*), до 10^3 КОЕ/г – на бактерии, принадлежащие к типу *Proteobacteria* (семейства *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonadaceae*) [33].

D. Ercolini с соавторами исследовали динамику микробной экологии закваски спонтанного брожения из муки ржаной (*Secale cereale*) и пшеничной (*Triticum durum* или *Triticum aestivum*) [47]. В микрофлоре муки дрожжи (*S. cerevisiae*, *K. humilis*, *W. anomalus* и *Saccharomyces bayanus*) преобладали над молочнокислыми бактериями, среди которых выявлены метаболически активные представители родов *Acinetobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Enterobacter*, *Erwinia* и *Sphingomonas*, относящиеся к типу *Proteobacteria*, а также представители рода *Chryseobacterium* (тип *Bacteroidota*). Численность бактерий, относящихся к типу *Firmicutes*, варьировалась от 5 % от общей численности микроорганизмов в пшеничной муке *T. durum* до 30 % в пшеничной муке *T. aestivum*. Бактерии типа *Firmicutes* в муке ржаной и пшеничной *T. aestivum* занимали второе по численности место после бактерий типа *Proteobacteria*, а в пшеничной муке *T. durum* – третье место после бактерий типов *Proteobacteria* и *Bacteroidota*. В муке из твердых сортов пшеницы (*T. durum*) среди бактерий типа *Firmicutes* преобладал род *Staphylococcus*, в ржаной – род *Weissella*, а в муке из мягких сортов пшеницы (*T. aestivum*) – комбинация родов *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella* и *Lactococcus*.

Ежедневно каждую закваску подвергали брожению при 25 °С в течение 5 ч (исключением была первая ферментация, которая длилась 8 ч). Между каждым ежедневным брожением закваски хранили при температуре 10 °С около 16 ч. Размножение закваски осуществлялось в соответствии с процедурой освежения, при которой закваска предыдущего дня использовалась в качестве инокулята для ферментации новой порции водно-мучной смеси. Закваски размножали ежедневно в течение 11 дней, пробы отбирали через 0 (тесто), 1, 2, 5 и 10 (закваски) дней размножения.

D. Ercolini и др. показали, что уже после первого периода брожения водно-мучной смеси из пшеничной муки *T. durum* в течение 8 ч при 25 °С экосистема микробиома изменилась, около 85 % общей численности бактерий приходилось на тип *Firmicutes* [47].

Соотношение между молочнокислыми бактериями и дрожжами стабилизировалось на уровне 100:1 через 5 дней размножения для ржаной и пшеничной закваски *T. aestivum* и через 6 дней для пшеничной закваски *T. durum*. *Enterobacteriaceae* были идентифицированы во всех образцах сразу после замеса перед первым брожением. Их количество увеличилось через 1 или 2 дня, но постепенно исчезло к 10 освежению.

Микробное разнообразие в продукте брожения сокращалось через 5 дней размножения и практически

стабилизировалось через 10 дней. Среди бактерий в закваске из ржаной муки доминировал род *Weissella* (55,6 % от общей численности бактерий), 32,5 % составляли бактерии рода *Lactobacillus*, 6,3 % – рода *Pediococcus*. В закваске из пшеничной муки твердых сортов (*T. durum*) доминировали бактерии рода *Lactobacillus* (56,4 %), за ними следовали *Leuconostoc* (18,7 %), *Lactococcus* (11,1 %) и *Weissella* (8,8 %). Аналогичная динамика микробного сообщества была отмечена в закваске из пшеничной муки мягких сортов (*T. aestivum*). Исключением было то, что на начальном этапе выведения закваски в ней уже присутствовали молочнокислые бактерии [47]. Среди дрожжей во всех образцах закваски через 10 суток выведения присутствовали *S. cerevisiae* и *S. bayanus*, а в заквасках из ржаной муки и пшеничной *T. aestivum* присутствовали *K. humilis* и *W. anomalus*.

Греческими исследователями М. К. Syrokou и др. изучена микрэкосистема 13 образцов пшеничных заквасок спонтанного брожения из разных регионов Греции: кислотность заквасок варьировалась в пределах 3,64–5,05 единиц pH, соотношение между количеством дрожжевых клеток и молочнокислых бактерий находилось в интервале 1:23–1:10 000, общая численность дрожжей и молочнокислых бактерий колебалась в пределах 4,60–6,32 и 6,28–9,20 log КОЕ/г соответственно [55]. Отмеченные различия в физико-химических параметрах заквасок, а именно значениях pH и кислотности, авторы объясняют разницей в микробной популяции и преобладающими видами микрофлоры. Среди молочнокислых бактерий в трех из исследованных пшеничных заквасках доминировали виды *L. plantarum*, в четырех – *L. brevis*, а в двух отмечено совместное доминирование этих видов бактерий. Кроме того, в двух заквасках доминировали *C. paralimentarius*, а в одной – *F. sanfranciscensis* и *Latilactobacillus sakei*. *Lactococcus lactis*, *Latilactobacillus curvatus*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides* и *Lactobacillus zymae* были извлечены из некоторых образцов. Среди дрожжей в 11 заквасках преобладали *S. cerevisiae*, а в одной – *Pichia membranifaciens* и *Pichia fermentans*. В одном из проанализированных образцов были обнаружены *W. anomalus* и *K. humilis* [55].

J. Boreczek с соавторами исследовали динамику микрофлоры при выведении заквасок спонтанного брожения с использованием цельнозерновой муки из пшеницы, спельты и ржи [41]. Стабилизация микробиома происходила через 72 ч выведения закваски при 30 °С с освежением новыми порциями питательной смеси через каждые 12 ч. Состав микрофлоры закваски из пшеничной цельнозерновой муки и спельты схож, тогда как у закваски из ржаной цельнозерновой муки отличается. Для видового разнообразия микроорганизмов в ржаной закваске характерна наименьшая гетерогенность. Независимо

от вида муки, численность молочнокислых бактерий в закваске составляла 10^9 КОЕ/г, что было на три порядка больше количества дрожжей (10^6 КОЕ/г). Доминирующим типом бактерий во всех образцах закваски был *Firmicutes*, представленный порядком *Lactobacillales* с преобладанием семейства *Lactobacillaceae*.

По данным М. Е. Бессмельцевой и др., закваски спонтанного брожения из ржаной муки могут содержать различные комбинации дрожжей *C. glabrata*, *Kazachstania unispora*, *P. kudriavzevii* и *S. cerevisiae* [56]. В исследовании S. Weckx с соавторами установлено, что после стабилизации микробной экосистемы ржаных заквасок доминирующими видами лактобацилл в них являются *L. plantarum* и *L. fermentum* [57]. Стабилизацию микробиома заквасок авторы связывают с наличием определенных веществ (например, орнитина и маннита), повышающих конкурентоспособность бактерий на начальном этапе выведения ржаных заквасок.

В. К. Хлесткин и др. исследовали зависимость таксономической структуры микробиома российских ржаных заквасок спонтанного брожения (густой и жидкой без заварки) [35]. В течение 10 суток от начала выведения в обеих заквасках произошла кардинальная смена бактерий семейства *Lactobacillaceae*: если через 24 ч в продукте брожения доминировали представители рода *Weissella*, то на 10-е сутки в закваске обнаруживались только представители рода *Lactobacillus*, т. е. бактерии родов *Leuconostoc*, *Weissella* и *Pediococcus* к этому моменту полностью вытеснялись. Авторы отметили различия в видовом составе молочнокислых бактерий в зависимости от влажности закваски. В густой ржаной закваске через месяц ее ведения, наряду с доминирующим видом *F. sanfranciscensis*, появились бактерии *Companilactobacillus* sp. В жидкой ржаной закваске без заварки доминировали молочнокислые бактерии *Limosilactobacillus pontis*.

А. Fujimoto и др. в своем исследовании на примере ржаной и пшеничной муки, смолотой из зерна, выращенного в Японии и Франции, показали, что на качество закваски (количественный и качественный состав микрофлоры, его динамика в процессе выведения закваски в течение 6 суток, наличие вкусо-ароматических веществ) влияет не только вид используемой муки, но и ее географическое происхождение [58]. В работе Е. А. Landis и др. проанализировано 500 заквасок с четырех континентов. Авторы не обнаружили достоверных различий, обусловленных именно географической принадлежностью региона выращивания зерна, из которого получали муку [59].

Независимо от первоначальных характеристик муки, формирование специфического микробиома заквасок спонтанного брожения и его стабилизация происходят в три этапа (рис. 4) [33, 34, 57].

На активность развития микроорганизмов в закваске влияет наличие доступных сахаров, основное количество которых образуется из крахмала под воздействием амилаз муки. Следует учитывать, что в пшенице и ржи присутствуют α - и β -амилаза, тогда как в растениях, осуществляющих фотосинтез С4-путем (например, кукуруза, сорго, амарант), присутствует только α -амилаза.

Расщепление белков питательной смеси в процессе приготовления закваски зависит от комбинированного воздействия ферментов муки и микроорганизмов.

Поскольку ряд молочнокислых бактерий более чувствителен к изменению pH закваски, а не к концентрации в ней органических кислот, то важным фактором при выборе сырья для выведения заквасок спонтанного брожения является его буферная емкость (the buffering capacity), зависящая от количества отрубистых частиц [42].

Благодаря высокому уровню мальтозы, сахарозы и аминокислот в муке из зерна твердой пшеницы

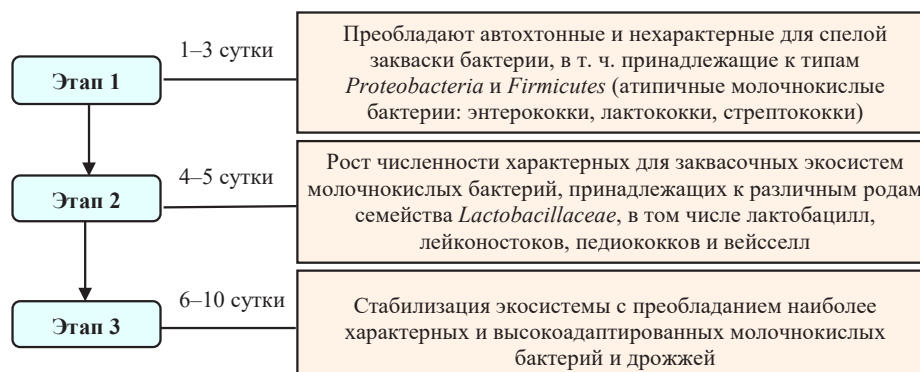


Рисунок 4. Этапы формирования микробиома заквасок спонтанного брожения

Figure 4. Stages of microbiome formation in sourdoughs of spontaneous fermentation

Южной Италии выведенная из нее закваска спонтанного брожения содержит облигатные гетероферментативные молочнокислые бактерии [42].

Известны закваски спонтанного брожения, предназначенные для выработки национальных хлебобулочных изделий. Например, горохово-бадьяная закваска для узбекских лепешек с соотношением бактериальных и дрожжевых клеток 181:1. Е. Н. Молчанова с соавторами установили возможность и целесообразность использования побочных продуктов крупяного производства (мучки ячменной, пшеничной, гороховой, овсяной и кукурузной) в качестве компонента питательной смеси при воспроизводстве горохово-бадьяной закваски [60].

Известны разработки по выведению заквасок спонтанного брожения с помощью муки из псевдозерновых (амарант и гречиха) и бобовых (фасоль, нут, чечевица и люпин) культур, муки из желудей, каштана, чиа, семян льна, конопли, киноа или подсолнечника, полбы, ячменя и кукурузы [29, 31, 34, 41, 61–66]. Необходимо учитывать наличие в сырье специфических компонентов, способных влиять на жизнеспособность микроорганизмов. Например, β -глюканы в ячменной и овсяной муке, фенольные соединения в сорго и просяной муке, дубильные вещества в гречневой муке.

Доминирующая микрофлора в заквасках из сорго, проса, кукурузы, риса или тефа, выведенных в Африке и Южной Азии, лишь частично схожа с микрофлорой ржанных и пшеничных заквасок [42].

Отдельную категорию можно отнести закваски спонтанного брожения для производства безглютенового хлеба. В работах [67–71] показано, что в заквасках из риса, кукурузы, гречихи, тефа и амаранта наиболее часто обнаруживаются молочнокислые бактерии видов *L. fermentum*, *L. plantarum* и *C. paralimentarius*. А. V. Moroni и др. в своем исследовании отметили, что в безглютеновых заквасках среди доминирующей микрофлоры присутствуют нехарактерные для традиционных заквасок виды *Lactobacillus gallinarum*, *Latilactobacillus graminis* и *P. pentosaceus* [72].

Р. Carbó с соавторами предложили рецептуру и способ приготовления безглютеновой закваски спонтанного брожения из равных количеств муки из зерна амаранта, киноа и гречневой муки [31]. Закваску вели при выходе закваски DY, равным 250 ($DY = (\text{масса муки} + \text{масса воды}) \times 100 / \text{масса муки}$). Численность молочнокислых бактерий составила $9,60 \pm 0,02 \log \text{КОЕ/г}$, общее количество дрожжей – $7,91 \pm 0,15 \log \text{КОЕ/г}$, в том числе не относящихся к роду *Saccharomyces* (лизин-положительных) – $7,52 \pm 0,10 \log \text{КОЕ/г}$.

Кроме муки, на стадии выведения заквасок спонтанного брожения используют и немучные компоненты, которые могут служить источником специфической микрофлоры (йогурт и чайный гриб) ли-

бо питательных веществ для микрофлоры муки (фруктовый сок, сок жимолости, яблоко и банан, кальций, клетчатка и белок), либо препятствовать развитию нежелательной микрофлоры (хмель и черемуха) [34, 73–81].

Благоприятное действие фруктовых соков авторы А. Р. Dorosh и N. N. Gregirchak объясняют тем, что вместе с ними в закваски попадают вещества, стимулирующие рост дрожжей, которые обеспечивают накопление в среде аминокислот и витаминов, необходимых бактериям, в том числе молочнокислым [82].

При добавлении фруктов, цветов или пива Ламбик в питательную среду при выведении и воспроизводстве хлебопекарной закваски в ней обнаруживаются уксуснокислые бактерии [50, 83]. Уксуснокислые бактерии вида *Gluconobacter cerinus* были обнаружены в итальянских заквасках, на стадии выведения которых в питательную смесь добавляли цветки яблони или мякоть яблока [83]. Добавление базилика в питательную смесь для греческих пшеничных заквасок приводит к появлению в составе микрофлоры дрожжей *Yarrowia lipolytica* [84].

Качество хлеба, изготовленного на заквасках, зависит от метаболической активности микробиоты закваски в сочетании с ферментативной активностью зерновых субстратов, поэтому необходимо стремиться поддерживать параметры их воспроизводства на постоянном уровне [85].

Субстратные факторы, такие как доступность углеводов и наличие антимикробных фенольных соединений, способствуют формированию дивергентной и специфичной для субстрата микробиоты. Однако специфическое влияние сырья на микробную экологию закваски до конца не изучено [42].

Влияние состава микробиома заквасок на вкус и аромат хлеба. Процесс ферментации водно-мучной смеси на начальном этапе выведения закваски спонтанного брожения запускается из-за активных эндогенных ферментов муки: амилазы расщепляют крахмал с высвобождением мальтозы и мальтодекстринов; протеазы осуществляют первичный протеолиз белков муки, в результате чего происходит деполимеризация клейковинной сети, накапливаются олигопептиды и свободные аминокислоты [86]. Присутствующие в муке молочнокислые бактерии сбраживают свободную мальтозу и моносахариды в молочную кислоту и/или уксусную кислоту и вызывают вторичный протеолиз, в ходе которого внутриклеточные пептидазы гидролизуют поглощенные олигопептиды и способствуют накоплению аминокислот в закваске в результате высвобождения их избыточных количеств из клетки. Эти аминокислоты не только обогащают закваски питательными веществами, но и являются предшественниками для дальнейшего ферментативного превращения во вкусо-активные летучие органические соединения (альдегиды, спирты,

карбоновые кислоты и/или сложные эфиры) под действием молочнокислых бактерий и/или дрожжей [42]. Накопление в закваске молочной кислоты (гомо- и гетероферментативные виды молочнокислых бактерий) и уксусной кислоты (гетероферментативные виды молочнокислых бактерий) формирует кислый вкус хлеба на закваске. Определяющим фактором является отношение молочной кислоты к уксусной, которое называют «коэффициентом брожения» (предпочтительно, чтобы на моль уксусной кислоты приходилось около 3,0–5,0 молей молочной). Молочная кислота придает хлебу мягкую кислинку и обеспечивает свежий вкус, тогда как уксусная кислота способствует формированию резкого уксусоподобного кислого вкуса. Уксусная кислота является летучей, что способствует формированию аромата хлеба. Более высокие температуры вызывают сдвиг коэффициента брожения в сторону образования молочной кислоты, тем самым усиливая подкисление закваски [33].

В исследовании J. Jin с соавторами продемонстрировано, что в закваске, содержащей *P. pentosaceus* и *S. cerevisiae*, коэффициент брожения составляет 2,08–2,86, а хлеб обладает сбалансированными сенсорными свойствами [24].

Гомоферментативные *Lactobacillaceae* преобразуют пируват в диацетил и ацетонин, придающие аромату хлеба маслянистые нотки. Диацетил может быть преобразован в пиразины посредством реакций Майяра в процессе выпечки хлеба. Накопление аминокислот в результате гидролиза пептидов может привести, например, к появлению вкуса умами – приятного вкуса высокобелковой или мясной пищи, создаваемого глутаматами. Образующийся в ходе биохимических превращений орнитин может реагировать с карбонильным соединением 2-оксипропаналем (метилглиоксаль) в процессе выпечки хлеба с образованием 2-ацетил-1-пирролина, который придает характерный аромат корке хлеба [33, 34]. Кроме того, в результате снижения pH хлебного теста в ходе реакций Майяра происходит перегруппировка Амадори, и в процессе выпечки образуются различные соединения Майяра, такие как фураны, пиразины, пирролы и пирролины [87]. Окисление жирных кислот, которые присутствуют в муке, катализируемое липоксигеназой и гидропероксидлиазой, вызывает образование летучих альдегидов, таких как 4,5-эпокси-(Е)-2-деценаль и (Е)-2-ноненаль, влияющих на аромат хлеба [34, 86]. В результате протеолиза белков образуются вкусоактивные пептиды: глутатион, некоторые γ -глутамилдипептиды и трипептиды, придающие т. н. «вкус кокуми» (характеризует баланс между глубиной, «богатством» вкуса, интенсивностью, длительностью послевкусия и общей гармоничностью вкуса) [88]. Некоторые молочнокислые бактерии, например, *L. plantarum*, синтезируют декарбоксии-

лазы фенольной кислоты и редуктазы коричной кислоты, которые преобразуют фенольные кислоты и флавоноиды, присутствующие в муке, в различные предшественники аромата [33, 34, 86, 89].

В исследовании М. S. Chiş и др. показана возможность улучшения качества безглютеновой продукции за счет использования рисовой закваски, в которой присутствуют молочнокислые бактерии *Lactobacillus spicheri* DSM 15429: среди летучих веществ, формирующих профиль аромата изделий, были идентифицированы 3-метилбутаналь, 2-метилбутаналь, ацетофенон и лимонен; кроме того, улучшились реологические свойства мякиша маффинов и его текстура [90].

Биохимические процессы, происходящие в закваске под воздействием молочнокислых бактерий, влияют на реологические свойства теста: глутатионредуктаза разрушает дисульфидные связи в клейковинном каркасе с накоплением тиоловых соединений, которые снижают окислительно-восстановительный потенциал закваски [34]. Повышению газодерживающей способности теста и получению хлеба с большим объемом и лучшей пористостью способствуют арабиноксиланы (в кислой среде обладают повышенной гидратационной способностью) и образующиеся с помощью молочнокислых бактерий олигосахариды (кестозы, нистозы и кестопентаозы), которые обладают высокой водосвязывающей способностью. Благодаря этому замедляется процесс черствения, связанный с испарением влаги [34, 86].

Дрожжевые клетки вносят свой вклад в формирование аромата закваски и хлеба, синтезируя различные вещества, в частности высшие спирты из аминокислот. Например, 3-метил-1-бутанол (характерный компонент вкуса хлебного мякиша) из L-лейцина [33]. Сложные эфиры, являющиеся продуктами конденсации этанола и жирных кислот (этиловые эфиры) или высших спиртов и ацетатов (ацетатные эфиры), придают вкусу хлеба фруктовые и цветочные ноты; диацетил, образующийся в результате метаболизма пирувата в процессе ферментации либо в результате разложения по Штрекеру во время выпечки, – аромат масла [33, 34].

Особенности метаболизма микроорганизмов, в том числе способность утилизировать мальтозу и образовывать экзополисахариды из сахарозы, а также использование акцепторов электронов гетероферментативными молочнокислыми бактериями и кислотоустойчивость, опосредованная конверсией аргинина и глутамина, не только определяют конкурентоспособность видов при брожении закваски, но и формируют качество хлеба. Таким образом, исследование сообществ микроорганизмов представляет собой ценный инструмент для понимания влияния технологических режимов ведения закваски на ее микробиом и на качество хлеба [85].

Биологические эффекты, возникающие в организме человека при употреблении хлеба, приготовленного на заквасках. Сравнение хлебобулочных изделий, приготовленных с использованием хлебопекарных дрожжей и на закваске, свидетельствует о том, что хлеб на закваске лучше усваивается организмом человека и характеризуется более высокой биодоступностью минеральных веществ, поскольку в процессе брожения закваски происходит деградация отдельных компонентов, в частности белков и фитатов [30, 42].

Из закваски спонтанного брожения, выведенной на муке псевдозлаков (киноа и амаранта), выделен штамм молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* CRL1964 (в современной классификации *L. plantarum*), содержащий высокоактивную фитазу [91].

Использование закваски или дополнительное введение в рецептуру растворимых пищевых волокон перспективно для снижения усвояемости крахмала хлеба и значений гликемического индекса и инсулинового индекса (хотя эти эффекты обусловлены разными механизмами). Ферментация с помощью заквасочных культур в технологии цельнозернового хлеба, в том числе ржаного, позволяет улучшить технологическую функциональность клетчатки отрубей [42].

Микробный метаболизм в процессе ферментации закваски может способствовать синтезу, высвобождению и/или повышению биодоступности ряда функциональных соединений, таких как витамины, фитохимические вещества, пребиотические экзополисахариды и биоактивные пептиды [30, 42]. Например, антиоксидантные пептиды (в том числе луназин) высвобождаются из белков злаков при ферментации закваски. Эти пептиды обладают профилактической активностью в отношении окислительного стресса, связанного с дегенеративными заболеваниями старения (например, раком и атеросклерозом) [42].

В работе О. А. Adebo с соавторами на примере закваски из кукурузной муки показано, что в процессе ее ферментации происходят изменения фенольных соединений: флавоноидов (апигенина, кемпферола, лютеолина, кверцетина и таксифолина) и фенольных кислот (кофеиновой, галловой, феруловой, р-кумаровой, синапиновой и ванилиновой) [66]. Наблюдалось снижение содержания флавоноидов при увеличении фенольных кислот. Полученные сведения могут быть использованы для определения рациональной продолжительности ферментации закваски из кукурузной муки, поскольку обе группы изученных веществ обладают выраженными биологически активными свойствами и пользой для здоровья человека. Необходимо дальнейшее изучение образующихся метаболитов и их биологической активности.

М. S. Chiş и др. показали, что в безглютеновых маффинах, приготовленных с использованием 15 % рисовой закваски, которая содержит молочнокислые бактерии *L. spicheri* DSM 15429, возрастает общее количество фенолов на 70,53 % [92]. Авторами было отмечено повышение содержания аминокислот и биодоступности минеральных веществ, а также увеличение антиоксидантной активности на 73,70 %.

V. Galli с соавторами установили, что антиоксидантная активность, которую проявляют закваска и хлеб, зависит не только от микрофлоры, осуществляющей биохимические превращения, но и от состава субстрата: у образцов из ячменной муки она выше, чем у пшеничных [29]. Отмечено, что в заквасках, выведенных на мучных средах из пшеницы сортов Skorpion и Aubusson, содержались молочнокислые бактерии *Lactobacillus farciminis* Fi17, *L. plantarum* Fi27 и *L. plantarum* Fi58. Однако в первом случае (сорт пшеницы Skorpion) в заквасках содержались вещества, проявляющие антиоксидантную активность, а во втором случае (сорт пшеницы Aubusson) – антиоксидантная активность отсутствовала. Также отмечено, что штамм *Lactobacillus rossiae* Fi19 проявлял высокую антиоксидантную активность только в сочетании с ячменной мукой.

Применение заквасок может стать одним из способов решения задачи по сокращению уровня сахара в сдобных булочных изделиях из-за способности отдельных видов микроорганизмов синтезировать полиолы, повышающие сладость (например, маннит, ксилит, эритрит), и экзополисахариды, компенсирующие ухудшение структуры мякиша и его текстуры (ведь сахар имеет важное технологическое значение). Молочнокислые бактерии *F. sanfranciscensis*, *L. mesenteroides* и *L. citreum* продуцируют маннит, *Oenococcus oeni* (ранее назывался *Leuconostoc oenos*) – эритрит, дрожжи *K. humilis* (ранее назывались *Candida milleri*) – ксилит при наличии ксилозы в среде [93].

Приготовление хлеба на заквасках может представлять интерес для людей, которым по разным причинам неприемлем хлеб с глютеном. По данным Т. Hejranі и др., белки клейковины трансформируются при использовании заквасок, становясь практически безопасными для людей с ее переносимостью [94]. Это подтверждают и модельные опыты, осуществленные R. Di Cagno с соавторами с помощью молочнокислых бактерий *F. sanfranciscensis* (*Lactobacillus sanfranciscensis* LS40 и LS41) и *L. plantarum* (*L. plantarum* CF1) [95]. Отмечено увеличение доступности Ca^{2+} , Zn^{2+} и Mg^{2+} благодаря высокой активности фитазы заквасочных культур.

В исследовании Е. Çakır и др. при анализе закваски спонтанного брожения из муки голозерного ячменя выявлены 9 видов молочнокислых бакте-

рий (*Pediococcus* (доминантный вид), *L. curvatus*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus musae*, *Lactobacillus paralimentarius*, *L. mesenteroides* и *Lactobacillus equigenerosi*), среди которых высокую фитазную активность проявляли бактерии *L. plantarum*, *P. pentosaceus* и *L. mesenteroides* [64].

В тесте присутствуют вещества, из которых на этапе выпечки образуется акриламид: редуцирующие сахара и аспарагин. Протеолиз и подкисление теста, приготовленного на заквасках, может прямо и косвенно влиять как на сахарный, так и на аминокислотный состав, а низкие значения pH и высокие значения общей титруемой кислотности в тесте препятствуют образованию акриламида [96]. Е. Bartkiene с соавторами установили, что при использовании пшеничной закваски, содержащей в своем составе молочнокислые бактерии *P. pentosaceus* и *L. mesenteroides*, в хлебе снижается содержание акриламида на 29,5 %, а при использовании закваски, содержащей *P. pentosaceus* и *Latilactobacillus curvatus*, – на 67,2 % [97].

Н. Demirkesen-Bicak исследовал гликемический индекс и усвояемость крахмала *in vitro* хлеба, приготовленного на заквасках, в том числе спонтанного брожения. Содержание резистентного крахмала зависит от температуры, при которой осуществляется ведение закваски: при 25 °С его количество больше, чем при 30 °С. Гликемический индекс хлеба из сортовой пшеничной муки находился в диапазоне 60,8–78,9 [98].

С помощью жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии V. Koistinen с соавторами исследовали метаболический профиль цельнозернового хлеба из пшеницы и ржи на закваске, содержащей *K. humilis*, *L. brevis* и *L. plantarum*. Отмечено повышенное количество аминокислот с разветвленной цепью и потенциально биологически активных малых пептидов в ржаном хлебе. Это может способствовать проявлению профилактических свойств в отношении сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета 2 типа [99].

Выводы

Провели анализ и систематизацию исследований отечественных и зарубежных ученых в отношении факторов, влияющих на микробиом хлебопекарных заквасок, в частности спонтанного брожения. Показали взаимосвязь между сырьем, используемым

на стадии выведения заквасок спонтанного брожения, и показателями качества заквасок.

Использование заквасок спонтанного брожения наиболее характерно для пекарен, специализирующихся на выпуске ремесленной продукции.

Все большую актуальность приобретают исследования, связанные с изучением трансформации биологически активных соединений в процессе ферментации закваски. Это связано с поиском и расширением набора эффективных инструментов для разработки хлебобулочной продукции, обладающей специфическими питательными свойствами (пониженный гликемический индекс, повышенное количество биологически доступных питательных веществ, пониженное содержание акриламида и сниженная аллергенность gliadina).

Большой научный и практический интерес представляют выделение, идентификация и характеристика микроорганизмов, входящих в микробиом заквасок спонтанного брожения, для поиска специфических штаммов, которые позволяют разрабатывать на их основе закваски, предназначенные для различных узконаправленных целей.

Критерии авторства

И. М. Жаркова – обзор литературных источников по исследуемой проблеме, написание рукописи и ее корректировка до подачи в редакцию. Ю. Ф. Росляков – корректировка рукописи до подачи в редакцию. Д. С. Иванчиков – обзор литературных источников по исследуемой проблеме, написание рукописи и ее корректировка до подачи в редакцию. Все авторы несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

I.M. Zharkova reviewed the literature, wrote and proofread the manuscript. Yu.F. Roslyakov edited the manuscript. D.S. Ivanchikov reviewed the literature, wrote and proofread the manuscript. All the authors are responsible for any potential plagiarism

Conflict of interest

The authors declare that there is not conflict of interests.

References/Список литературы

1. Sanina TV, Mikhajlov IA, Veremeenko VN, Shul'zhenko SA. Grain bread production method. Russia patent RU 2170020C1. 2001. [Способ производства зернового хлеба: пат. 2170020C1 Рос. Федерация. № 99123946/13 / Санина Т. В. [и др.]; заявл. 15.11.1999; опубл. 10.07.2001; Бюл. № 19. 5 с.].
2. Nemirov VV. Gluten-free bread manufacturing method and composition. Russia patent RU 2715592C1. 2020. [Способ и состав для изготовления безглютенового хлеба: пат. 2715592C1 Рос. Федерация. № 2019116696 / Немиров В. В.; заявл. 30.05.2019; опубл. 02.03.2020; Бюл. № 7. 7 с.].

3. Soda bread [Internet]. [cited 2022 Dec 16]. Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Soda_bread
4. Magomedov GO, Ryzhenin PYu, Taratukhin AS, Shakhov SV. Method for production of aerated non-yeasted bread of whole-milled wheat grains. Russia patent RU 2569832C1. 2015. [Способ производства сбивного бездрожжевого хлеба из муки цельносмолотого зерна пшеницы: пат. 2569832C1 Рос. Федерация. № 2014141186/13 / Магомедов Г. О. [и др.]; заявл. 13.10.2014; опубл. 27.11.2015; Бюл. № 33. 13 с.].
5. Magamedov GO, Zatsepilina NP, Malyutina TN, Dzantieva EEh, Lygin VV. Mechanical aeration of functional bread. Relevant Issues of Improving Technology of Agricultural Production and Processing. 2017;(19):118–120. (In Russ.). [Механический способ разрыхления технологии сбивного хлеба для здорового питания / Г. О. Магомедов [и др.] // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. 2017. № 19. С. 118–120.]. <https://www.elibrary.ru/ZVKKLH>
6. Magomedov GO, Khvostov AA, Zhuravlev AA, Magomedov MG, Taratukhin AS, Plotnikova IV. Formation of whipped yeast-free bread crumb with intensive microwave convective baking. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):426–438. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2375>
7. Vaulina GA, Evseev NV. Whipped quick bread. Russia patent RU 2683545C1. 2019. [Сбивной бездрожжевой хлеб: пат. 2683545C1 Рос. Федерация. № 2018111933 / Ваулина Г. А., Евсеев Н. В.; заявл. 03.04.2018; опубл. 28.03.2019; Бюл. № 10. 6 с.].
8. Afanas'eva OV. Microbiology of bakery production. St. Petersburg: Beresta; 2003. 220 p. (In Russ.). [Афанасьева О. В. Микробиология хлебопекарного производства. СПб.: Береста, 2003. 220 с.].
9. Lahue C, Madden AA, Dunn RR, Heil CS. History and domestication of *Saccharomyces cerevisiae* in bread baking. Frontiers in Genetics. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.584718>
10. Meledina TV, Davydenko SG, Golovinskaia OV, Shestopalova IA, Morozov AA. New yeast strain in baking industry. Food Processing: Techniques and Technology. 2018;48(4):59–65. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-59-65>
11. Gänzle MG. BREAD | Sourdough bread. In: Batt CA, Tortorello ML, editors. Encyclopedia of food microbiology. Academic Press; 2014. pp. 309–315. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00045-8>
12. Winters M, Panayotides D, Bayrak M, Rémont G, Viejo CG, Liu D, et al. Defined co-cultures of yeast and bacteria modify the aroma, crumb and sensory properties of bread. Journal of Applied Microbiology. 2019;127(3):778–793. <https://doi.org/10.1111/jam.14349>
13. Garcia-Hernandez A, Roldan-Cruz C, Vernon-Carter EJ, Alvarez-Ramirez J. Effects of leavening agent and time on bread texture and in vitro starch digestibility. Journal of Food Science and Technology. 2022;59(5):1922–1930. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05206-1>
14. Zharkova IM, Safonova YuA. Substantiation of rational dosage of “Evitalia” sourdough culture for gluten-free bread from amaranth flour. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2021;83(3):174–181. (In Russ.). [И. М. Жаркова, Сафонова Ю. А. Обоснование рациональной дозировки закваски «Эвиталия» для безглютенового хлеба из амарантовой муки // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2021. Т. 83. № 3. С. 174–181.]. <https://www.elibrary.ru/ALWMLK>
15. Zharkova IM, Kuchmenko TA, Proskurina MA, Roslyakov YuF, Sotnikova VV. Research of a smell of the bread from mix of rye and wheat flour made on different ferments and acidifiers. Bread Products. 2015;(8):47–49. (In Russ.). [Исследование запаха хлеба из смеси ржаной и пшеничной муки, приготовленного на разных заквасках и подкислителе / И. М. Жаркова [и др.] // Хлебопродукты. 2015. № 8. С. 47–49.]. <https://www.elibrary.ru/UANITP>
16. Amann LS, Frank O, Dawid C, Hofmann TF. The sensory-directed elucidation of the key tastants and odorants in sourdough bread crumb. Foods. 2022;11(15). <https://doi.org/10.3390/foods11152325>
17. Savkina OA, Kuznetsova LI, Pavlovskaya EN, Lokachuk MN, Parakhina OI. Starter compositions for the preparation of different types of starter cultures. Baking in Russia. 2021;(6):41–44. (In Russ.). <https://doi.org/10.37443/2073-3569-2021-1-6-41-44>
18. Vershinina OI, Roslyakov YuF, Gonchar VV, Ilchishina NV. New technology for preparing acidophilic stered with improved biotechnological properties. The Journal of Almaty Technological University. 2021;(1):5–11. (In Russ.). <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2021-1-5-11>
19. Nevskaya EV, Borodulin DM, Potekha VL, Nevskiy AA, Lobasenko BA, Shulbaeva MT. Development of integrated technology and assortment of long-life rye-wheat bakery products. Foods and Raw Materials. 2018;6(1):99–109. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-1-99-109>
20. Gur'ev SS, Popov VS. Properties of starter cultures based on non-traditional flours. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(3):470–479. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-470-479>
21. Xu D, Zhang Y, Tang K, Hu Y, Xu X, Gänzle MG. Effect of mixed cultures of yeast and lactobacilli on the quality of wheat sourdough bread. Frontiers in Microbiology. 2019;10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02113>
22. Tamang JP, Cotter PD, Endo A, Han NS, Kort R, Liu SQ, et al. Fermented foods in a global age: East meets West. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2020;19(1):184–217. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12520>

23. Katsi P, Kosma IS, Michailidou S, Argiriou A, Badeka AV, Kontominas MG. Characterization of artisanal spontaneous sourdough wheat bread from Central Greece: Evaluation of physico-chemical, microbiological and sensory properties in relation to conventional yeast leavened wheat bread. *Foods*. 2021;10(3). <https://doi.org/10.3390/foods10030635>
24. Jin J, Nguyen TTH, Humayun S, Park SH, Oh H, Lim S, *et al.* Characteristics of sourdough bread fermented with *Pediococcus pentosaceus* and *Saccharomyces cerevisiae* and its bio-preservative effect against *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*. 2021;345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128787>
25. Bolarinwa IF, Hanis-Syazwani MG, Muhammad K. Optimisation of important processing conditions for rice bran sourdough fermentation using *Lactobacillus plantarum*. *Foods and Raw Materials*. 2019;7(1):131–142. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-1-131-142>
26. Škrobot D, Dapčević-Hadnađev T, Tomić J, Maravić N, Popović N, Jovanov P, *et al.* Techno-functional performance of emmer, spelt and khorasan in spontaneously fermented sourdough bread. *Foods*. 2022;11(23). <https://doi.org/10.3390/foods11233927>
27. Kwon J-G, Park S-H, Kwak J-E, Cho JH, Kim G, Lee D, *et al.* Mouse feeding study and microbiome analysis of sourdough bread for evaluation of its health effects. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.989421>
28. Gobetti M, de Angelis M, di Cagno R, Calasso M, Archetti G, Rizzello CG. Novel insights on the functional/nutritional features of the sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 2019;302:103–113. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.018>
29. Galli V, Venturi M, Guerrini S, Blandino M, Luti S, Pazzagli L, *et al.* Antioxidant properties of sourdoughs made with whole grain flours of hull-less barley or conventional and pigmented wheat and by selected lactobacilli strains. *Foods*. 2020;9(5). <https://doi.org/10.3390/foods9050640>
30. Milanović V, Osimani A, Garofalo C, Belleggia L, Maoloni A, Cardinali F, *et al.* Selection of cereal-sourced lactic acid bacteria as candidate starters for the baking industry. *PLoS ONE*. 2020;15(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236190>
31. Carbó R, Gordún E, Fernández A, Ginovart M. Elaboration of a spontaneous gluten-free sourdough with a mixture of amaranth, buckwheat, and quinoa flours analyzing microbial load, acidity, and pH. *Food Science and Technology International*. 2020;26(4):344–352. <https://doi.org/10.1177/1082013219895357>
32. Collection of pure cultures [Internet]. [cited 2022 Dec 16]. Available from: <https://gosniihp.ru/produktsiya-i-uslugi/muzey-chistykh-kultur-promyshlennno-tsennykh-mikroorganizmov>
33. de Vuyst L, van Kerrebroeck S, Leroy F. Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation. *Advances in Applied Microbiology*. 2017;100:49–160. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2017.02.003>
34. de Vuyst L, Comasio A, van Kerrebroeck S. Sourdough production: fermentation strategies, microbial ecology, and use of non-flour ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023;63(15):2447–2479. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1976100>
35. Khlestkin VK, Lockachuk MN, Savkina OA, Kuznetsova LI, Pavlovskaya EN, Parakhina OI. Taxonomic structure of bacterial communities in sourdoughs of spontaneous fermentation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(4):385–393. (In Russ.). <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-47>
36. Consumption of mass bread varieties in the Russian Federation declines as demand for high-margin products grows [Internet]. [cited 2022 Dec 27]. Available from: <https://finmarket.ru/turbopages.org/finmarket.ru/h/news/5477867>
37. Zharkova IM, Proskurina MA, Roslyakov YuF. About the role of ferments and acidifiers in discrete method of production of bread from a mixture of rye and wheat flour. *Bread Products*. 2015;(6):54–56. (In Russ.). [Жаркова И. М., Проскурина М. А., Росляков Ю. Ф. О роли заквасок и подкислителей при дискретном способе производства хлеба из смеси ржаной и пшеничной муки // Хлебопродукты. 2015. № 6. С. 54–56.]. <https://www.elibrary.ru/TWTESH>
38. Shmalko NA, Roslyakov YuF, Smirnov SO. Method for production of molded rye-wheat bread with amaranth improver. Russia patent RU 2699976C2. 2019. [Способ производства формового ржано-пшеничного хлеба с амарантовым улучшителем: пат. 2699976C2 Рос. Федерация. № 2018100790 / Шмалько Н. А., Росляков Ю. Ф., Смирнов С. О.; заявл. 10.01.2018; опубл. 11.09.2019; Бюл. № 19. 13 с.].
39. Legkov IS, Kusova IU, Dubtsov GG. Method for manufacture of dry biological rye starter for bread baking. Russia patent RU 2492653C1. 2013. [Способ изготовления сухой ржаной биологической закваски для хлебопечения: пат. 2492653C1 Рос. Федерация. № 2012110938/13 / Легков И. С., Кусова И. У., Дубцов Г. Г.; заявл. 22.03.2012; опубл. 20.09.2013; Бюл. № 26. 7 с.].
40. Afanas'eva OV, Kuznetsova LI, Pavlovskaya EN, Savkina OA. Biological bread sourdough as a way to increase the competitiveness of rye flour bakery products. *Baking in Russia*. 2009;(6):18–19. (In Russ.). [Биологическая хлебная закваска – путь к повышению конкурентоспособности хлебобулочных изделий с использованием ржаной муки / О. В. Афанасьева [и др.] // Хлебопечение России. 2009. № 6. С. 18–19.]. <https://www.elibrary.ru/KWYSUF>
41. Boreczek J, Litwinek D, Żylińska-Urban J, Izak D, Buksa K, Gawor J, *et al.* Bacterial community dynamics in spontaneous sourdoughs made from wheat, spelt, and rye wholemeal flour. *MicrobiologyOpen*. 2020;9(4). <https://doi.org/10.1002/mbo3.1009>

42. Galle S. Sourdough: A tool to improve bread structure. In: Gobbetti M, Gänzle M, editors. Handbook on sourdough biotechnology. New York: Springer; 2013. pp. 217–228. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5425-0_8
43. Gänzle MG, Zheng J. Lifestyles of sourdough lactobacilli – Do they matter for microbial ecology and bread quality? International Journal of Food Microbiology. 2019;302:15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.019>
44. National Library of Medicine. The National Center for Biotechnology Information [Internet]. [cited 2022 Dec 16]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
45. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, Mattarelli P, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2020;70(4):2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
46. 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.). [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.] <https://www.elibrary.ru/WCLBNZ>
47. Ercolini D, Pontonio E, de Filippis F, Minervini F, La Stora A, Gobbetti M, et al. Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. Applied and Environmental Microbiology. 2013;79(24):7827–7836. <https://doi.org/10.1128/AEM.02955-13>
48. Lokachuk MN, Vereshchagina EN, Savkina OA, Khlestkin VK. Research of microflora of spontaneous starter cultures for baking production from geographically remote places of the north-west region of Russia. Baking in Russia. 2019;(3):32–35. (In Russ.). [Исследование микрофлоры спонтанных заквасок для хлебопекарного производства из географически отдаленных мест северо-западного региона России / М. Н. Локачук [и др.] // Хлебопечение России. 2019. № 3. С. 32–35.] <https://www.elibrary.ru/XZNHRH>
49. van Kerrebroeck S, Maes D, de Vuyst L. Sourdoughs as a function of their species diversity and process conditions, a meta-analysis. Trends in Food Science and Technology. 2017;68:152–159. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.016>
50. Comasio A, Verce M, van Kerrebroeck S, de Vuyst L. Diverse microbial composition of sourdoughs from different origins. Frontiers in Microbiology. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01212>
51. Oshiro M, Zendo T, Nakayama J. Diversity and dynamics of sourdough lactic acid bacteria created by a slow food fermentation system. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2021;131(4):333–340. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.11.007>
52. Jonkuvienė D, Vaičiulytė-Funk L, Šalomskienė J, Alenčikienė G, Miežilienė A. Potential of *Lactobacillus reuteri* from spontaneous sourdough as a starter additive for improving quality parameters of bread. Food Technology and Biotechnology. 2016;54(3):342–350. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.03.16.4143>
53. Yakupova II, Koshchina EI, Gareeva IT. Development of a recipe for sourdough loaves of spontaneous fermentation. Food Technologies of the Future: Innovations in Agricultural Production and Processing: Proceeding of the II International Scientific and Practical Conference, International Research and Practical Forum dedicated to the Day of Bread and Salt; 2021; Saratov. Saratov: Center of social agroinnovations of SSAU; 2021. p. 480–486. (In Russ.). [Якупова И. И., Кошина Е. И., Гареева И. Т. Разработка рецептуры хлебцев на закваске спонтанного брожения // Пищевые технологии будущего: инновации в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции: Сборник статей II Международной научно-практической конференции в рамках международного научно-практического форума, посвященного Дню Хлеба и соли. Саратов, 2021. С. 480–486.] <https://www.elibrary.ru/RKNUFY>
54. Minervini F, de Angelis M, Di Cagno R, Gobbetti M. Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. International Journal of Food Microbiology. 2014;171:136–146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.021>
55. Syrokou MK, Themeli C, Paramithiotis S, Mataragas M, Bosnea L, Argyri AA, et al. Microbial ecology of Greek wheat sourdoughs, identified by a culture-dependent and a culture-independent approach. Foods. 2020;9(11). <https://doi.org/10.3390/foods9111603>
56. Bessmeltseva M, Viard E, Simm J, Paalme T, Sarand I. Evolution of bacterial consortia in spontaneously started rye sourdoughs during two months of daily propagation. PLoS ONE. 2014;9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095449>
57. Weckx S, van der Meulen R, Maes D, Scheirlinck I, Huys G, Vandamme P, et al. Lactic acid bacteria community dynamics and metabolite production of rye sourdough fermentations share characteristics of wheat and spelt sourdough fermentations. Food Microbiology. 2010;27(8):1000–1008. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.06.005>
58. Fujimoto A, Ito K, Ito M, Narushima N, Ito T, Yamamoto A, et al. Microbial behavior and changes in food constituents during fermentation of Japanese sourdoughs with different rye and wheat starting materials. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2018;125(1):97–104. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2017.08.009>
59. Landis EA, Oliverio AM, McKenney EA, Nichols LM, Kfoury N, Biango-Daniels M, et al. The diversity and function of sourdough starter microbiomes. eLife. 2021;10. <https://doi.org/10.7554/eLife.61644>

60. Molchanova EN, Rakhmonov KS, Isabaev IB, Ibragimov UM. Optimization of the recipe composition of wheat bread with the use spontaneous sourdough fermentation. *Baking in Russia*. 2018;(3):29–32. (In Russ.). [Оптимизация рецептурного состава пшеничных сортов хлеба с использованием заквасок спонтанного брожения / Е. Н. Молчанова [и др.] // Хлебопечение России. 2018. № 3. С. 29–32.]. <https://www.elibrary.ru/YTYJQT>
61. Karimi N, Zeynali F, Rezazad Bari M, Nikoo M, Mohtarami F, Kadivar M. Amaranth selective hydrolyzed protein influence on sourdough fermentation and wheat bread quality. *Food Science and Nutrition*. 2021;9(12):6683–6691. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2618>
62. Boytsova TM, Nazarova OM. Technology of production of rye-wheat bread on the basis of enriched starter. *Baking in Russia*. 2017;(3):16–19. (In Russ.). [Бойцова Т. М., Назарова О. М. Технология производства ржано-пшеничного хлеба на основе обогащенной закваски // Хлебопечение России. 2017. № 3. С. 16–19.]. <https://www.elibrary.ru/YZMIRD>
63. Reidzane S, Gramatina I, Galoburda R, Komasilovs V, Zacepins A, Bljahhina A, *et al.* Composition of polysaccharides in hull-less barley sourdough bread and their impact on physical properties of bread. *Foods*. 2023;12(1). <https://doi.org/10.3390/foods12010155>
64. Çakır E, Arıcı M, Durak MZ. Biodiversity and techno-functional properties of lactic acid bacteria in fermented hull-less barley sourdough. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2020;130(5):450–456. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.05.002>
65. Sereti V, Lazaridou A, Biliaderis CG, Valamoti SM. Reinvigorating modern breadmaking based on ancient practices and plant ingredients, with implementation of a physicochemical approach. *Foods*. 2021;10(4). <https://doi.org/10.3390/foods10040789>
66. Adebo OA, Oyedeji AB, Adebisi JA, Chinma CE, Oyeyinka SA, Olatunde OO, *et al.* Kinetics of phenolic compounds modification during maize flour fermentation. *Molecules*. 2021;26(21). <https://doi.org/10.3390/molecules26216702>
67. Moroni AV, Arendt EK, Morrissey JP, Dal Bello F. Development of buckwheat and teff sourdoughs with the use of commercial starters. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;142(1–2):142–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.014>
68. Vogelmann SA, Seitter M, Singer U, Brandt MJ, Hertel C. Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters. *International Journal of Food Microbiology*. 2009;130(3):205–212. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.020>
69. Sterr Y, Weiss A, Schmidt H. Evaluation of lactic acid bacteria for sourdough fermentation of amaranth. *International Journal of Food Microbiology*. 2009;136(1):75–82. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.006>
70. Edema MO, Sanni AI. Functional properties of selected starter cultures for sour maize bread. *Food Microbiology*. 2008;25(4):616–625. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.12.006>
71. Meroth CB, Hammes WP, Hertel C. Characterisation of the microbiota of rice sourdoughs and description of *Lactobacillus spicheri* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*. 2004;27(2):151–159. <https://doi.org/10.1078/072320204322881763>
72. Moroni AV, Dal Bello F, Arendt EK. Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*. 2009;26(7):676–684. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.001>
73. Mohd Roby BH, Muhialdin BJ, Abadl MMT, Mat Nor NA, Marzlan AA, Lim SAH, *et al.* Physical properties, storage stability, and consumer acceptability for sourdough bread produced using encapsulated kombucha sourdough starter culture. *Journal of Food Science*. 2020;85(8):2286–2295. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15302>
74. Zakharova AS, Kozubaeva LA, Kolesnichenko MN, Pokryshkina EA. Preparation of sourdough rye with honeysuckle nectar. *Bread Products*. 2014;(10):48–49. (In Russ.). [Приготовление ржаных заквасок с соком жимолости / А. С. Захарова [и др.] // Хлебопродукты. 2014. № 10. С. 48–49.]. <https://www.elibrary.ru/SOCMOT>
75. Ladnova OL, Skorobogatov BB, Zubov MA, Ashikhina MP. Development of the technology of bakery products from wheat flour in the fruit ferments. *Health-saving Technologies at the University: State and Prospects: Proceedings of the All-Russian Research and Practical Conference*; 2018; Orel. Orel: Orel State University of Economics and Trade; 2018. p. 130–135. (In Russ.). [Разработка технологии хлебобулочных изделий из пшеничной муки на фруктовых заквасках / О. Л. Ладнова [и др.] // Здоровьесберегающие технологии в вузе: состояние и перспективы: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Орел, 2018. С. 130–135.]. <https://www.elibrary.ru/XWVEZN>
76. Matseychik IV, Korpacheva SM, Suvorova EA. The use of natural starters in the production of functional purpose bakery products enriched with calcium, cellulose, protein and β -carotin. *Bulletin of KSAU*. 2020;154(1):116–125. (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-1-116-125>
77. Chaplygina IA, Batura NG, Matyushev VV, Tipsina NN, Shmeleva ZhN. The hop sourdough use to improve bread microbiological safety. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020;421. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/421/3/032030>
78. Nionelli L, Pontonio E, Gobbetti M, Rizzello CG. Use of hop extract as antifungal ingredient for bread making and selection of autochthonous resistant starters for sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 2018;266:173–182. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.002>

79. Ivanova EP. Development of the production line hop-pumpkin leaven. *Innovative Machinery and Technology*. 2015;4(3):17–22. (In Russ.). [Иванова Е. П. Разработка линии производства хмеле-тыквенной закваски // Инновационная техника и технология. 2015. Т. 4. № 3. С. 17–22.]. <https://www.elibrary.ru/UXSGON>
80. Ivanova EP, Rodionov YuV, Kapustin VP. Selection and substantiation of biotechnological system for production of pumpkin-hop ferment. *Almanac of Modern Science and Education*. 2015;95(5):62–66. (In Russ.). [Иванова Е. П., Родионов Ю. В., Капустин В. П. Выбор и обоснование биотехнологической системы для производства хмелево-тыквенной закваски // Альманах современной науки и образования. 2015. Т. 95. № 5. С. 62–66.]. <https://www.elibrary.ru/TPFUEL>
81. Bochkareva ZA, Pchelinceva ON. Bakery products on rye sourdough with bird-cherry flour. *XXI Century: Resumes of the Past and Challenges of the Present Plus*. 2021;10(1):104–107. (In Russ.). [Бочкарева З. А., Пчелинцева О. Н. Хлебобулочные изделия на ржаной закваске с черемуховой мукой // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. 2021. Т. 10. № 1. С. 104–107.]. <https://www.elibrary.ru/PEJTEQ>
82. Dorosh AP, Gregirchak NN. Antagonistic properties of dough sour with directed cultivation and evaluation of microbiological characteristics of bread produced on its basis. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2015;37(2):10–15. (In Russ.). [Дорош А. П., Грегирчак Н. Н. Исследование антагонистических свойств закваски с направленным культивированием и оценка микробиологических показателей хлеба на ее основе // Техника и технология пищевых производств. 2015. Т. 37. № 2. С. 10–15.]. <https://www.elibrary.ru/UCQNEJ>
83. Ripari V, Gänzle MG, Berardi E. Evolution of sourdough microbiota in spontaneous sourdoughs started with different plant materials. *International Journal of Food Microbiology*. 2016;232:35–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.025>
84. Paramithiotis S, Müller MRA, Ehrmann MA, Tsakalidou E, Seiler H, Vogel R, et al. Polyphasic identification of wild yeast strains isolated from Greek sourdoughs. *Systematic and Applied Microbiology*. 2000;23(1):156–164. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(00\)80057-0](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(00)80057-0)
85. Gänzle M, Ripari V. Composition and function of sourdough microbiota: From ecological theory to bread quality. *International Journal of Food Microbiology*. 2016;239:19–25. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.004>
86. Gänzle MG. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiology*. 2014;37:2–10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.007>
87. Pico J, Bernal J, Gómez M. Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Research International*. 2015;75:200–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.051>
88. Zhao CJ, Schieber A, Gänzle MG. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations – A review. *Food Research International*. 2016;89:39–47. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.042>
89. Boudaoud S, Aouf C, Devillers H, Sicard D, Segond D. Sourdough yeast-bacteria interactions can change ferulic acid metabolism during fermentation. *Food Microbiology*. 2021;98. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103790>
90. Chiş MS, Păucean A, Man SM, Mureşan V, Socaci SA, Pop A, et al. Textural and sensory features changes of gluten free muffins based on rice sourdough fermented with *Lactobacillus spicheri* DSM 15429. *Foods*. 2020;9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030363>
91. Sandez Penidez SH, Velasco Manini MA, Gerez CL, Rollán GC. Partial characterization and purification of phytase from *Lactobacillus plantarum* CRL1964 isolated from pseudocereals. *Journal of Basic Microbiology*. 2020;60(9):787–798. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000236>
92. Chiş MS, Păucean A, Man SM, Bonta V, Pop A, Stan L, et al. Effect of rice flour fermentation with *Lactobacillus spicheri* DSM 15429 on the nutritional features of gluten-free muffins. *Foods*. 2020;9(6). <https://doi.org/10.3390/foods9060822>
93. Sahin AW, Zannini E, Coffey A, Arendt EK. Sugar reduction in bakery products: Current strategies and sourdough technology as a potential novel approach. *Food Research International*. 2019;126. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108583>
94. Hejrani T, Sheikholeslami Z, Ali Mortazavi S, Karimi M, Elhamirad AH. The evaluation of part-baked frozen bread produced from wheat flour and guar gum in the diet of celiac patients. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;58(7):2507–2515. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04757-z>
95. Di Cagno R, Rizzello CG, de Angelis M, Cassone A, Giuliani G, Benedusi A, et al. Use of selected sourdough strains of *Lactobacillus* for removing gluten and enhancing the nutritional properties of gluten-free bread. *Journal of Food Protection*. 2008;71(7):1491–1495. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-71.7.1491>
96. Bartkiene E, Özogul F, Rocha JM. Bread sourdough lactic acid bacteria – technological, antimicrobial, toxin-degrading, immune system-, and faecal microbiota-modelling biological agents for the preparation of food, nutraceuticals and feed. *Foods*. 2022;11(3). <https://doi.org/10.3390/foods11030452>
97. Bartkiene E, Bartkevics V, Krungleviciute V, Pugajeva I, Zadeike D, Juodeikiene G. Lactic acid bacteria combinations for wheat sourdough preparation and their influence on wheat bread quality and acrylamide formation. *Journal of Food Science*. 2017;82(10):2371–2378. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13858>
98. Demirkesen-Bicak H, Arici M, Yaman M, Karasu S, Sagdic O. Effect of different fermentation condition on estimated glycemic index, in vitro starch digestibility, and textural and sensory properties of sourdough bread. *Foods*. 2021;10(3). <https://doi.org/10.3390/foods10030514>
99. Koistinen VM, Mattila O, Katina K, Poutanen K, Aura A-M, Hanhineva K. Metabolic profiling of sourdough fermented wheat and rye bread. *Scientific Reports*. 2018;8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24149-w>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2453>
<https://elibrary.ru/KRPGVC>

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

Value-Added Zobo Drink with Date Juice



Prince C. Ojileh¹, Queency N. Okechukwu^{1,2,*}

¹ Federal University of Technology , Owerri, Nigeria

² Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin , Yekaterinburg, Russia

Received: 07.02.2023
Revised: 27.02.2023
Accepted: 07.03.2023

*Queency N. Okechukwu: queencyokechukwu@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0002-8108-6787>

© P.C. Ojileh, Q.N. Okechukwu, 2023



Abstract.

Hibiscus sabdariffa L., also known as edible roselle, belongs to the *Malvaceae* family and is native to West Africa. In Nigeria, its dried petals are processed by boiling and filtration into a non-alcoholic beverage called Zobo. Commercial Zobo often includes artificial sweeteners that improve its taste. As a result, local food science needs new formulations with natural and health-beneficial sweeteners. The research objective was to produce a Zobo drink with different blends of date fruit juice as a natural sweetener, as well as evaluate its proximate, physicochemical, and sensory properties.

The control Zobo drink (Zcon) involved an artificial sweetener. The ratios of Zobo to date juice were 90:10 (ZD10), 80:20 (ZD20), 70:30 (ZD30), 60:40 (ZD40), and 50:50 (ZD50). The samples underwent proximate and physicochemical analyses, as well as a sensory assessment on a nine-point hedonic scale.

The physicochemical analysis showed that Sample ZD50 with the 50:50 ratio had the highest pH (3.5) and sugar content (9.5°Bx) while the control sample had the lowest pH (2.5) and sugar content (0.9°Bx), with all samples showing significant ($p \geq 0.05$) differences. The proximate analysis also showed a wide range of results ($p \geq 0.05$). The control sample demonstrated the highest moisture content (97.0%) whereas Sample ZD50 had the highest ash and lipid content of 0.8 and 4.8%, respectively. Sample ZD50 also had the highest protein (2.23%) and crude fiber content (2.49%). Sample ZD40 with the 60:40 ratio had the highest carbohydrate content. In terms of mouthfeel and taste ($p \geq 0.05$), the control sample demonstrated the highest scores while the lowest score belonged to Sample ZD10 with the lowest proportion of date juice. The best results for general acceptance belonged to the control, followed by ZD40 (60:40) and ZD50 (50:50).

Date juice proved to be an effective sweetener that improved the nutritional profile of Zobo. However, the sensory analysis showed that consumers preferred the control sample with the artificial sweetener.

Keywords. *Hibiscus sabdariffa*, roselle, drinks, sweetener, *Phoenix dactylifera*, phytochemicals, chemical composition, physicochemical analysis, sensory analysis, quality

For citation: Ojileh PC, Okechukwu QN. Value-Added Zobo Drink with Date Juice. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):545–553. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2453>

Пищевая ценность традиционного напитка «зобо» с финиковым соком



П. К. Ожилех¹, К. Н. Окечукву^{1,2,*}

¹ Федеральный технологический университет , Оверри, Нигерия

² Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина , Екатеринбург, Россия

Поступила в редакцию: 07.02.2023

Принята после рецензирования: 27.02.2023

Принята к публикации: 07.03.2023

*К. Н. Окечукву: queencyokechukwu@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0002-8108-6787>

© П. К. Ожилех, К. Н. Окечукву, 2023



Аннотация.

Розелла (*Hibiscus sabdariffa* L.) принадлежит к семейству мальвовых и произрастает в Западной Африке. В Нигерии ее высушенные лепестки путем кипячения и фильтрации перерабатывают в безалкогольный напиток «зобо». В состав «зобо» входят искусственные подсластители, которым требуется натуральная альтернатива. Цель исследования заключалась в изучении влияния финикового сока, используемого в качестве подсластителя, на физико-химические и органолептические свойства напитка «зобо».

В контрольный образец (Zcon) вносился искусственный подсластитель. В экспериментальных образцах соотношение «зобо» и финикового сока составляло 90:10 (ZD10), 80:20 (ZD20), 70:30 (ZD30), 60:40 (ZD40) и 50:50 (ZD50). Образцы были подвергнуты компонентному и физико-химическому анализу, а также органолептической оценке по девятибалльной гедонистической шкале.

Физико-химический анализ показал, что образец ZD50 с соотношением «зобо» и финикового сока 50:50 имел самые высокие значения pH (3,5) и содержания сахара (9,5°Bx), тогда как контрольный образец имел самые низкие значения – 2,5 и 0,9°Bx соответственно. Все образцы демонстрировали значимые различия ($p \geq 0,05$). Самое высокое содержание влаги было обнаружено в контрольном образце (97,0 %), золы (0,8 %) и липидов (4,8 %) – в образце ZD50. Образец ZD50 продемонстрировал самые высокие результаты по содержанию белка (2,23 %) и сырой клетчатки (2,49 %). Образец ZD40 с соотношением «зобо» и финикового сока 60:40 имел самое высокое содержание углеводов. Контрольный образец получил самые высокие баллы за вкус и комплексное ощущение во рту вкуса, запаха, фактуры и консистенции ($p \geq 0,05$). Самую низкую оценку получил образец ZD10 с наименьшей долей финикового сока. Наилучшие результаты получил контрольный образец, за которым следовали образцы ZD40 (60:40) и ZD50 (50:50).

Финиковый сок оказался эффективным подсластителем, который повысил питательные свойства традиционного напитка «зобо». Однако органолептический анализ показал, что потребители предпочли контрольный образец с искусственным подсластителем.

Ключевые слова. *Hibiscus sabdariffa*, розелла, напитки, подсластитель, *Phoenix dactylifera*, фитопрепараты, химический состав, физико-химический анализ, органолептическая оценка, качество

Для цитирования: Ожилех П. К., Окечукву К. Н. Пищевая ценность традиционного напитка «зобо» с финиковым соком // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 545–553. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2453>

Introduction

People have been using plants as food source throughout millennia. Numerous studies prove that fruits and vegetables prevent and/or treat chronic diseases, including cancer, diabetes, cardiovascular disease, and obesity [1–3]. Many common food items, including grains, roots, fruits, vegetables, and natural beverages are of plant origin [4, 5]. Natural juice and beverages are produced by pressing mature fruits or tapping soft fruits,

inflorescences, and stems to obtain sap. Plant-based foods and drinks are free of salt, sugar, and saturated fats, which helps to prevent some chronic health issues [6]. The market is currently flooded with soft drinks, which are mainly carbonated waters. In fact, alcohol drinks are responsible for only 0.5% of the total volume [6]. However, it is soft drinks that cause obesity, diabetes, and stroke. They contain phosphoric, malic, citric, and tartaric acids, which damage the surface of teeth and

result in a variety of dental issues as well as osteoporosis [6]. Naturally blended fruit juice or drinks can be a good alternative to carbonated soft drinks.

Hibiscus sabdariffa L., or edible roselle, belongs to the *Malvaceae* family. It is an annual tropical shrub with red or green inflated edible calyces. The shrub can be 0.5–0.3 m in height and has a powerful tap root [7]. This crop was first discovered in India and then introduced into other parts of the world, such as Central America, West Indies, and Africa [8]. The calyces are red, dark red, and green [8]. Roselle leaves, seeds, flowers, and roots are edible, but the red calyces are the most useful part of the plant [salami]. Roselle calyces are utilized in the production of many food products, including beverages, jams, and sauces. In Nigeria, it is mainly found in the northern regions, where dried petals are boiled and filtered to produce a beverage popularly called Zobo [9]. Roselle drink has gained global popularity as a refreshing medicinal drink. This drink has a characteristic taste. Sweeteners and spices give it a relish and appetite-promoting flavor. It contains a reasonable amount of natural carbohydrates, minerals, and essential vitamins and serves as a good source of vitamin C [10]. In this respect, Zobo is a promising substitute for soft drinks and fruit juice as it contains some of the major constituents of a typical soft drink or fruit juice and has gained popularity and acceptance across Nigeria and beyond [11]. Millions of people consume it daily, particularly young population, who treat it as a cheap and relaxing alternative non-alcoholic beverage in social gatherings [12]. However, the bland taste of Zobo is a challenge to drink producers, who started to add artificial sweeteners into its formulation. As natural foodstuffs are gaining more popularity, Zobo needs natural options to improve its taste, mouthfeel, and overall acceptability.

The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is the oldest fruit crop that can serve as a natural sweetener. It is rich in medicinal bioactive and functional substances, including polyphenols, flavonoids, carotenoids, phytosterols, phytoestrogens, vitamins, and minerals [4, 13]. The date palm belongs to the *Arecaceae* family and originates in Mesopotamia (now Iraq) [14]. It is considered one of the most ancient and basic staple foods in Southwest Asia and North Africa [4]. In Nigeria, it is mostly consumed in the northern parts of the country, where it is called *Dabino*. It is also known to have religious and cultural significance [15]. Dates contain a high amount of carbohydrates (total sugar: 44–88%) and dietary fiber, thereby making it a good source of vitamins and macro-nutrients, such as potassium, iron, magnesium, and calcium [16]. Dates contain more than 3000 calories per kilogram and 70% carbohydrates (mostly sugars). The date pulp consists of 60–65% sugar, 2.5% fiber, 2% protein, and $\leq 2\%$ fat, as well as minerals and protein substances [17]. Dates contain phytochemicals, e.g., carotenoids, phenolics, and

flavonoids. Dietary antioxidants prevent degenerative diseases, e.g., cardiovascular or neurological conditions, cancer, and gastric ulcers. Oxidative stress is one of the most prevalent factors in the etiology of chronic diseases [18].

Ready-to-serve drinks are refreshing beverages that can be consumed without dilution [19]. This type of fruit beverage contains at least 10% fruit juice and 10–15% total soluble solids, as well as a trace amount of acid [4, 19]. When heated in an open environment, fruit juices tend to lose flavor, vitamins, and color during processing. Boiling destroys all their nutrients. Different techniques could be used to concentrate fruit juices. The global market is in constant search for fruit juice concentrates that would retain the original color, flavor, and vitamins. Presumably, Zobo fortified with date fruit juice is free of all the disadvantages associated with artificial sweeteners while providing more vitamins and minerals

Study objects and methods

Materials. The local variety of matured dried red roselle calyces (Fig. 1), the date palm fruits, and the Jockey sweetener were purchased from the Eke-Onunwa market in Owerri, Imo State, Nigeria. The authentication and validation of the samples were performed by Mr. Felix Nwafor at the Department of Crop Science, Federal University of Technology, Owerri. The samples were then taken to the Department of Food Science and Technology, Federal University of Technology, Owerri, for further processing and use.

Producing the Zobo/date drink. The roselle calyces were sorted, washed, and weighed (300 g). They were boiled in 4 L of water for 10 min, allowed to cool, and filtered using a sterile muslin cloth. The dried dates were deseeded, weighed (850 g), and soaked in water (1800 mL) for 8 h. The slurry was then wet-milled, mixed with extra water (1200 mL), boiled for a few seconds, and filtered through muslin cloth. The date juice was obtained from the filtrate. The Zobo drink and the date fruit juice were blended in different ratios of 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, and 50:50 and labeled as samples



Figure 1. Roselle calyces

Рисунок 1. Чашечки розеллы



Figure 2. Zobo/date drink samples

Рисунок 2. Образцы напитка «зобо» с финиковым соком

ZD10, ZD20, ZD30, ZD40, and ZD50, respectively (Fig. 2). The control was prepared using Jockey artificial sweetener and labeled as Zcon. Figure 3 shows a flow-chart of the Zobo/date juice production process.

Analytical measurements. Proximate analysis. The samples underwent a chemical analysis to determine

their nutritional composition according to the standard methods described by the Association of Official Analytical Chemists [20].

Determining the moisture content. For the moisture content test, 10 g of each sample was measured into a crucible of particular weight, and the resulting weight was calculated. The crucible was put into a moisture extraction oven at 105°C for 3 h. The dried samples were cooled in desiccators and weighed. After re-drying, they were cooled and re-weighed. The process was repeated until a constant weight was obtained. The difference in weight before and after drying was recorded as moisture content, %.

$$\text{Moisture content} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100 \quad (1)$$

where W_1 is the initial weight of the empty crucible, g; W_2 is the weight of the crucible together with the undried sample, g; and W_3 is the weight of the crucible together with the dried sample, g.

Determining the ash content. To calculate the ash content, 10 g of each sample was weighed into a crucible and heated in a moisture extraction oven at 100°C

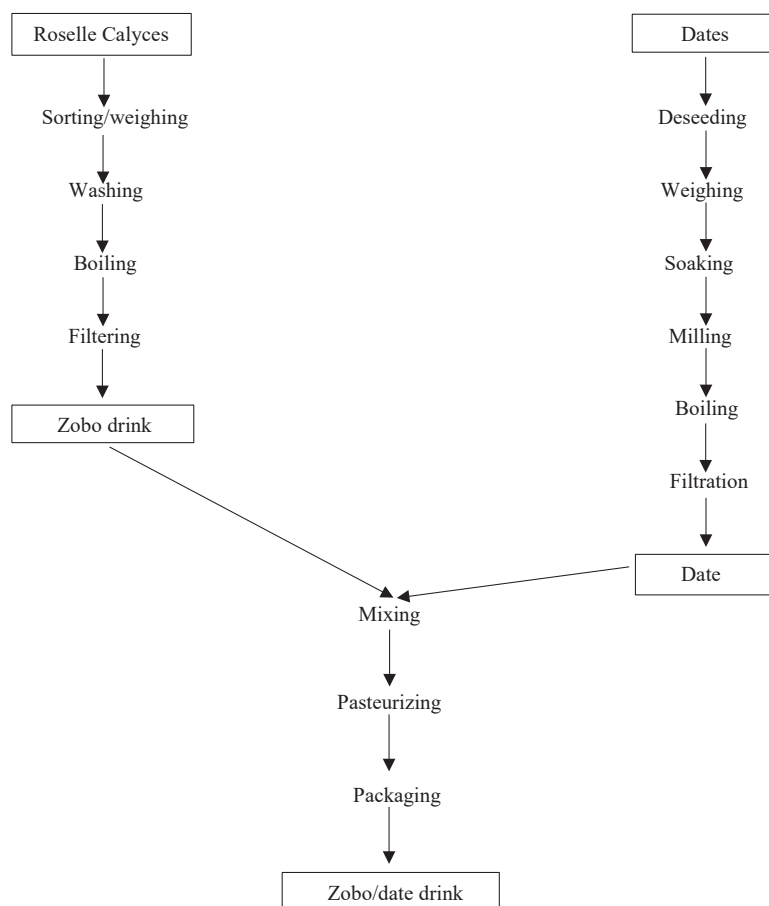


Figure 3. Zobo/date drink production: flowchart

Рисунок 3. Блок-схема технологии производства напитка «зобо» с финиковым соком

for 3 h before being transferred into a muffle furnace with a temperature of about 550°C where it stayed until it turned white and became free of carbon. The samples were then removed from the furnace, cooled in a desiccator, and reweighed. The weights of the residues were calculated as ash content, %.

$$\text{Ash} = \frac{\text{Weight of ash}}{\text{Weight of sample}} \times 100 \quad (2)$$

Determining the fat content. To determine the fat content, we applied the Werner-Schmid method, also known as Solubilisation extraction method. We weighed 10 g of each sample into an extraction tube with 10 mL of water and concentrated HCl. After that, we placed the tubes into a boiling water bath with occasional shaking until the solid particles dissolved, and the mix changed color. The samples were then taken off the water bath and cooled rapidly, followed by adding 10 mL alcohol along with 30 mL of diethyl ether. After a vigorous mixing, it was allowed to separate, and the ether layer went into a pre-weighed Soxhlet flask. The extraction was repeated twice with 25 mL of dimethyl ether and collected in the same flask. After the solvent evaporated, the residual fat was dried in an oven at 100°C for 45 min until constant weight.

Determining the crude protein, %. The formol titration method helped to determine the protein content. Since the samples were liquid, 10 mL of each sample was added to a mix of 0.5 mL 0.5% phenolphthalein and 0.4 mL neutral saturated potassium oxalate. The mix was left to settle for a few minutes before adding 0.1M NaOH to neutralize the mix and give it its standard pink color. After a few minutes, we added 2 mL of formalin. The mix was allowed to stand for few minutes before being titrated with 0.1M NaOH until it became light pink. The process was repeated for the blank using water.

$$\text{Crude protein} = 1.7(V_1 - V_2) \quad (3)$$

where V_1 is the initial volume of the sample, mL; V_2 is the final volume of the sample, mL.

Determining the crude fiber. We mixed 2 g of each sample with 200 mL of 1.25% H_2SO_4 solution in a conical flask and boiled for 30 min. The solution and the content were poured into a Buchner funnel and filtered through muslin cloth, which was secured with an elastic band. The residue was washed with hot water to free the acid. After that, we scooped the residue into a conical flask and mixed with 200 mL of 1.25% NaOH solution. Each sample was boiled for 30 min before being transferred to the Buchner funnel and filtered. The residues obtained were put in a clean dried crucible and dried in a moisture extraction oven until constant weight. Subsequently, we put the dried residues into a muffle furnace where they turned into ash. The samples were cooled in desiccators and weighed to calculate the crude fiber percentage, %.

$$\text{Fiber} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times 100 \quad (4)$$

where W_1 is the weight of the sample before incineration, g; W_2 is the weight of sample after incineration, g; W_3 is the weight of original sample, g.

Determining the carbohydrate content. The carbohydrate content, %, was estimated using the equation below:

$$\text{Carbohydrate} = 100 - (\% \text{ Moisture} + \% \text{ Protein} + \% \text{ Fat} + \% \text{ Cruder fiber}) \quad (5)$$

Physicochemical analysis. **Determining pH and Brix.** The pH of the samples was analyzed physiochemically using a pH meter (Mettler Toledo, U.S.A). We used a portable digital refractometer to determine the Brix/total soluble sugar values.

Titrateable acidity. To determine the titrateable acidity, we employed the colored indicator method in its must and wine variant [21]. A cleaned and dried 10 mL pipette was used to draw up 10 mL of the samples and discharge it into a 250 mL beaker. After that, we added three drops of phenolphthalein to the samples in the beaker and filled it with water. Next, 0.1M NaOH solution was slowly titrated into the sample and water solution with a 500 mL burette until the endpoint was reached, and the phenolphthalein indicator changed from colorless to pink. The difference between the initial and final volume readings of the burette was recorded to determine the amount of NaOH used for titration. The titrateable acidity, %, percentage was calculated as in Eq. (6).

$$\text{Titrateable acidity} = \frac{N(\text{NaOH}) \times 75 \times 100}{V \times 1000} \quad (6)$$

where N is the normality of NaOH; V the volume of sample, mL.

Sensory evaluation. The sensory evaluation of the experimental Zobo/date drink samples followed the descriptive free sorting technique. The panel consisted of 10 men and 10 women. Four of the panelists were certified wine connoisseurs from the Nigerian Bottling Company. The remaining panelists were randomly selected from the students and staff of the Department of Food Science and Technology, Federal University of Technology, Owerri, to be trained in the evaluation of sensory attributes using conventional juice purchased from the supermarket. The sensory profile included color, taste, flavor, mouthfeel, and overall acceptability using a nine-point hedonic scale: like extremely (9), like very much (8), like moderately (7), like slightly (6), neither like nor dislike (5), dislike slightly (4), dislike moderately (3), dislike very much (2), dislike extremely (1). The sensory evaluation was conducted in duplicates.

Statistical analysis. All the data from triplicate measurements were subjected to a one-way analysis of variance (ANOVA) and subsequently represented

as mean $\pm$ standard deviation (SD). The statistical probability was set at $p < 0.05$ (95% confidence level); the mean separation was implemented by Fisher's LSD (Least Significant Difference). The data were processed using Overall, Minitab® 21.0 (Minitab, LLC, PA, USA).

Results and discussion

Proximate composition. Proximate composition determines the quality of raw materials and is often the basis for establishing the nutritional value and overall acceptability of products. Table 1 shows that no progressive decrease in moisture content occurred as the proportion of date juice increased. The highest moisture content of 97.00% was recorded in the control sample (Zcon). The blend with the highest proportion of date fruit (ZD50) had the lowest moisture content of 89.00%. Both measurements showed a significant difference ($p \leq 0.05\%$). All the other samples except ZD10, which had the lowest percentage of date juice, showed significant difference in moisture content. The ash content showed that the sample with the highest date fruit content (ZD50) had the highest ash content and was significantly different ($p \leq 0.05\%$) from the control sample (Zcon) with its 0.13%. The ash content increased together with the date proportion because dates are a good source of minerals [22]. The trend also occurred in other nutritional contents as the sample with the highest date juice percentage (ZD50) had the highest fiber, fat, and protein contents of 2.49, 4.8, and 2.23%, respectively. The control sample had the lowest amount of other nutrient composition ($p \leq 0.05\%$) in relation to other samples. However, the control sample (Zcon) received better results in terms of fiber content than sample ZD10 ($p \leq 0.05$). All the samples demonstrated significant difference ($p \leq 0.05$) for carbohydrates. This fact could be attributed to the date fruit juice, which was reported to be rich in carbohydrates [16].

Zobo drink is attributed with antioxidant, antihypertensive, antihyperlipidemic, anticancer, antibacterial, hepatoprotective, antistress, antidiuretic, antispasmodic, and antidiarrheal effects [6]. It is also known to alter

metabolism, reduce obesity, and inhibit accumulation of fat in the liver. The recommended daily intake of roselle is 1.5 g [7]. Roselle has a very good safety record, with no known side effects. Despite the rising popularity of Zobo as a nutritional and healthy drink, one of the obstacles to its large-scale commercial production is its short shelf life [6, 23]. Calyces are the major source of contamination because the fungi and bacteria they contain cause the drink to decay [24]. Other sources of contamination include the poor hygiene of other components, i.e., water, sweeteners, and preservatives, as well as contaminated equipment, packaging, countertops, hands and clothes of employees, inadequate storage, etc. [23]. However, these sources provide less contamination than calyces [24, 25].

Physicochemical composition. The physicochemical analysis detected a slight increment in pH with the increasing proportion of date juice. The scores ranged from 3.4 to 2.5 ($p \leq 0.05$) from sample to sample. However, samples ZD40 and ZD20 with 40 and 20% of date juice, respectively, showed no significant difference ($p \leq 0.05$). The control sample (Zcon) had the lowest pH while the sample with the highest amount of date juice (ZD50) demonstrated the highest pH. The obtained results corresponded with the pH of Zobo drink reported by Adesokan *et al.* [26].

The Brix content of a sample represents the total soluble solid content. In this research, it showed a progressive increase following the increase in the date juice, ranging from 9.5 to 0.9 ($p \leq 0.05$). Dates are known for their large sugar content, hence their use in this study as a natural sweetener. As expected, an upward trend in the Brix values accompanied the increase in the date juice proportion. Sample ZD50 with the greatest percentage of date juice had the highest Brix content. The titratable acidity content of the drink was calculated as a percentage (%) of tartaric acid content, which ranged from 0.043 ± 0.01 to 0.0158 ± 0.01 . Titratable acidity is most useful in determining acid content for sensory description. A titration of sorts occurs in the mouth of the consumer, where basic saliva meets the

Table 1. Proximate compositions (%) of Zobo-date drink samples: mean values

Таблица 1. Результаты компонентного анализа (%) образцов напитка «зобо» с финиковым соком: средние значения

Samples	Moisture	Ash	Fiber	Lipid	Protein	Carbohydrates
Zcon	97.0 ^a	0.13 ^d	0.73 ^c	0.7 ^c	1.19 ^c	0.20 ^c
ZD10	96.3 ^{ab}	0.30 ^{cd}	0.44 ^f	1.6 ^c	2.04 ^c	0.68 ^d
ZD20	95.3 ^c	0.40 ^{bc}	1.31 ^c	1.8 ^b	2.13 ^b	0.94 ^c
ZD30	94.1 ^d	0.30 ^{cd}	1.26 ^d	1.2 ^d	1.29 ^d	0.62 ^d
ZD40	91.4 ^c	0.50 ^b	1.64 ^b	1.0 ^d	1.29 ^d	4.56 ^a
ZD50	89.2 ^f	0.80 ^a	2.49 ^a	4.8 ^a	2.23 ^a	1.72 ^b
LSD	0.398	0.119	0.039	0.398	0.397	0.012

Means that do not share the same letter down columns are significantly different ($p > 0.05$).

Средние значения в столбце, отмеченные разными буквами, имеют существенные различия ($p > 0,05$).

Table 3. Sensory analysis of Zobo-date drink

Таблица 3. Органолептический анализ образцов напитка «зобо» с финиковым соком

Samples	Color	Flavor	Taste	Mouthfeel	General acceptability
Zcon	6.650 ^{abc}	7.050 ^a	8.400 ^a	7.650 ^a	8.000 ^a
ZD10	7.000 ^{ab}	5.000 ^b	3.400 ^c	3.750 ^c	3.900 ^d
ZD20	5.750 ^c	5.100 ^b	4.350 ^d	4.650 ^{bc}	4.600 ^{cd}
ZD30	7.550 ^a	5.000 ^b	4.950 ^{cd}	4.550 ^b	4.950 ^{bc}
ZD40	6.700 ^{abc}	5.650 ^b	5.650 ^{bc}	5.250 ^b	5.800 ^b
ZD50	6.450 ^{bc}	5.250 ^b	6.150 ^b	5.500 ^b	5.700 ^b
LSD	1.83	1.69	1.63	1.78	1.73

Means that do not share the same letter down columns are significantly different ($p > 0.05$).

Средние значения в столбце, отмеченные разными буквами, имеют существенные различия ($p > 0,05$).

Table 2. Physicochemical properties of Zobo-date drink samples: mean values

Таблица 2. Физико-химические свойства образцов напитка «зобо» с финиковым соком: средние значения

Samples	pH	Brix ^o	Total titratable acidity, %
Zcon	2.5 ^c	0.9 ^f	0.0168 ^b
ZD10	2.7 ^d	2.0 ^c	0.0019 ^d
ZD20	3.1 ^b	3.9 ^d	0.0030 ^c
ZD30	2.9 ^c	5.3 ^c	0.0030 ^c
ZD40	3.2 ^b	8.0 ^b	0.0428 ^a
ZD50	3.4 ^a	9.5 ^a	0.0016 ^d
LSD	0.398	0.398	0.0003978

Means that do not share the same letter down columns are significantly different ($p > 0.05$).

Средние значения в столбце, отмеченные разными буквами, имеют существенные различия ($p > 0,05$).

drink or food, and salivation increases. The results showed a significant difference ($p \leq 0.05$) between ZD10 and Zcon, whereas the results for ZD20, ZD10, and ZD50 were not significantly different ($p \leq 0.05$).

Much work has been done to increase the utilization of roselle and make available the unique nutrients it has to offer. Our findings were similar to those published by Fasoyiro *et al.*, who produced a fruit-flavored roselle drink using orange, apple, and pineapple to flavor it [7]. Their analysis revealed the following: pH = 3.12–3.62, titratable acidity = 1.90–2.30%, total soluble solids (Brix value) = 9.33–10.43°Bx, moisture content = 78.24–9.63%, carbohydrates = 6.31–14.60%, protein = 0.47–0.94%, ash = 0.33–1.14%, fiber = 0.24–3.62%, fat = 0.02–1.14%. Banoke *et al.* successfully preserved Zobo by using the Kola nut of the Abata and Gbanja species [27]. The nut arrested the growth of microbes responsible for fermentation during storage. Adesokan *et al.* examined the quality attributes of Zobo blended with ginger and garlic extracts as preservatives [26]. The fortified Zobo drink was rich in ascorbic acid (vitamin C) while the pH stayed within the accepted range of 2.19–3.62 [7]. The beneficial properties of date palm fruits have also

triggered a lot of studies. Bahraimian *et al.* optimized the enzymatic extraction of sugar from dates [28]. Before the extraction, they reported the following measurements: pH = 5.95, seed-to-pulp ratio = 7.6/92.4, total fiber = 8.39%, total sugar = 72.70%, moisture content = 16.63%, and pectin content as ca-pectate = 0.48%. After the enzymes were used on the fruit, the pH reached 7.5, and the total sugar increased by 3.33%. According to Echegaray *et al.*, dates are a good source of vitamins, including thiamine, riboflavin, niacin, folate, vitamin A, and vitamin K, as well as essential minerals, such as calcium, iron, phosphorus, sodium, potassium, magnesium, and zinc [22].

Sensory analysis. The sensory analysis showed a considerable appreciation for the control sample (Zcon) in all parameters, with Z50 and Z40 having the same sensory appeal and being followed closely by Z30. A higher proportion of date juice not only improved the nutrient composition, but also had almost the same sensory appeal as the drink with an artificial sweetener. The color evaluation showed significant differences ($p \leq 0.05$) between the samples, with the mean scores for the color ranging from 7.550 to 5.750. Sample ZD30 with 30% of date juice had the highest score (7.550) while the lowest score of 5.750 belonged to sample ZD20. Date juice gave Zobo a lighter shade of purple than is appealing to the eyes. The control (Zcon) had the highest mean flavor score (7.050), which could be attributed to the fact that the sweetener had a pineapple flavor, thus giving it a pleasant aroma. The scores for taste and mouthfeel showed significant differences ($p \leq 0.05$) among samples, with the control sample (Zcon) recording the highest mean scores of 8.40 and 7.650, respectively. In terms of general acceptability, the control sample (Zcon) prepared with an artificial sweetener was significantly different ($p \leq 0.05$) from other samples, with a mean score of 8.00.

Conclusion

Incorporating date fruit juice into Zobo drink improved its color and general acceptability: samples ZD40 and ZD50, which had a reasonably high proportion

of date juice, received better sensory scores compared to the samples with lower proportions. In addition, the experimental Zobo-date fruit drink had physicochemical and proximate properties similar with the conventional Zobo that contained an artificial sweetener. The idea behind the experimental Zobo-date drink was to eliminate the use of artificial sweeteners from Zobo production. This research was a preliminary study that ushered in a series of other questions. This work merely examined the superficial nutritional composition of Zobo drinks blended with date juice. This study provides no information on how the microstructure of Zobo is affected by blending with date juice. It also failed to determine whether date juice had any effect on the microbial composition of Zobo and human metabolism. The study did not cover the phytochemical and metabolic composition of the drink. The research prospects include the phytochemical composition of individual raw materials in comparison with their corresponding blends in the drink, its antioxidant and metabolic capacity, microbial quality, shelf-life stability, and possible additives to improve the overall quality and acceptance.

Contribution

Both authors contributed equally to the conceptualization, methodology, analysis, writing, and editing of this manuscript.

Conflict of interest

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

Acknowledgments

Queency N. Okechukwu gratefully acknowledges the research support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Ural Federal University Program of Development within the Priority 2030 Program).

Критерии авторства

Оба автора в равной степени внесли свой вклад в разработку концепции и методологию исследования, анализ полученных результатов, написание и редактирование текста рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

К. Н. Окечукву выражает благодарность Министерству науки и высшего образования Российской Федерации за поддержку исследований (Программа развития Уральского федерального университета в рамках Программы «Приоритет-2030»).

References

1. Benmezziane-Derradji F. Nutritional value, phytochemical composition, and biological activities of Middle Eastern and North African date fruit: An overview. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*. 2019;4. <https://doi.org/10.1007/s41207-019-0132-y>
2. Ndinchout AS, Chattopadhyay D, Ascension NM, Kaur V, Singh N, Paul MF. Muffins fortified with *Dacryodes macrophylla* L. fruit: quality and sensory evaluation. *Foods and Raw Materials*. 2022;10(1):40–50. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-1-40-50>
3. Ogori AF, Amove J, Evi-Parker P, Sardo G, Okpala COR, Bono G, et al. Functional and sensory properties of jam with different proportions of pineapple, cucumber, and *Jatropha* leaf. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):192–200. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-192-200>
4. Shanta FH, Rahut BK, Islam MdJ, Azad MdOK, Sohel MdAT, Rajib MdRR, et al. Development of value-added drinks from date palm juice (*Phoenix sylvestris*). *Heliyon*. 2021;7(11). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08322>
5. Rahman MdM, Azad MdOK, Uddain J, Adnan Md, Ali MdC, Al-Mujahidy SKMd, et al. Microbial quality assessment and efficacy of low-cost disinfectants on fresh fruits and vegetables collected from Urban areas of Dhaka, Bangladesh. *Foods*. 2021;10(6). <https://doi.org/10.3390/foods10061325>
6. Salami SO, Afolayan AJ. Suitability of roselle-*Hibiscus sabdariffa* L. as raw material for soft drink production. *Journal of Food Quality*. 2020;2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8864142>
7. Fasoyiro SB, Babalola SO, Owosibo T. Chemical composition and sensory quality of fruit-flavoured roselle (*Hibiscus sabdariffa*) drinks. *World Journal of Agricultural Sciences*. 2005;1(2):161–164.
8. Pires TCSP, Barros L, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Edible flowers: Emerging components in the diet. *Trends in Food Science and Technology*. 2019;93:244–258. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.020>
9. Riaz G, Chopra R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018;102:575–586. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>
10. Idowu-Adebayo F, Toohey MJ, Fogliano V, Linnemann AR. Enriching street-vended zobo (*Hibiscus sabdariffa*) drink with turmeric (*Curcuma longa*) to increase its health-supporting properties. *Food and Function*. 2021;12(2):761–770. <https://doi.org/10.1039/D0FO02888F>

11. Ekanem JO. Microbial, sensory, and nutritional properties of laboratory prepared sorrel (zobo) drinks fortified with spices and sugar. *Journal of Global Biosciences*. 2018;7(8):5573–5584.
12. Ekanem JO, Daniel UJ, Akpan BC, Akpan EA. Microbiological assessment and proximate composition of sorrel (zobo) drinks sold in Ikot Ekpene metropolis, Akwa Ibom state, Nigeria. *Journal of Research in Forestry, Wildlife, and Environment*. 2018;10(4):92–99.
13. Younas A, Naqvi SA, Khan MR, Shabbir MA, Jatoti MA, Anwar F, *et al.* Functional food and Nutra pharmaceutical perspectives of date (*Phoenix dactylifera* L.) fruit. *Journal of Food Biochemistry*. 2020;44(9). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13332>
14. Ramezanpour MR, Farajpour M, Yousefian M. Enhancing the quality and quantity of date palm (*Phoenix dactylifera*) by micronutrients under calcareous soils with a high pH level. *Journal of Natural Fibers*. 2022;19(15):11749–11762. <https://doi.org/10.1080/15440478.2022.2041528>
15. Pakkish Z, Mohammadrezakhani S. Comparison of phytochemicals and their antioxidant activity in seven date palm varieties grown in Iran. *International Journal of Food Properties*. 2020;23(1):1766–1776. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1820516>
16. Kumar PS, Yaashikaa PR. Date palm as a healthy food. In: Naushad M, Lichtfouse E, editors. *Sustainable agriculture reviews*. Vol. 34. Cham: Springer; 2019. pp. 1–17. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11345-2_1
17. Salomón-Torres R, Ortiz-Urbe N, Valdez-Salas B, Rosas-González N, García-González C, Chávez D, *et al.* Nutritional assessment, phytochemical composition and antioxidant analysis of the pulp and seed of medjool date grown in Mexico. *PeerJ*. 2019;7. <https://doi.org/10.7717/peerj.6821>
18. Echegaray N, Gullón B, Pateiro M, Amarowicz R, Misihairabgwi JM, Lorenzo JM. Date fruit and its by-products as promising source of bioactive components: A review. *Food Reviews International*. 2021;39(3):1411–1432. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1934003>
19. Hemalatha R, Kumar A, Prakash O, Supriya A, Chauhan AS, Kudachikar VB. Development and quality evaluation of ready to serve (RTS) beverage from Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *Beverages*. 2018;4(2). <https://doi.org/10.3390/beverages4020042>
20. Onwuka GI. *Food analysis and instrumentation: Theory and practice*. 2nd ed. Naphtali Printers; 2018. pp. 299–314.
21. Opara CC, Rexford NL. Production of wine from zobo (*Hibiscus sabdariffa*) flower juice. *Journal of Biochemical Technology*. 2021;3(4):436–437.
22. Echegaray N, Pateiro M, Gullón B, Amarowicz R, Misihairabgwi JM, Lorenzo JM. *Phoenix dactylifera* products in human health – A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2020;105:238–250. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.017>
23. Shruthi VH, Ramachandra CT. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces: A potential source of natural color and its health benefits. In: Deka SC, Seth D, Swami Hulle NR, editors. *Food bioactives: Functionality and applications in human health*. New York: Apple Academic Press; 2019. pp. 169–190. <https://doi.org/10.1201/9780429242793>
24. Izah SC, Orutugu LA, Kigigha LT. A review of the quality assessment of zobo drink consumed in Nigeria. *ASIO Journal of Microbiology, Food Science and Biotechnology Innovations*. 2015;1(1):34–44.
25. Mahomoodally F, Ramcharun S, Zengin G. Onion and garlic extracts potentiate the efficacy of conventional antibiotics against standard and clinical bacterial isolates. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2018;18(9):787–796. <https://doi.org/10.2174/1568026618666180604083313>
26. Adesokan IA, Abiola OP, Adigun MO, Anifowose OA. Analysis of quality attributes of hibiscus sabdariffa (zobo) drinks blended with aqueous extract of ginger and garlic. *African Journal of Food Science*. 2013;7(7):174–177. <https://doi.org/10.5897/AJFS12.152>
27. Banoke YO, Tanimola AO, Odunukan RO, Samuel DO. Preservation of zobo drink (calyces of *Hibiscus sabdariffa*) using kolanut. *Academic Journal of Interdisciplinary Studies*. 2013;2(10):17–23. <https://doi.org/10.5901/ajis.2013.v2n10p17>
28. Bahraimian S, Mehrdad M, Mohommad M, Abbas G. Optimization of enzymatic extraction of sugars from kabkab date fruit. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2011;7(2):211–216.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2456>
<https://elibrary.ru/SOJITN>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Динамика изменения бактериального состава молочной основы в процессе ферментации



М. В. Грязнова¹, И. Ю. Буракова¹, Ю. Д. Смирнова¹,
Е. Ю. Нестерова^{1,2}, Н. С. Родионова¹, Е. С. Попов¹,
М. Ю. Сыромятников^{1,2,*}, В. Н. Попов^{1,2}

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

² Воронежский государственный университет^{ROR}, Воронеж, Россия

Поступила в редакцию: 27.02.2023

Принята после рецензирования: 03.05.2023

Принята к публикации: 06.06.2023

*М. Ю. Сыромятников: syromyatnikov@bio.vsu.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>

М. В. Грязнова: <https://orcid.org/0000-0003-2076-3868>

И. Ю. Буракова: <https://orcid.org/0000-0002-5881-0845>

Ю. Д. Смирнова: <https://orcid.org/0000-0002-5820-1804>

Е. Ю. Нестерова: <https://orcid.org/0000-0003-0918-3547>

Н. С. Родионова: <https://orcid.org/0000-0002-6940-7998>

Е. С. Попов: <https://orcid.org/0000-0003-3303-3434>

В. Н. Попов: <https://orcid.org/0000-0003-1294-8686>

© М. В. Грязнова, И. Ю. Буракова, Ю. Д. Смирнова,

Е. Ю. Нестерова, Н. С. Родионова, Е. С. Попов,

М. Ю. Сыромятников, В. Н. Попов, 2023



Аннотация.

Пробиотическая закваска – это биопрепарат на основе молочнокислых бактерий. Метаболические характеристики заквасок имеют значение для свойств ферментированных продуктов и определения потенциальной активности микроорганизмов. Цель исследования заключалась в оценке бактериального состава заквасочной культуры в различные промежутки времени в процессе ферментации при приготовлении пробиотического кисломолочного продукта.

В исследовании использовали закваску для приготовления пробиотического кисломолочного продукта, включающую *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophiles*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* и *Lactocaseibacillus casei*. Объектом ферментации являлось пастеризованное молоко. Отбор проб проводили на протяжении всего процесса ферментации (0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18 ч). Для определения бактериального состава использовали метод секвенирования нового поколения, направленный на исследование V3 участка гена 16S рРНК.

В процессе ферментации выявлено снижение *Bifidobacterium* и преобладание *Lactobacillus*. Пик их обильности в исследуемом субстрате составил 97,5 % на 15 ч ферментации. В каждой контрольной точке ферментации наблюдалось снижение численности *Streptococcus*. Род *Lactobacillus* заместил все другие роды бактерий, включая *Bifidobacterium*, что объясняется снижением pH в процессе ферментации. Для ферментации продолжительностью 18 ч были достигнуты оптимальные значения для увеличения численности рода *Lactobacillus* (pH = 4,2–4,4), но они оказались низкими для продуктивного роста *Bifidobacterium*.

Проведенное исследование продемонстрировало динамику изменения бактериального состава молочной основы в процессе ферментации. Высокопроизводительное секвенирование является хорошим инструментом для контроля процессов ферментации пробиотиков.

Ключевые слова. Микробиом, пробиотический кисломолочный продукт, ферментация, заквасочная бактериальная культура, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, секвенирование 16S рРНК, индекс Шеннона, величина pH

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)^{ROR} в рамках национального проекта «Наука» (проект FZGW-2020-0001, уникальный номер реестра государственных заданий 075001X39782002) и Российского научного фонда (РНФ)^{ROR} (проект № 21-74-00065) в части исследования биоразнообразия бактерий в закваске и продуктах ферментации.

Для цитирования: Динамика изменения бактериального состава молочной основы в процессе ферментации / М. В. Грязнова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 554–564. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2456>

Bacterial Composition of Dairy Base during Fermentation



Mariya V. Gryaznova¹, Inna Yu. Burakova¹,
Yuliya D. Smirnova¹, Ekaterina Yu. Nesterova^{1,2},
Natalia S. Rodionova¹, Evgeniy S. Popov¹,
Mikhail Yu. Syromyatnikov^{1,2,*}, Vasily N. Popov^{1,2}

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

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

Received: 27.02.2023

Revised: 03.05.2023

Accepted: 06.06.2023

*Mikhail Yu. Syromyatnikov: syromyatnikov@bio.vsu.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>

Mariya V. Gryaznova: <https://orcid.org/0000-0003-2076-3868>

Inna Yu. Burakova: <https://orcid.org/0000-0002-5881-0845>

Yuliya D. Smirnova: <https://orcid.org/0000-0002-5820-1804>

Ekaterina Yu. Nesterova: <https://orcid.org/0000-0003-0918-3547>

Natalia S. Rodionova: <https://orcid.org/0000-0002-6940-7998>

Evgeniy S. Popov: <https://orcid.org/0000-0003-3303-3434>

Vasily N. Popov: <https://orcid.org/0000-0003-1294-8686>

© M.V. Gryaznova, I.Yu. Burakova, Yu.D. Smirnova, E.Yu. Nesterova,
N.S. Rodionova, E.S. Popov, M.Yu. Syromyatnikov, V.N. Popov, 2023



Abstract.

Probiotic starters are a biological product based on lactic acid bacteria. Their metabolic characteristics determine the properties of the final products. This study evaluated the bacterial composition of a starter culture at various time intervals during the fermentation of a probiotic dairy product.

The starter consisted of *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophiles*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lactocaseibacillus casei*. Pasteurized milk served as the object of fermentation. The starter culture was activated in sterilized skimmed milk. Sampling occurred throughout the entire fermentation process (0, 3, 6, 9, 12, 15, and 18 h). To determine the microbiome of the substrates, the authors used the next-generation high-throughput sequencing that targeted V3 of 16S rRNA gene.

The fermentation resulted in a decrease in *Bifidobacterium* and an increase in *Lactobacillus*, which peaked (97.5%) after 15 h of fermentation. Each sampling showed that the count of *Streptococcus* went down. Eventually, *Lactobacillus* replaced all other genera, including *Bifidobacterium*, probably, as a result of pH going down during fermentation. The optimal values for the proliferation of *Lactobacillus* (pH = 4.2–4.4), which were registered after 18 h, turned out to be too low for the productive growth of *Bifidobacterium*.

The research demonstrated the changes in the bacterial composition of the dairy base during fermentation. The high-throughput sequencing proved to be an efficient tool in controlling probiotic fermentation processes.

Keywords. Bacterial composition, probiotic dairy product, fermentation, starter bacterial culture, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, 16S rRNA sequencing, Shannon index, pH value

Funding. The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauki)^{ROR} as part of the national project “Science” (FZGW-2020-0001, register no. 075001X39782002) and by the Russian Science Foundation (RSF)^{ROR} (project no. 21-74-00065) as part of studies of biodiversity of bacterial starter culture and fermentation products.

For citation: Gryaznova MV, Burakova IYu, Smirnova YuD, Nesterova EYu, Rodionova NS, Popov ES, *et al.* Bacterial Composition of Dairy Base during Fermentation. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):554–564. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2456>

Введение

Ферментация – это биотехнологический метод, возникший из-за необходимости сохранения пищевых продуктов [1]. Закваска представляет собой

сложный микробный биопрепарат, основу которого составляют представители молочнокислых бактерий. Их ферментация придает готовому продукту такие характерные черты, как вкус и высокие

органолептические качества. Молочнокислые бактерии представляют интерес для пищевой промышленности, т. к. производят молочную кислоту в процессе брожения [2, 3]. Это соединение может ингибировать развитие патогенных микроорганизмов и микроорганизмов, вызывающих порчу продукции и способных снизить качество готового продукта, что способствует увеличению срока годности ферментированных пищевых продуктов [1]. Метаболические характеристики заквасок являются ключевыми для конечных свойств ферментированных продуктов [4, 5].

В состав закваски для приготовления пробиотиков входят такие бактерии, как *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Бактерии должны быть жизнеспособными, а общая нагрузка двух видов должна составлять 10^7 КОЕ/г [6]. Хотя эти два вида являются основными для производства кисломолочных продуктов, могут встречаться и другие виды молочнокислых бактерий [7].

Использование в закваске бактерий для ускорения процесса ферментации, таких как *S. salivarius* ssp. *thermophilus* и *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, обладает преимуществом, т. к. эти два рода находятся в симбиотических отношениях при производстве йогурта [8]. Однако из-за образования ингибирующих соединений и/или конкуренции за питательные вещества *S. salivarius* ssp. *thermophilus* и *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* при производстве йогурта могут снижать жизнеспособность пробиотических штаммов, добавленных в эти продукты [9, 10].

В пищевой промышленности наибольшее количество продуктов и напитков с пробиотиками производится с использованием молочной основы из-за того, что молочные продукты являются хорошим материалом для доставки пробиотиков человеку [11]. Пробиотики на основе лактобактерий обладают такими важными свойствами, как высокая толерантность к кислоте и желчи, способность фиксироваться на поверхности кишечника, нечувствительность к низким значениям pH и желудочному соку, антимикробная активность, нечувствительность к антибиотикам, удаление холестерина и продукции экзополисахаридов в организме [12].

Lactobacillus acidophilus и *Lacticaseibacillus casei* (предыдущее название *Lactobacillus casei*) – грамположительные пробиотические бактерии, широко используемые в промышленности. Их способность увеличивать бактериальную нагрузку и сокращать время ферментации делает их выгодными для производителей [13].

Бактерии рода *Bifidobacterium* часто используют для производства пробиотических продуктов, т. к. они являются прототипом пробиотиков, в норме обитающих в желудочно-кишечном тракте человека, а также обладают разнообразными механизмами

резистентности к желчным кислотам, что важно для появления пробиотического действия [14, 15]. *Bifidobacterium* способны подавлять рост условно-патогенных бактерий, таких как *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* и *Bacillus subtilis* [15]. Исследования пробиотических свойств бифидобактерий, добавляемых в детское питание, продемонстрировали их положительное влияние на детей с аллергией, диареей и другими заболеваниями [16].

К преимуществам *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* для здоровья человека относится способность снижать уровень холестерина в сыворотке крови, обеспечивать защиту от колоректального рака, регулировать время прохождения через кишечник и запоры, уменьшать воспаление кишечника за счет поддержания благоприятного баланса микробиоты [17].

Bifidobacterium longum – это бифидобактерии, обладающие высоким потреблением фруктозы и скоростью разложения олигофруктозы, а также способные к частичному расщеплению инулина [18]. Этот род бактерий является одним из доминирующих для микробиоты желудочно-кишечного тракта человека, поэтому может иметь потенциал в качестве пробиотиков [19].

Изучение микробного состава закваски актуально для определения потенциальной активности микроорганизмов в ней [20]. Различные кислоты и ферменты, продуцируемые микробной культурой, влияют на вкус, консистенцию и срок годности готового продукта [21]. Микроорганизмы, используемые для производства продуктов молочной кислоты, в том числе добавленные в качестве пробиотиков, могут влиять на микробиом кишечника человека [22].

Однако зачастую неясно, в каких количествах остаются полезные бактерии после процесса ферментации в конечном кисломолочном продукте. Цель данного исследования заключалась в оценке бактериального состава пробиотического кисломолочного продукта в различные промежутки времени (0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18 ч) ферментации с помощью высокопроизводительного секвенирования нового поколения.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования. В состав закваски для приготовления пробиотического кисломолочного продукта входили следующие бактерии: *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* (10^6 КОЕ/г), *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (10^9 КОЕ/г), *Bifidobacterium bifidum* (10^9 КОЕ/г), *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (10^9 КОЕ/г), *Bifidobacterium longum* (10^9 КОЕ/г), *Lactobacillus acidophilus* (10^9 КОЕ/г) и *Lacticaseibacillus casei* (10^9 КОЕ/г). Культуры бактерий, используемых в качестве закваски, были ранее изолированы из кисломолочных продуктов и депонированы в микробиологическом музее Воро-

нежского государственного университета инженерных технологий (ВГУИТ). Бактерии предварительно были проверены на способность роста в питательной среде на основе обезжиренного молока.

Все этапы исследования были проведены на базе лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий ВГУИТ.

Ферментация. Закваску активировали в 100 мл стерилизованного (температура 121 ± 2 °C, выдержка 13 ± 2 мин) и охлажденного до температуры 39 ± 1 °C обезжиренного молока с последующим внесением 0,7 г сухой закваски. Для активации микробных клеток закваску тщательно перемешивали и выдерживали 4,0 ч при температуре 37 ± 1 °C. Через 1 и 2 ч после начала активации суспензию бактерий снова перемешивали (встряхиванием) для равномерного распределения бактериальных клеток по массе. Полученную активированную закваску (без образования сгустка) сразу после активации добавляли при перемешивании в пастеризованное (92 ± 2 °C, выдержка 2–8 мин) и охлажденное (37 – 42 °C) молоко в количестве не менее 0,5 мл/кг ферментированной смеси.

Отбор проб проводили на протяжении всего процесса ферментации. Контрольные точки: сразу после внесения бактериальной культуры в пастеризованное молоко (0 ч) и через 3, 6, 9, 12, 15 и 18 ч ферментации. Был проанализирован состав исходной закваски и молока, используемых для приготовления конечного продукта.

Конечный химический состав пробиотического кисломолочного продукта: жиры – 1,2 г/100 г, белки – 2,8 г/100 г, углеводы – 10,5 г/100 г, энергетическая ценность – 64,0 ккал/100 г.

Секвенирование участка гена 16S рРНК. В начале работы по подготовке библиотек секвенирования из полученных образцов выделяли тотальную ДНК с помощью коммерческого набора Quick-DNA Fungal/Bacterial Microprep Kit (Zymo Research, США) согласно протоколу.

Для метода секвенирования на платформе Ion Torrent PGM был выбран анализ гипервариабельной области V3 гена 16S рРНК.

Амплификацию этого участка проводили с использованием универсальных праймеров (337F 5'-GACTCCTACGGGAGGCGWGCAG-3' и 518R 5'-GTATTACCGCGGCTGCTGG-3') и набора 5X Screen Mix-HS Master Mix (Евроген, Россия). ПЦР-анализ проводили в следующих условиях: денатурация при 94 °C в течение 4 мин; 35 циклов денатурации при 94 °C в течение 30 с; отжиг праймера при 53 °C в течение 30 с и удлинение при 72 °C в течение 30 с. Затем продукты ПЦР очищали с использованием магнитных частиц AMPureXP (BeckmanCoulter, США).

Из очищенных продуктов ПЦР готовили библиотеки секвенирования с использованием набора NEB Next Fast DNA (New England Biolabs, США) на

основе протокола производителя. Библиотеки штрих-кодировали с помощью набора NEXT flex (Ion Torrent; Perkin Elmer, Inc., США), а затем готовые библиотеки дополнительно очищали с использованием магнитных частиц AMPure XP.

Для секвенирования участка V3 гена 16S рРНК на платформе Ion Torrent PGM использовали чип Ion 318™ Chipv2 BC и коммерческие наборы Ion PGM Hi-Q View OT2 Kit и Ion PGM Hi-Q View Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

Обработка и статистический анализ данных секвенирования. Для базового вызова и выравнивания полученных чтений использовалось базовое программное обеспечение TorrentSuite. Чтения BAM были преобразованы в формат FASTQ с помощью FileExporter для последующего анализа с помощью языка программирования R. Необработанные данные секвенирования доступны в базе данных NCBI BioProject (BioProjectID: PRJNA900167).

Последующий биоинформатический анализ был выполнен в RStudio (RStudioInc, США). Чтения низкого качества были отфильтрованы с использованием максимального порога ожидаемой ошибки 1,0 (пакет DADA2). На следующем этапе качественные риды были унифицированы по длине и демультиплексированы. Затем при дерепликации все идентичные чтения были объединены в уникальные последовательности (ASV). Алгоритм UNOISE2 использовался для формирования оперативных таксономических единиц (OTU).

Общая идентификация таксономического состава микроорганизмов проведена на основании базы данных SILVA версии 132 (<https://www.arb-silva.de>, по состоянию на 29 сентября 2022 г.). Мы исключили агенты контаминации из проб с помощью пакета decontam R.

Чтобы сравнить относительную численность между группами лечения, использовали метод обобщенного линейного моделирования (GLM), реализованный в пакете DeSEQ2 R. Р-значения для каждой OTU были получены с использованием теста Вальда с применением коррекции множественного вывода Бенджамини-Хохберга. Альфа-разнообразие для каждой группы рассчитывали с использованием индекса Шеннона. Был использован тест Тьюки для оценки различий в показателях альфа-разнообразия между группами.

Результаты и их обсуждение

Проанализировали изменения бактериального состава в процессе ферментации. Были получены данные о бактериальном составе исходной бактериальной закваски, стерилизованного молока и их смеси до начала брожения (0 ч) и в процессе брожения (3, 6, 9, 12, 15 и 18 ч). В ходе секвенирования было получено 150 972 прочтения, что соответствует 10 бактериальным типам и 132 родам.

Обилие типов *Patescibacteria*, *Campilobacterota*, *Cyanobacteria*, *Fusobacteriota* и *Bdellovibrionota* составляло менее 0,010 для каждого субстрата и точки времени ферментации, поэтому их сгруппировали в «Другие» (рис. 1).

Тип *Firmicutes* оказался самым многочисленным среди всех выборок. Для молока его концентрация составила 0,4634, для закваски – 0,5303, для временных интервалов ферментации смеси – 0,9050. В закваске вторым по численности типом был *Actinobacteriota* – 0,4618, численность остальных типов составила менее 0,01. В молоке, помимо *Firmicutes*,

в значимых количествах были представлены типы *Deinococcota* – 0,2816, *Proteobacteria* – 0,1448, *Bacteroidota* – 0,0817 и *Actinobacteriota* – 0,0251.

Статистически значимые различия между изучаемыми субстратами на уровне типа определяли с помощью DeSeq2, реализующего критерий Вальда с поправкой множественного вывода по умолчанию – Бенджамини-Хохберга (рис. 2). Результаты были выражены как Log2FoldChange, характеризующие размер эффекта и скорректированное значение p .

Согласно анализу статистически значимые различия наблюдались между 6 и 0 ч ферментации для

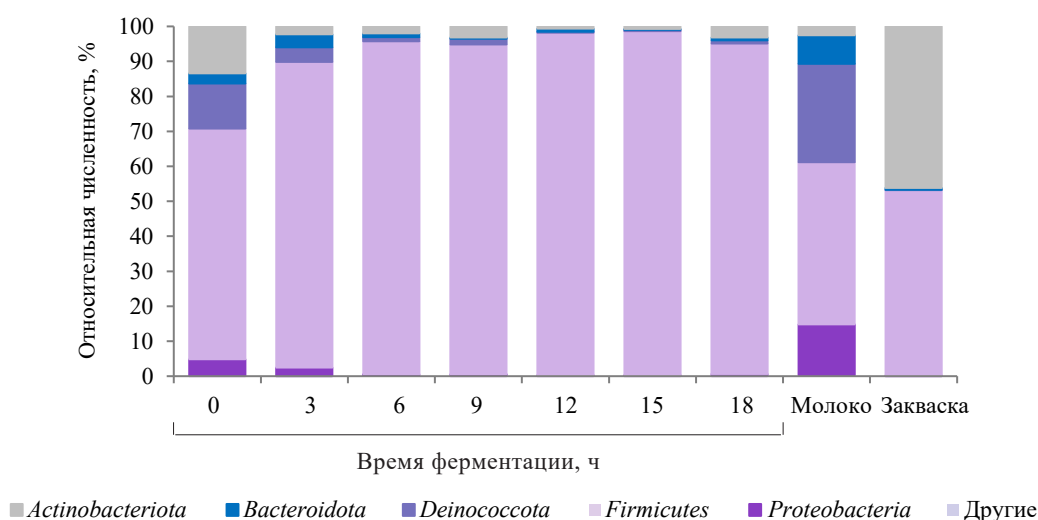


Рисунок 1. Соотношение бактериальных типов в исследуемых субстратах

Figure 1. Proportion of different bacterial in substrates

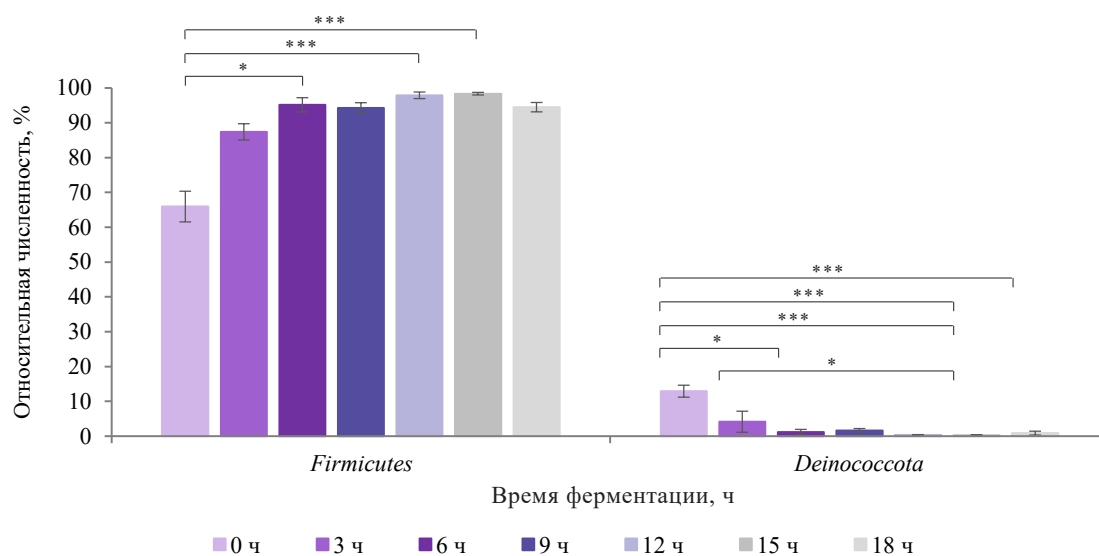


Рисунок 2. Статистически значимые различия в микробиомном составе на уровне типа во время ферментации (* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$)

Figure 2. Statistically significant differences in microbiome composition for each during fermentation (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$)

типов *Deinococcota* – 1,9740 ($p = 0,0129$) и *Firmi-tes* – 2,1110 ($p = 0,0129$). По сравнению с 0 ч на 12 ч стадии ферментации разница для типа *Firmicutes* составила 3,1633 ($p = 0,0001$), для *Deinococcota* – 2,6248 ($p = 0,0001$); на 15 ч стадии ферментации 3,1130 ($p = 0,0001$) и –2,9482 ($p = 0,0001$) для *Firmicutes* и *Deinococcota* соответственно; на 18 ч стадии ферментации разница составила –2,6647 ($p = 0,0002$) для *Deinococcota*. На 15 ч стадии ферментации, по сравнению с 3 ч, разница составила –2,1461 ($p = 0,0414$) для *Deinococcota*.

Все роды бактерий, численность которых в каждой группе была менее 0,0100, были объединены в «Другие». Таким образом, были выделены 14 родов бактерий, формирующих ядро микробиома исследуемых субстратов (рис. 3).

Наиболее распространенными родами бактерий были *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Thermus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Anoxybacillus*, *Prevotella*, *Cutibacterium*, *Oscillospiraceae* UCG-005 и *Leuconostoc*. *Lactobacillus* был преобладающим родом для закваски (0,5142), для каждой временной точки процесса ферментации среднее значение составило 0,8542. Помимо *Lactobacillus*, в закваске был обнаружен *Bifidobacterium* – 0,4628. Численность остальных родов, представленных на рисунке 3, была менее 0,01. В стерилизованном молоке преобладал род *Thermus* – 0,2899, следующим по численности были роды *Lactococcus* – 0,2474, *Streptococcus* – 0,1270, *Acinetobacter* – 0,0820, *Chryseobacterium* – 0,0621,

Pseudomonas – 0,0386, *Anoxybacillus* – 0,0364, *Cutibacterium* – 0,0184, *Lactobacillus* – 0,0166, *Leuconostoc* – 0,0107. Численность остальных идентифицированных родов была менее 0,01.

Был использован индекс Шеннона для расчета альфа-разнообразия для каждого изученного субстрата. Статистические различия в альфа-разнообразии между субстратами были выявлены с использованием теста Тьюки HSD (рис. 4).

Проведенный анализ показал наличие статистической разницы в бактериальном разнообразии между несколькими субстратами. Индекс Шеннона для стерилизованного молока составил 2,2259, что превышало индекс альфа-разнообразия в продукте ферментации через 6 ч ($H = 0,4397$, $p = 0,0022$), 9 ч ($H = 0,4496$, $p = 0,0023$), 12 ч ($H = 0,2435$, $p = 0,0005$), 15 ч ($H = 0,1870$, $p = 0,0003$) и 18 ч ($H = 0,4716$, $p = 0,0027$). Кроме того, альфа-разнообразие смеси стерилизованного молока и закваски до начала ферментации (0 ч) составляло 1,6438 и превышало этот показатель через 12 ч ($H = 0,2435$, $p = 0,0320$) и 15 ч ($H = 0,1870$, $p = 0,0221$) ферментации смеси.

Различия между составом, в зависимости от времени ферментации смеси, определяли с помощью DeSeq2 (рис. 5). Результаты были выражены как Log2FoldChange, характеризующие размер эффекта и скорректированное значение p .

Несмотря на изменения бактериального состава субстрата при ферментации, для рода *Lactobacillus* выявлены статистически значимые изменения. Было обнаружено увеличение этого рода во время

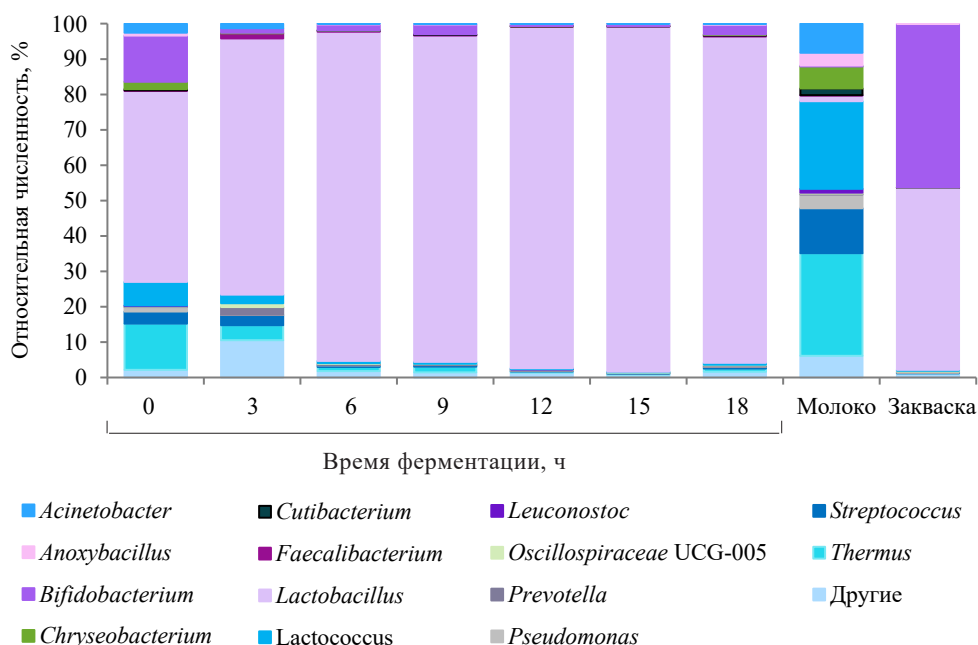


Рисунок 3. Бактериальный состав на уровне рода в исследуемых субстратах

Figure 3. Bacterial composition

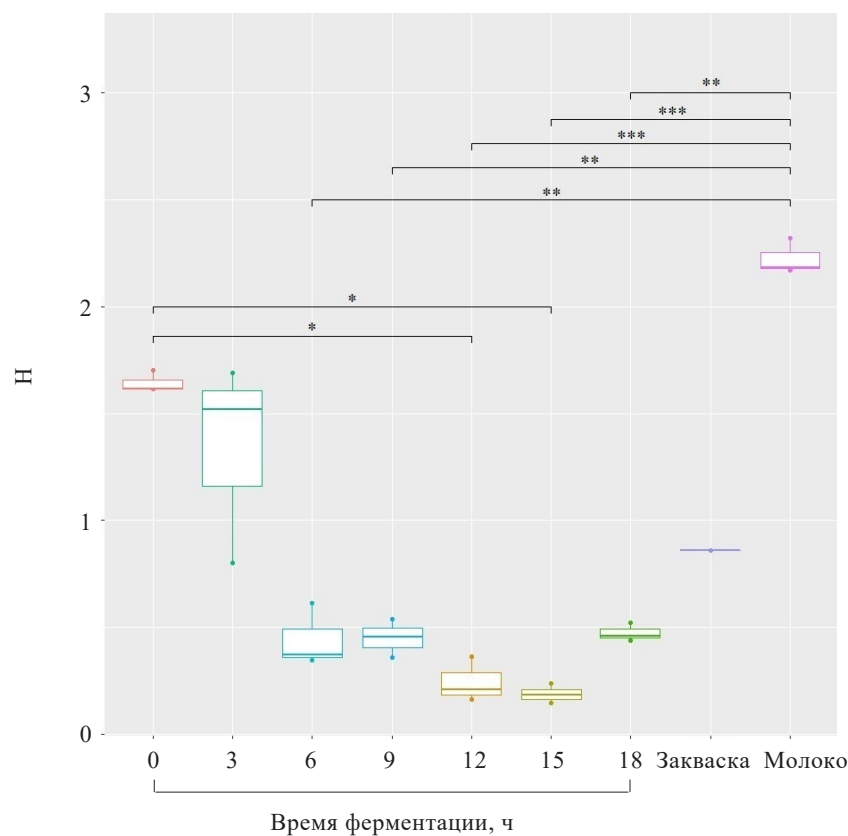


Рисунок 4. Альфа-разнообразие на уровне рода в исследуемых субстратах (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Figure 4. Alpha diversity in the substrates (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

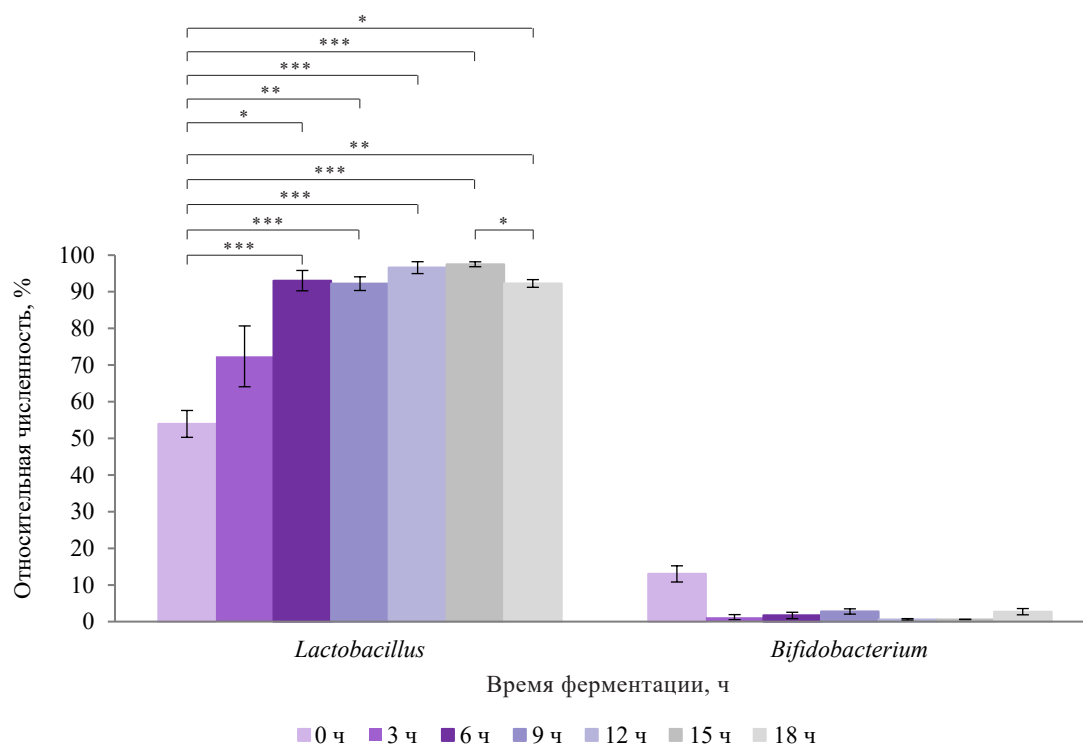


Рисунок 5. Различия в составе *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* при ферментации (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Figure 5. Composition of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* during fermentation (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

ферментации: статистически значимое от 6 ч ферментации до 0 ч. Увеличение после 6 ч ферментации считается значительным. Однако через 15 ч брожения количество *Lactobacillus* уменьшается, что является статистически значимым. Хотя нет статистически значимой разницы между количеством бифидобактерий во время ферментации, можно увидеть, что их количество уменьшается в процессе и замещается лактобациллами.

Изменение состава микробиоты в процессе ферментации пробиотика является естественным процессом. Изменяющиеся физико-химические свойства способствуют формированию стрессовых условий, трансформирующих микробное разнообразие. Активные качественные и количественные изменения микробиоты приводят к появлению в готовой продукции отдельных доминирующих таксонов [23, 24]. Например, метагеномный анализ образцов кумыса традиционного типа брожения показал снижение количества представителей рода *Lactobacillus*, в то время как содержание *Streptococcus* увеличивалось. Несмотря на это, основными преобладающими родами на всех стадиях ферментации кумыса оставались представители родов *Lactococcus*, *Lactobacillus* и *Enterococcus*, обеспечивающие формирование особого вкуса и питательности конечного продукта [25].

Анализ популярного в южноафриканских странах пробиотического продукта амаси показал, что в процессе ферментации регистрировалось повышение содержания бактерий семейств *Lactobacillaceae* и *Streptococcaceae*. Представители из семейства *Prevotellaceae* доминировали в сыром молоке, но с началом ферментации уменьшались [26]. Такие результаты связывают с низким значением pH, поскольку культуры, используемые в ферментации продуктов, активно функционируют в кислой среде [26].

В данном исследовании были изучены изменения состава микробиома ферментированного пробиотического кисломолочного продукта на основе молочной сыворотки на разных стадиях ферментации (от 0 до 18 ч, шаг 3 ч). Также исследовали бактериальный состав закваски и пастеризованного молока, которые использовались для получения конечного ферментированного продукта. В составе закваски по результатам секвенирования содержались следовые количества (менее 0,5 %) следующих бактерий: *Thermus*, *Prevotella*, *Oscillospiraceae* UCG-005 и *Lactococcus*. В молоке были идентифицированы различные роды бактерий. Так как молоко пастеризованное, то это ДНК мертвых бактерий, которые не повлияли на процесс брожения.

Некоторые штаммы *Thermus* и *Lactococcus* широко используются при приготовлении заквасок [27, 28]. Однако этого нельзя сказать о бактериях рода *Prevotella*. При анализе литературы не удалось найти данных о том, что эти бактерии могут использовать-

ся в производстве заквасок. Однако известно, что *Prevotella copri* является потенциальным кандидатом в пробиотические бактерии [29, 30]. Что касается *Oscillospiraceae* UCG-005, то обнаружение этой бактерии в закваске было неожиданным. Этот вид бактерий и его влияние на здоровье человека плохо изучены. *Thermus* и *Lactococcus* были доминирующими родами, обнаруженными в молоке. Они являются нормальными членами, содержащимися в молочных продуктах.

На протяжении всех стадий ферментации мы наблюдали, как постепенно род *Lactobacillus* вытесняет остальные роды бактерий, включая пробиотический род *Bifidobacterium*. В итоге пиковая концентрация представителей этого рода в исследуемом субстрате составила 97,5 % на 15 ч ферментации, после чего численность лактобацилл снизилась до 92,3 % на 18 ч ферментации. Это можно объяснить снижением pH на протяжении всего процесса брожения: в начале брожения отмечался pH 6,2–6,4, а в конце брожения – 4,2–4,4. Для роста бактерий рода *Bifidobacterium* оптимальный pH находится в диапазоне 6,5–7,0, тогда как лактобациллы не чувствительны к низким значениям pH [12, 31].

По результатам данного исследования в процессе ферментации в каждой контрольной точке наблюдалось снижение численности бактерий рода *Streptococcus*. Однако в предыдущих исследованиях сообщалось, что количество жизнеспособных клеток этого рода постепенно увеличивалось в процессе ферментации [32]. Эти результаты можно объяснить тем, что бактерии этого рода чувствительны к условиям культивирования, а для их роста в определенной среде необходимы углеводы, аминокислоты, витамины, нуклеотиды и минеральные вещества [33].

Одним из важнейших перспективных преимуществ процесса ферментации является способность снижать аллергенность тех или иных компонентов. Это осуществляется за счет ферментативного гидролиза аллергенных пептидов, входящих в состав продуктов [34–36].

Активное применение в пищевой промышленности заквасок обеспечивает формирование особых физико-химических характеристик, а также органолептических и питательных свойств у готового продукта [37]. Чтобы конечный результат не отличался от ожидаемого, бактериальный состав заквасок, применяемых в производстве ферментированных продуктов, должен соответствовать заявленному производителем. В связи с этим необходимо осуществлять контроль состава и качества заквасочных культур в целях предотвращения негативного влияния на свойства готовой продукции. Как было показано нами ранее, быстро и эффективно с этим могут справиться молекулярно-генетические методы [38, 39].

Выводы

В процессе ферментации наблюдалось увеличение рода *Lactobacillus* до 97,5 % к 15 ч ферментации, после чего количество *Lactobacillus* начало снижаться. Род *Lactobacillus* заменяет все другие роды бактерий, включая пробиотический род *Bifidobacterium*. Это можно объяснить снижением pH на протяжении всего процесса ферментации. В процессе ферментации продолжительностью 18 ч были достигнуты оптимальные значения pH = 4,2–4,4 для увеличения численности рода *Lactobacillus*, но они оказались низкими для продуктивного роста бифидобактерий. Высокопроизводительное секвенирование является хорошим инструментом для контроля процессов ферментации пробиотических кисломолочных продуктов.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании экспериментальной части рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Contribution

The authors were equally involved in the experimental part of the research and are equally responsible for any potential plagiarism.

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.

References/Список литературы

1. Leeuwendaal NK, Stanton C, O'Toole PW, Beresford TP. Fermented foods, health and the gut microbiome. *Nutrients*. 2022;14(7). <https://doi.org/10.3390/nu14071527>
2. Mathur H, Beresford TP, Cotter PD. Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. *Nutrients*. 2020;12(6). <https://doi.org/10.3390/nu12061679>
3. Krasnova IS, Ganina VI, Semenov GV. Fruit and vegetable purees as cryoprotectants for vacuum freeze-dried fermented milk products. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(2):300–308. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-578>
4. García-Díez J, Saraiva C. Use of starter cultures in foods from animal origin to improve their safety. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph18052544>
5. Yang Q, Rutherford-Markwick K, Mutukumira AN. Identification of dominant lactic acid bacteria and yeast in rice sourdough produced in New Zealand. *Current Research in Food Science*. 2021;4:729–736. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.10.002>
6. Freitas M. The benefits of yogurt, cultures, and fermentation. In: Floch MH, Ringel Y, Walker WA, editors. *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology. Implication human health, prebiotics, probiotics, dysbiosis*. Academic Press; 2017. pp. 209–223. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00024-0>
7. İspirli H, Dertli E. Isolation and identification of exopolysaccharide producer lactic acid bacteria from Turkish yogurt. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018;42(8). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13351>
8. Agustinah W, Warjoto RE, Canti M. Yogurt making as a tool to understand the food fermentation process for nonscience participants. *Journal of Microbiology and Biology Education*. 2019;20(1). <https://doi.org/10.1128/jmbe.v20i1.1662>
9. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*. 2000;84(3):197–215. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(00\)00375-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(00)00375-8)
10. Viability of probiotic *Lactobacillus casei* in yoghurt: defining the best processing step to its addition [Internet]. [cited 2023 Jan 16]. Available from: <https://www.alanrevista.org/ediciones/2013/1/art-8>
11. Gao J, Li X, Zhang G, Sadiq FA, Simal-Gandara J, Xiao J, et al. Probiotics in the dairy industry – Advances and opportunities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;20(4):3937–3982. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12755>
12. Widyastuti Y, Febrisiantosa A, Tidona F. Health-promoting properties of lactobacilli in fermented dairy products. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.673890>
13. Amanat S, Mazloomi SM, Asadimehr H, Sadeghi F, Shekouhi F, Mortazavi SMJ. *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* exposed to Wi-Fi radiofrequency electromagnetic radiation show enhanced growth and lactic acid production. *Journal of Biomedical Physics and Engineering*. 2020;10(6):745–750. <https://doi.org/10.31661/JBPE.V010.1056>
14. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research Public Health*. 2014;11(5):4745–4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>

15. Cai J, Bai J, Luo B, Nio Y, Tian E, Yan W. In vitro evaluation of probiotic properties and antioxidant activities of *Bifidobacterium* strains from infant feces in the Uyghur population of northwestern China. *Annals of Microbiology*. 2022;72. <https://doi.org/10.1186/s13213-022-01670-y>
16. O'Sullivan A, Farver M, Smilowitz JT. The influence of early infant-feeding practices on the intestinal microbiome and body composition in infants. *Nutrition and Metabolic Insights*. 2015;8(1). <https://doi.org/10.4137/NMI.S29530>
17. Cheng J, Laitila A, Ouwehand AC. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 effects on gut health: A review. *Frontiers in Nutrition*. 2021;8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.790561>
18. Parhi P, Song KP, Choo WS. Growth and survival of *Bifidobacterium breve* and *Bifidobacterium longum* in various sugar systems with fructooligosaccharide supplementation. *Journal of Food Science and Technology*. 2022;59:3775–3786. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05361-z>
19. Mills S, Yang B, Smith GJ, Stanton C, Ross RP. Efficacy of *Bifidobacterium longum* alone or in multi-strain probiotic formulations during early life and beyond. *Gut Microbes*. 2023;15(1). <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2186098>
20. Salari A, Hashemi M, Afshari A. Functional properties of kefir in the medical field and food Industry. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2022;23(3):388–395. <https://doi.org/10.2174/1389201022666210322121420>
21. Landis EA, Oliverio AM, McKenney EA, Nichols LM, Kfoury N, Biango-Daniels, *et al.* The diversity and function of sourdough starter microbiomes. *eLife*. 2021;10. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.61644>
22. Savaiano DA, Hutkins RW. Yogurt, cultured fermented milk, and health: A systematic review. *Nutrition Reviews*. 2021;79(5):599–614. <https://doi.org/10.1093/NUTRIT/NUAA013>
23. Salazar JK, Gonsalves LJ, Fay M, Ramachandran P, Schill KM, Tortorello ML. Metataxonomic profiling of native and starter microbiota during ripening of gouda cheese made with *Listeria monocytogenes*-contaminated unpasteurized milk. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.642789>
24. Chessa L, Paba A, Dupré I, Daga E, Fozzi MC, Comunian R. Strategy for the recovery of raw ewe's milk microbial diversity to develop natural starter cultures for traditional foods. *Microorganisms*. 2023;11(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040823>
25. Wu Y, Li Y, Gesudu Q, Zhang J, Sun Z, Halatu H, *et al.* Bacterial composition and function during fermentation of Mongolia koumiss. *Food Science and Nutrition*. 2021;9(8):4146–4155. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2377>
26. Maleke M, Doorsamy W, Abrahams AM, Adefisoye MA, Masenya K, Adebo OA. Influence of fermentation conditions (temperature and time) on the physicochemical properties and bacteria microbiota of *amasi*. *Fermentation*. 2022;8(2). <https://doi.org/10.3390/fermentation8020057>
27. Zhu L, Hou Z, Hu X, Liu X, Dai T, Wang X, *et al.* Genomic and metabolic features of an unexpectedly predominant, thermophilic, assistant starter microorganism, *Thermos thermophilus*, in Chinese inner Mongolian cheese. *Foods*. 2021;10(12). <https://doi.org/10.3390/foods10122962>
28. Lee HW, Kim IS, Kil BJ, Seo E, Park H, Ham J-S, *et al.* Investigation of flavor-forming starter *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* LDTM6802 and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LDTM6803 in miniature gouda-type cheeses. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2020;30(9):1404–1411. <https://doi.org/10.4014/jmb.2004.04004>
29. Huang F, Sardari RRR, Jasilionis A, Böök O, Öste R, Rascón A, *et al.* Cultivation of the gut bacterium *Prevotella copri* DSM 18205^T using glucose and xylose as carbon sources. *MicrobiologyOpen*. 2021;10(3). <https://doi.org/10.1002/MBO3.1213>
30. Verbrugghe P, Brynjólfsson J, Jing X, Björck I, Hållenius F, Nilsson A. Evaluation of hypoglycemic effect, safety and immunomodulation of *Prevotella copri* in mice. *Scientific Reports*. 2021;11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96161-6>
31. Shah NP. Bacteria, beneficial | *Bifidobacterium* spp.: Morphology and physiology. In: Fuquay JW, editor. *Encyclopedia of dairy sciences*. Academic Press; 2011. pp. 381–387. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00043-1>
32. Song X, Hou C, Yang Y, Ai L, Xia Y, Wang G, *et al.* Effects of different carbon sources on metabolic profiles of carbohydrates in *Streptococcus thermophilus* during fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2022;102(11):4820–4829. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11845>
33. Liu G, Qiao Y, Zhang Y, Leng C, Chen H, Sun J, *et al.* Metabolic profiles of carbohydrates in *Streptococcus thermophilus* during pH-controlled batch fermentation. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01131>
34. Pi X, Yang Y, Sun Y, Cui Q, Wan Y, Fu G, *et al.* Recent advances in alleviating food allergenicity through fermentation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;62(26):7255–7268. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1913093>

35. Ye M, Xu Z, Tan H, Yang F, Yuan J, Wu Y, et al. Allergenicity reduction of cow milk treated by alkaline protease combined with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus helveticus* based on epitopes. Food Chemistry. 2023;421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136180>
36. Chen JM, Al KF, Craven LJ, Seney S, Coons M, McCormick H, et al. Nutritional, microbial, and allergenic changes during the fermentation of cashew “cheese” product using a quinoa-based rejuvelac starter culture. Nutrients. 2020;12(3). <https://doi.org/10.3390/nu12030648>
37. Gao J, Li X, Zhang G, Sadiq FA, Simal-Gandara J, Xiao J, et al. Probiotics in the dairy industry – Advances and opportunities. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2021;20(4):3937–3982. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12755>
38. Syromyatnikov M, Nesterova E, Gladkikh M, Popov V. Probiotics analysis by high-throughput sequencing revealed multiple mismatches at bacteria genus level with the declared and actual composition. LWT. 2022;156. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113055>
39. Syromyatnikov MYu, Korneeva OS, Nesterova EYu, Gladkikh MI, Popov ES, Popov VN. High-throughput sequencing of the 16S rRNA gene for evaluation the composition of bacterial starter cultures used for the preparation of fermented milk products. Biotechnology in Russia. 2022;38(1):80–92. (In Russ.). <https://doi.org/10.56304/S0234275822010082>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2457>
<https://elibrary.ru/ZPULFC>

Original article
Available online at <https://fppt.ru/en>

Antagonistic Activity of Extremophilic Bacteria Against Phytopathogens in Agricultural Crops



Lyudmila K. Asyakina^{1,*}, Yuliya R. Serazetdinova¹,
Anna S. Frolova¹, Natalya V. Fotina¹,
Olga A. Neverova¹, Andrey N. Petrov²

¹ Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

² Russian Biotechnological University^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 20.03.2023
Revised: 19.04.2023
Accepted: 02.05.2023

*Lyudmila K. Asyakina: alk_kem@kemsu.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>

Yuliya R. Serazetdinova: <https://orcid.org/0000-0002-3044-3529>

Anna S. Frolova: <https://orcid.org/0000-0003-3988-8521>

Natalya V. Fotina: <https://orcid.org/0000-0002-7655-0258>

Olga A. Neverova: <https://orcid.org/0000-0002-0309-5709>

Andrey N. Petrov: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© L.K. Asyakina, Yu.R. Serazetdinova, A.S. Frolova,
N.V. Fotina, O.A. Neverova, A.N. Petrov, 2023



Abstract.

Wheat is a vital agricultural crop whose phytopathogens include fungi of the genera *Fusarium* and *Alternaria*. Synthetic pesticides, which are used to combat them, have a negative impact on the environment. Therefore, there is a need for developing safe and effective biopesticides. We aimed to create a consortium of extremophilic microorganisms isolated from natural sources to protect wheat from the diseases caused by *Alternaria* and *Fusarium* fungi.

Ten isolates of extremophilic microorganisms were tested for their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and their antagonistic activity against phytopathogens. Based on the results, we developed microbial consortia and evaluated their effectiveness in protecting wheat from phytopathogens.

Five of the strains under study showed the highest activity, three of which were biocompatible, namely *Leclercia* sp., *Sphingomonas paucimobilis*, and *Lactobacillus plantarum*. Four consortia were created from these microorganisms, of which consortium B (with a 2:1:1 ratio of the strains, respectively) proved the most effective. In particular, it increased the area free from the phytopathogen by 4.2% compared to the average values of its individual microorganisms. Also, the consortium had a phytostimulating effect on wheat seedlings (germination of 73.2–99.6%) and protected the seeds infected with phytopathogens from morphometric changes.

The resulting consortium can be used as a biopesticide since it is highly effective in protecting wheat from *Alternaria* and *Fusarium* pathogens.

Keywords. *Triticum aestivum* L., agricultural productivity, phytopathogens, biopesticides, extremophilic bacteria, consortium of microorganisms, environmental safety

Funding. This study was part of the state assignment entitled “Basic research on the development of biopesticides from extremophilic and endophytic microorganisms to help agricultural crops overcome abiotic and biotic stress in Kemerovo Oblast – Kuzbass” (code FZSR-2023-0003).

For citation: Asyakina LK, Serazetdinova YuR, Frolova AS, Fotina NV, Neverova OA, Petrov AN. Antagonistic Activity of Extremophilic Bacteria Against Phytopathogens in Agricultural Crops. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):565–575. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2457>

Антагонистическая активность экстремофильных микроорганизмов в отношении фитопатогенов сельскохозяйственных культур



Л. К. Асякина^{1,*}, Ю. Р. Серазетдинова¹, А. С. Фролова¹,
Н. В. Фотина¹, О. А. Неверова¹, А. Н. Петров²

¹ Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

² Российский биотехнологический университет^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 20.03.2023

Принята после рецензирования: 19.04.2023

Принята к публикации: 02.05.2023

*Л. К. Асякина: alk_kem@kemsu.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>

Ю. Р. Серазетдинова: <https://orcid.org/0000-0002-3044-3529>

А. С. Фролова: <https://orcid.org/0000-0003-3988-8521>

Н. В. Фотина: <https://orcid.org/0000-0002-7655-0258>

О. А. Неверова: <https://orcid.org/0000-0002-0309-5709>

А. Н. Петров: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© Л. К. Асякина, Ю. Р. Серазетдинова, А. С. Фролова,
Н. В. Фотина, О. А. Неверова, А. Н. Петров, 2023



Аннотация.

Пшеница (*Triticum aestivum* L.) – важная сельскохозяйственная культура, фитопатогенами которой являются грибы рода *Fusarium* и *Alternaria*. Для борьбы с ними применяют синтетические пестициды, негативно влияющие на окружающую среду и здоровье человека. Разработка безопасных и эффективных аналогов – биопестицидов – является актуальным вопросом. Цель работы заключалась в разработке консорциума на основе экстремофильных микроорганизмов, выделенных из природных источников, для защиты пшеницы от заболеваний, вызванных грибами рода *Alternaria* и *Fusarium*.

Объектами исследования являлись образцы 10 изолятов экстремофильных микроорганизмов. Биохимическую идентификацию изолятов проводили с использованием автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact. Изоляты оценивали по показателям антимикробной активности в отношении *Escherichia coli* и антагонистической активности в отношении фитопатогенов по методу встречных культур. На основании полученных данных конструировали микробные консорциумы и оценивали их эффективность и способность защищать пшеницу от фитопатогенов.

Из 10 исследованных изолятов наибольшую активность проявляли 5 штаммов, 3 из которых являлись биосовместимыми: *Leclercia* sp., *Sphingomonas paucimobilis* и *Lactobacillus plantarum*. На основании данных микроорганизмов составили 4 консорциума. Установлено, что совместное применение микроорганизмов повышает их антагонистическую активность: площадь, не занятая фитопатогеном, увеличивалась на 4,2 % по отношению к среднему значению отдельных микроорганизмов, входящих в состав консорциума. Наиболее эффективным являлся консорциум с соотношением штаммов *Leclercia* sp., *S. paucimobilis* и *L. plantarum* 2:1:1 соответственно. Консорциум оказывал фитостимулирующее действие на проростки пшеницы (всхожесть варьировалась в пределах 73,2–99,6 %) и позволял избежать морфометрических изменений при обработке семян, зараженных фитопатогенами.

Разработанный консорциум обладает высокой эффективностью защиты пшеницы от патогенов рода *Alternaria* и *Fusarium* и может использоваться в качестве пестицида биологической природы.

Ключевые слова. *Triticum aestivum* L., продуктивность сельского хозяйства, фитопатогены, биопестициды, экстремофильные бактерии, консорциум микроорганизмов, экологическая безопасность

Финансирование. Работа была выполнена в рамках государственного задания по теме «Фундаментальные исследования по разработке биопестицидов, состоящих из экстремофильных и эндофитных микроорганизмов, для преодоления абиотического и биотического стресса сельскохозяйственными культурами в условиях Кемеровской области – Кузбасса» (шифр FZSR-2023-0003).

Для цитирования: Антагонистическая активность экстремофильных микроорганизмов в отношении фитопатогенов сельскохозяйственных культур / Л. К. Асякина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 565–575. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2457>

Introduction

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is a vital agricultural crop that makes a significant contribution to the food security. However, its yield and nutritional value are greatly reduced by various diseases caused by phytopathogenic microorganisms [1, 2].

Fusariosis is the most common disease in wheat. It is a pathological condition of cultivated and wild plants caused by microscopic fungi of the genus *Fusarium*. This phytopathogen deforms wheat ears and causes them to prematurely lose pigmentation [3, 4]. The grain shrinks, becomes brittle, and its germination capacity decreases [5]. Moreover, mycotoxins accumulate in the grain, posing a threat to human and animal health [6, 7]. According to literature, mycotoxins reduce the resistance of wheat to other phytopathogens [8].

Alternaria blight is another common wheat disease caused by pathogens of the genus *Alternaria*. These microscopic fungi cause black spots of mycelium to form on the ears, disrupting the crop's normal development [9]. In some cases, *Alternaria* pathogens directly affect the grains, causing their shell to darken. This does not affect their ability to germinate, but increases their allergenicity [10].

Synthetic pesticides are most often used to combat these and other phytopathogens that cause infectious diseases in wheat [11]. However, their use is associated with a number of environmental problems. Pesticides are stable compounds that can persist in the environment for a long time, causing pollution of soils, ground and surface waters, as well as the atmosphere [12–14]. When used for extended periods, they accumulate in agricultural soils, causing qualitative and quantitative changes in the microbiome of the rhizosphere and phyllosphere. In particular, they decrease the diversity of bacteria and fungi, as well as affect the nitrogen-fixing and colonizing abilities of rhizobacteria [15, 16]. This has a negative impact on cultivated crops such as wheat. Moreover, of considerable concern is the potential of synthetic pesticides for bioaccumulation. They accumulate in the edible parts of the crops, causing harm to human health [17].

Thus, there is a need for alternative methods that exclude the use of synthetic pesticides and ensure the environmentally safe protection of wheat from phytopathogens. According to literature, such methods involve biological means of protection, for example, biopesticides obtained by microbial synthesis [18]. Microorganisms in such preparations are capable of synthesizing a wide range of secondary metabolites that can control the development of infectious diseases in plants [19].

Biopesticides can be developed from extremophilic microorganisms. Their survival strategies in adverse environmental conditions are due to their unique qualities [20]. For example, some extremophiles are able

to secrete antibiotic substances to reduce the number of competing species [21]. However, their antagonistic activity is associated with not only antibiotics, but also certain enzymes. For example, *Pseudomonas* sp. isolated from marine sediments produced chitinase, an enzyme that significantly inhibited the development of phytopathogenic fungi [22]. Thus, high antagonistic activity makes extremophiles effective biocontrol agents.

We aimed to develop a consortium based on extremophilic microorganisms isolated from natural sources to protect *T. aestivum* L. from diseases caused by *Alternaria alternata* (F-525), *Fusarium graminearum*, PH-1 (F-877), *Fusarium graminearum* (F- 892), and *Fusarium sporotrichioides* T11 (F-902).

Study objects and methods

We studied the extremophilic bacteria previously isolated from natural sources [23].

Four of the isolates were identified before, while the remaining six were identified using a Vitek 2 Compact automatic microbiological analyzer (Biomerieux, France). For this, microorganisms were cultivated on Columbian blood agar (Himedia, India) for 48 h at 28°C. The resulting cultures were used to prepare suspensions with a McFarland density of 2.70–3.30 [24].

The antagonistic activity of the strains against bacterial cultures was tested on the model microorganism *Escherichia coli*. For this, isolates were grown in the MPB medium at 28°C for 48 h. Then, 1 mL of the culture liquid was centrifuged at 5000 rpm for 5 min, and the supernatant was removed. *E. coli* were inoculated into Petri dishes with a sterile MPA medium. Then, we cut out wells 6 mm in diameter and filled them with 50 µL of the supernatant. The dishes with the wells were placed in a thermostat and kept for 24 h at 28°C. The results were interpreted by measuring the diameter of inhibition zones [25].

The antagonistic activity of the isolates against the phytopathogenic fungi was assessed by the cross-culture method [26]. For this, we placed daily cultures of the isolates onto one side of Petri dishes with potato-glucose agar (Himedia, India) and agar blocks with the phytopathogenic fungi on the other side. The Petri dishes were kept in a thermostat at 28°C, and the inhibition zones were monitored after 3, 5, and 7 days. The control was the Petri dishes with the phytopathogen without the antagonist culture. Radial growth inhibition was calculated according to the formula as follows:

$$\text{Radial growth inhibition} = \left(1 - \left(\frac{dr}{ds} \right) \right) \times 100 \quad (1)$$

where dr is the diameter of the fungus mycelium in a Petri dish with the antagonist culture, mm; ds is the diameter of the fungus mycelium in the control, mm.

To create a consortium, we evaluated the biocompatibility of the most promising strains of microorganisms

by their co-cultivation. For this, pure cultures of the isolates were cultivated in MPB medium at 28°C for 48 h. Then, the culture liquid was centrifuged for 5 min at 5000 rpm. Isolate No. 1 was evenly applied onto a Petri dish with the MPA medium, and the supernatant of isolate No. 2 was added into wells 6 mm in diameter. The cultures were cultivated at 28°C for 24 h, followed by the monitoring of inhibition zones. This method was used for all the isolates [27].

The antagonistic activity of the consortia was assessed as described above.

To measure the consortia's ability to reduce the toxic effects of the phytopathogens on wheat (*Triticum aestivum* L.), the seeds were treated with a mixture of the consortium and the phytopathogen in a ratio of 1:1. Prior to this, the seeds were sterilized with a 5% sodium hypochlorite solution for 10 min, washed 5 times with sterile distilled water, and dried for 2 h in a sterile laminar box (Laminar Systems, Russia).

To infect the seeds, they were treated with a phytopathogen suspension (2.5×10^5) prepared by washing off the mycelium and spores of the fungus grown on slant agar at 28°C for 48 h. The seeds were soaked in the suspension for 2 h and then dried under sterile conditions. A consortium of microorganisms for treating the seeds was prepared in a similar way, with the isolates cultivated at 28°C. After the treatment, the seeds were dried and placed on Petri dishes with moistened filter paper discs (25 seeds per dish). The seeds were incubated in a climate chamber (Binder, Germany) at 25°C and 40% humidity. The control was the seeds that were not treated with the phytopathogens or the consortium [28].

Each experiment was performed in triplicate. Mathematical processing was carried out using the Microsoft Office software package.

Results and discussion

The biochemical identification was carried out for 6 microorganisms (Tables 1 and 2).

We identified isolate No. 1 as *Pantoea* sp. (95% probability), isolate No. 4 as *Leclercia* sp. (88% probability), isolate No. 5 as *Sphingomonas paucimobilis* (87% probability), isolate No. 7 as *Stenotrophomonas maltophilia* (86% probability), isolate No. 9 as *Lactobacillus plantarum* (99% probability), and isolate No. 10 as *Staphylococcus aureus* (85% probability).

In our previous studies, isolate No. 2 was identified as *Klebsiella oxytoca* (98% probability), isolate No. 3 as *Enterobacter aerogenes* (86% probability), isolate No. 6 as *Pseudomonas putida* (87% probability), and isolate No. 8 as *Bacillus megaterium* (88% probability).

Escherichia coli was used as a model microorganism to study the antimicrobial activity of the isolates (Fig. 1). Antimicrobial activity is an ability of microorganisms to produce substances that inhibit the development of other microorganisms. It can be used to prevent the growth

Table 1. Biochemical characteristics of gram-negative microorganisms

Таблица 1. Результаты исследования биохимических особенностей грамотрицательных микроорганизмов

No.	Substrate	Inoculate No.			
		1	4	5	7
1	Ala-Phe-Pro-arylamidase	–	–	–	+
2	Adonitol	–	+	–	–
3	L-pyrrolydonyl arylamidase	–	+	–	–
4	L-Arabitol	–	–	–	–
5	D-Cellobiose	+	+	+	–
6	Beta-galactosidase	+	+	+	–
7	H ₂ S	–	–	–	–
8	Beta-N-acetyl-glucosaminidase	–	+	–	+
9	Glutamyl arylamidase pNA	–	–	–	–
10	D-glucose	+	+	+	–
11	Gamma-glutamyl-transferase	+	–	–	+
12	Fermentation/glucose	+	+	–	–
13	Beta-glucosidase	–	+	+	+
14	D-maltose	+	+	–	–
15	D-mannitol	+	+	+	–
16	D-mannose	+	+	+	–
17	Beta-xylosidase	+	+	+	–
18	Beta-alanine arylamidase pNA	–	–	–	–
19	L-proline arylamidase	–	–	–	+
20	Lipase	–	–	–	+
21	Palatinose	–	–	–	–
22	Tyrosine arylamidase	–	–	+	+
23	Urease	–	–	–	–
24	D-sorbitol	+	–	–	–
25	Saccharose/sucrose	+	+	+	–
26	D-tagatose	–	–	+	–
27	D-trehalose	+	+	+	–
28	Citrate (sodium)	+	–	–	+
29	Malonate	–	–	–	+
30	5-keto-D-gluconate	–	–	–	–
31	L-Lactate alkalinisation	+	+	+	+
32	Alpha-glucosidase	–	–	–	+
33	Succinate alkalinisation	–	–	–	+
34	Beta-N-acetyl-galactosaminidase	–	+	–	–
35	Alpha-galactosidase	–	–	–	–
36	Phosphatase	+	–	–	+
37	Glycine arylamidase	–	–	+	–
38	Ornithine decarboxylase	–	–	–	–
39	Lysine decarboxylase	–	–	–	+
40	L-histidine assimilation	–	–	–	–
41	Coumarate	–	+	+	–
42	Beta-glucuronidase	–	–	–	–
43	O/129 resistance (comp. vibrio)	+	–	–	–
44	Glu-Gly-Arg-arylamidase	–	–	–	+
45	L-malate assimilation	+	–	–	–
46	ELLMAN	+	+	–	–
47	L-Lactate assimilation	–	–	–	–

Table 2. Biochemical characteristics of gram-positive microorganisms

Таблица 2. Результаты исследования биохимических особенностей грамположительных микроорганизмов

No.	Substrate	Inoculate No.	
		9	10
1	D-amydalin	+	–
2	Phosphatidylinositol phospholipase C	–	–
3	D-xylose	–	+
4	Arginine dihydrolase 1	–	+
5	Beta-galactosidase	–	–
6	Alpha-glucosidase	+	+
7	Ala-Phe-Pro Arylamidase	–	–
8	Cyclodextrin	–	–
9	L-Aspartate arylamidase	–	–
10	Beta galactopyranosidase	+	–
11	Alpha-mannosidase	–	–
12	Phosphatase	–	+
13	Leucine arylamidase	+	–
14	L-Proline arylamidase	–	+
15	Beta glucuronidase	–	–
16	Alpha-galactosidase	–	–
17	L-Pyrrolydonyl-arylamidase	–	–
18	Beta-glucuronidase	–	–
19	Alanine arylamidase	+	–
20	Tyrosine arylamidase	–	+
21	D-sorbitol	+	–
22	Urease	–	+
23	Polymixin b resistance	+	+
24	D-galactose	+	+
25	D-ribose	+	+
26	L-Lactate alkalization	–	+
27	Lactose	+	+
28	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+
29	D-maltose	+	+
30	Bacitracin resistance	+	+
31	Novobiocin resistance	+	–
32	Growth in 6.5% NaCl	+	–
33	D-mannitol	+	+
34	D-mannose	+	+
35	Methyl-B-D-Glucopyranoside	+	–
36	Pullulan	–	–
37	D-raffinose	+	–
38	O/129 Resistance (comp.vibrio.)	+	+
39	Salicin	+	–
40	Saccharose/sucrose	+	+
41	D-trehalose	+	+
42	Arginine dihydrolase 2	–	–
43	Optochin resistance	+	+

of pathogenic microflora in an area, especially in agriculture to increase the survival rate of plants [29, 30].

According to the results, 5 strains did not show any antimicrobial activity against *E. coli*, namely *K. oxytoca*, *S. paucimobilis*, *S. maltophilia*, *B. megaterium*, and *L. plantarum*. The inhibition zones of the other strains

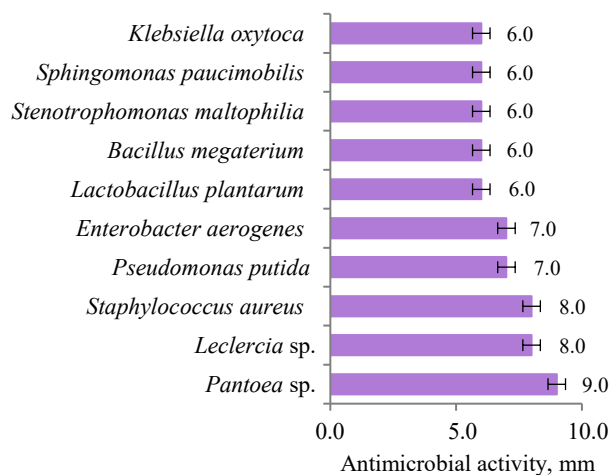


Figure 1. Antimicrobial activity of the isolated microorganisms

Рисунок 1. Результаты антимикробной активности выделенных микроорганизмов

varied from 1.0 to 3.0 mm. Since most of the microorganisms under study did not have bactericidal properties, further tests aimed to measure their antagonistic activity against fungal phytopathogens (Table 3).

As can be seen, the most promising antagonist strains were *E. aerogenes*, *Leclercia sp.*, *S. paucimobilis*, *B. megaterium*, and *L. plantarum*. The highest activity against the phytopathogenic fungi *Alternaria alternata* was shown by *Leclercia sp.* (31.3%), *S. paucimobilis* (33.7%), and *L. plantarum* (27.6%) on the 7th day of cultivation. The growth of *Fusarium graminearum* was inhibited by *B. megaterium* (26.8–28.0%) and *E. aerogenes* (31.2–32.3%). The highest antagonistic activity against the genus *Fusarium* (*F. graminearum* and *Fusarium sporotrichioides*) was observed in *Leclercia sp.* (51.0–54.8 and 63.0%, respectively), *S. paucimobilis* (68.4–70.8 and 58.5%, respectively), and *L. plantarum* (80.1–82.4 and 80.3%, respectively). Antagonistic activity against *A. alternata* was absent on the 7th day in *K. oxytoca* (3.5%), *Pantoea sp.* (7.3%), and *S. aureus* (9.4%). No inhibition zone was observed in *S. maltophilia*. The strain *Pantoea sp.* was not resistant to *F. sporotrichioides*. The microorganisms *K. oxytoca* and *S. maltophilia* showed low activity against *F. graminearum* (9.6–10.5%).

Most antagonist strains showed maximum activity against the phytopathogens on the 7th day of cultivation. However, the activity of some strains peaked on the 5th day of cultivation and remained at the same level, e.g., the activity of *Pantoea sp.* and *P. putida* against *A. alternata* (7.3 and 8.2%, respectively), or the antagonicity of *K. oxytoca* against *F. graminearum* PH-1 (F-877) (9.9%).

Our data are consistent with the results reported in modern scientific literature. For example, various

Table 3. Antagonistic activity of the isolated microorganisms against phytopathogenic fungi

Таблица 3. Результаты антагонистической активности выделенных микроорганизмов по отношению к фитопатогенным грибам

Antagonist strain	Incubation time, days	Strain of phytopathogen, %			
		<i>Alternaria alternata</i> (F-525)	<i>Fusarium graminearum</i> PH-1 (F-877)	<i>Fusarium graminearum</i> (F-892)	<i>Fusarium sporotrichioides</i> T11 (F-902)
<i>Pantoea</i> sp.	3	3.8 ± 0.1	10.0 ± 0.5	10.4 ± 0.5	0
	5	7.3 ± 0.2	12.1 ± 0.6	12.6 ± 0.6	0
	7	7.3 ± 0.2	14.6 ± 0.7	15.0 ± 0.8	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	0	8.4 ± 0.4	7.2 ± 0.4	11.4 ± 0.4
	5	2.8 ± 0.1	9.9 ± 0.5	9.1 ± 0.5	14.8 ± 0.5
	7	3.5 ± 0.1	9.9 ± 0.5	10.5 ± 0.5	15.3 ± 0.5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	4.5 ± 0.1	6.4 ± 0.3	10.0 ± 0.5	9.7 ± 0.3
	5	12.6 ± 0.4	18.4 ± 0.9	16.1 ± 0.8	16.2 ± 0.5
	7	16.2 ± 0.5	32.3 ± 1.6	31.2 ± 1.6	21.0 ± 0.6
<i>Leclercia</i> sp.	3	14.2 ± 0.5	30.4 ± 1.5	33.0 ± 1.7	29.7 ± 0.9
	5	18.6 ± 0.6	42.1 ± 2.1	39.6 ± 2.0	43.8 ± 1.3
	7	31.3 ± 1.0	54.8 ± 2.7	51.7 ± 2.6	63.0 ± 1.9
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	3	12.9 ± 0.4	36.0 ± 1.5	35.1 ± 1.1	27.6 ± 1.1
	5	21.5 ± 0.7	44.2 ± 1.9	53.9 ± 1.6	46.3 ± 1.8
	7	33.7 ± 1.1	68.4 ± 2.9	70.8 ± 2.2	58.5 ± 2.3
<i>Pseudomonas putida</i>	3	3.0 ± 0.1	15.7 ± 0.7	14.3 ± 0.4	0
	5	8.2 ± 0.3	17.0 ± 0.7	15.8 ± 0.5	3.8 ± 0.1
	7	8.2 ± 0.3	17.8 ± 0.8	16.1 ± 0.5	6.7 ± 0.2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	0	0	5.8 ± 0.2	15.0 ± 0.4
	5	0	2.7 ± 0.1	7.4 ± 0.2	17.2 ± 0.4
	7	0	10.2 ± 0.4	9.6 ± 0.3	21.4 ± 0.5
<i>Bacillus megaterium</i>	3	5.2 ± 0.2	7.6 ± 0.4	8.9 ± 0.3	2.5 ± 0.1
	5	8.6 ± 0.3	13.2 ± 0.6	17.3 ± 0.5	11.4 ± 0.4
	7	17.8 ± 0.6	26.8 ± 1.2	28.0 ± 0.9	15.9 ± 0.6
<i>Lactobacillus plantarum</i>	3	12.7 ± 0.4	48.3 ± 2.2	52.1 ± 3.1	50.0 ± 2.8
	5	20.4 ± 0.7	75.1 ± 3.5	74.9 ± 4.5	71.8 ± 4.0
	7	27.6 ± 0.9	82.4 ± 3.8	80.1 ± 4.9	80.3 ± 4.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	2.8 ± 0.1	11.3 ± 0.5	11.9 ± 0.2	0
	5	5.0 ± 0.2	15.8 ± 0.7	14.7 ± 0.3	6.4 ± 0.2
	7	9.4 ± 0.3	18.1 ± 0.8	19.0 ± 0.4	13.1 ± 0.5

strains of the genus *Bacillus* have been reported to have antagonistic activity against the genus *Alternaria*. Panebianco *et al.* found that the epiphytes *Bacillus cereus* 6C, *Bacillus licheniformis* 4L, *Bacillus thuringiensis* 18D, and *Bacillus velezensis* 23A isolated from PGI Pachino tomatoes inhibited the development of *A. alternata* under the conditions of artificial infection [31]. The L2 strain of *B. megaterium* inhibited the sporulation (by 96.02%) and growth of the mycelium of this phytopathogen [32].

The genus *Pseudomonas* has been reported to suppress *Alternaria*. According to Gupta *et al.*, *Pseudomonas fluorescens* exhibited antimicrobial properties against *Alternaria brassicae* [33]. In addition, the isolate stimulated the growth of agricultural crops.

High antimicrobial activity of *S. maltophilia* against *Alternaria* was observed by Jankiewicz *et al.* [34]. According to the authors, it was due to the release of an

active chitinolytic enzyme belonging to the family of 18 glycosyl hydrolases into the substrate. *S. maltophilia* also showed antagonicity against the fungal phytopathogens *Rhizoctonia* and *Fusarium*.

Bacteria of the genus *Pseudomonas* have been reported to exhibit antagonistic activity against phytopathogens of the genus *Fusarium*. For example, Chavéz-Díaz *et al.* described the ability of three *Pseudomonas* isolates from the rhizosphere of Mexican maize to inhibit the growth of the phytopathogen mycelium and increase the rate of seed germination [35]. The seedlings treated with the isolates had a more developed root system and aerial part. Literature also reports the effective inhibition of *Fusarium* by a strain of *L. plantarum*. This microorganism is able to colonize wheat ears and suppress fungal diseases, increasing the nutritional properties of the grain [36]. *Pantoea* sp. and *Enterobacter* sp. were also found to reduce the impact

of the *Fusarium* phytopathogens on the root system of cultivated plants, both in greenhouse and field conditions [37].

Thus, the microorganisms that we isolated in this study have great potential in the fight against phytopathogens.

To create consortia, we evaluated the biocompatibility of the isolates (Table 4).

We found that the strain *E. aerogenes* was not compatible with *Leclercia* sp., *S. paucimobilis*, and *L. plantarum*, as it suppressed their growth. The strain *Leclercia* sp. had a positive effect on the growth of *S. paucimobilis* and *L. plantarum*. *S. paucimobilis* metabolites inhibited the growth of *E. aerogenes* and *B. megaterium*, while *Leclercia* sp. and *L. plantarum* contributed to their active growth. The microorganism *B. megaterium* was only compatible with *S. paucimobilis*. *L. plantarum* metabolites adversely affected the growth of *E. aerogenes* and *B. megaterium*. Based on the results, we selected those strains that did not exhibit antagonistic activity against each other, namely *Leclercia* sp., *S. paucimobilis*, and *L. plantarum*. We created four variants of consortia based on these strains (Table 5).

The antagonistic activity of the consortia against the phytopathogenic fungi of the genera *Alternaria* and *Fusarium* are shown in Table 6.

As can be seen, consortium B showed high antagonistic activity against the phytopathogenic fungi. In particular, the area free of *A. alternata* increased by 4.2% in relation to the average value achieved by individual microorganisms in the consortium. Consortium B's activity against the genus *Fusarium* increased by an average of 20.2% on the 7th day of cultivation. Consortium A, however, showed low antagonistic activity on the 7th day against *A. alternata* and *F. graminearum* (F-892), with 9.4 and 5.2% below the average,

respectively. Consortium C's activity against *A. alternata* and *F. graminearum* PH-1 (F-877) decreased by 2.2 and 7.6%, respectively. Moreover, its activity against *F. sporotrichioides* was the lowest among the consortia under study, amounting to 48.0% (19.3% lower than the average value). Consortium D showed low antagonistic activity against the fungi of the genus *Fusarium*. In particular, the area free of *F. graminearum* PH-1 (F-877) and *F. graminearum* (F-892) decreased by 16.2 and 14.6%, respectively. All the consortia showed maximum activity against phytopathogens on the 7th day of cultivation.

Table 7 shows the consortia's ability to inhibit the phytopathogenic effect on wheat. When the seeds were treated by both the consortium and the phytopathogens, their germination varied within 73.2–99.6%. The consortia showed the strongest effect against *F. graminearum* PH-1 (F-877).

As can be seen, consortium B had the highest phytostimulating effect, with an average of 24.8 germinated seeds, while consortium A had the lowest phytostimulating effect, with an average of 21 germinated seeds. Consortium B had the greatest effect on wheat seedlings, contributing to a 10.5% higher average coleoptile length than in the control samples. However, when the seeds were inoculated with consortium A, the average coleoptile length was 39.1 mm, i.e., 1.5% shorter than in the control. Treating the seeds with consortium B increased the total length of the seedling roots by 7.2% compared to the control (treated with water). Consortium D, however, decreased this indicator by 1.9% compared to the control, leading to an average length of 185.9 mm. The smallest number of roots per plant was provided by consortia C and D (1.15 and 1.16% below the control, respectively). Consortium B, however, increased the average number of roots 1.13 times compared to the control.

Table 4. Biocompatibility of the isolated microorganisms

Таблица 4. Результаты исследования биосовместимости выделенных микроорганизмов

Strain	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Leclercia</i> sp.	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>		–	–	+	–
<i>Leclercia</i> sp.	–		+	–	+
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	–	+		–	+
<i>Bacillus megaterium</i>	–	–	+		–
<i>Lactobacillus plantarum</i>	–	+	+	–	

Table 5. Composition of consortia

Таблица 5. Состав консорциумов микроорганизмов

Consortium	Composition of consortium
Consortium A	<i>Leclercia</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> in a ratio of 1:1:1
Consortium B	<i>Leclercia</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> in a ratio of 2:1:1
Consortium C	<i>Leclercia</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> in a ratio of 1:2:1
Consortium D	<i>Leclercia</i> sp., <i>Sphingomonas paucimobilis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> in a ratio of 1:1:2

Table 6. Antagonistic activity of the isolated microorganisms against phytopathogenic fungi

Таблица 6. Результаты антагонистической активности выделенных микроорганизмов по отношению к фитопатогенным грибам

Consortium	Day	Strain of phytopathogen, %			
		<i>Alternaria alternata</i> (F-525)	<i>Fusarium graminearum</i> PH-1 (F-877)	<i>Fusarium graminearum</i> (F-892)	<i>Fusarium sporotrichioides</i> T11 (F-902)
Consortium A	3	12.9 ± 0.4	42.2 ± 1.4	42.8 ± 1.4	40.1 ± 1.3
	5	17.0 ± 0.5	60.8 ± 2.0	59.3 ± 2.0	49.1 ± 1.6
	7	21.5 ± 0.7	69.0 ± 2.3	62.3 ± 2.1	70.2 ± 2.3
Consortium B	3	15.2 ± 0.5	50.9 ± 1.5	53.1 ± 1.8	55.3 ± 1.9
	5	26.4 ± 0.8	76.9 ± 2.3	75.6 ± 2.6	73.2 ± 2.5
	7	35.1 ± 1.1	90.2 ± 2.7	87.6 ± 3.0	86.2 ± 3.0
Consortium C	3	13.4 ± 0.4	37.2 ± 1.2	36.5 ± 1.1	34.6 ± 1.0
	5	19.9 ± 0.6	55.4 ± 1.7	50.0 ± 1.5	41.5 ± 1.3
	7	28.7 ± 0.8	60.9 ± 1.9	67.8 ± 2.1	48.0 ± 1.5
Consortium D	3	10.8 ± 0.4	35.0 ± 1.2	32.4 ± 1.0	38.1 ± 1.2
	5	18.3 ± 0.6	48.2 ± 1.7	48.0 ± 1.6	55.7 ± 1.8
	7	31.2 ± 1.0	52.3 ± 1.9	52.9 ± 1.7	60.3 ± 1.9

Table 7. Growth of wheat treated with consortia and phytopathogenic fungi

Таблица 7. Показатели роста пшеницы, обработанной консорциумами и фитопатогенными грибами

Treatment	Average number of germinated seeds, pcs	Average coleoptile length, mm	Total length of seedling roots, mm	Average number of roots per plant, pcs
<i>Alternaria alternata</i> (F-525)				
Consortium A	19.2 ± 1.4	39.1 ± 1.8	187.4 ± 9.5	3.8 ± 0.3
Consortium B	24.8 ± 1.9	48.3 ± 2.6	190.1 ± 10.2	3.9 ± 0.4
Consortium C	22.0 ± 1.6	40.8 ± 2.1	197.1 ± 10.1	3.5 ± 0.2
Consortium D	24.2 ± 1.5	45.6 ± 2.2	201.3 ± 10.9	3.3 ± 0.2
<i>Fusarium graminearum</i> (F-877) PH-1				
Consortium A	24.2 ± 1.3	46.7 ± 2.3	206.2 ± 10.2	4.1 ± 0.3
Consortium B	24.9 ± 2.0	45.1 ± 2.5	215.6 ± 10.5	4.0 ± 0.2
Consortium C	23.9 ± 1.2	41.2 ± 2.1	186.2 ± 10.3	3.0 ± 0.1
Consortium D	21.4 ± 2.1	43.3 ± 2.2	179.7 ± 9.6	3.4 ± 0.1
<i>Fusarium graminearum</i> (F-892)				
Consortium A	20.1 ± 1.8	36.4 ± 1.9	179.2 ± 9.6	3.9 ± 0.4
Consortium B	24.6 ± 2.3	37.2 ± 2.4	210.6 ± 10.2	4.3 ± 0.5
Consortium C	23.1 ± 1.2	41.3 ± 2.3	201.4 ± 9.5	3.4 ± 0.4
Consortium D	20.2 ± 1.6	38.3 ± 2.1	195.1 ± 10.2	3.2 ± 0.2
<i>Fusarium sporotrichioides</i> (F-902) T11				
Consortium A	20.5 ± 1.6	34.2 ± 1.9	195.7 ± 9.7	4.1 ± 0.3
Consortium B	24.9 ± 2.1	44.9 ± 2.1	200.2 ± 9.4	5.1 ± 0.2
Consortium C	21.8 ± 1.8	40.1 ± 1.9	210.4 ± 10.3	3.3 ± 0.1
Consortium D	18.3 ± 1.7	35.1 ± 1.8	167.3 ± 9.4	3.2 ± 0.1
Control				
Without treatment	24.7 ± 2.1	39.7 ± 2.5	189.4 ± 10.17	3.8 ± 0.1

Figure 2 shows the seedlings treated with consortium B and *F. graminearum* (F-892), as well as the control sample without this treatment.

Noteworthy, we found no visual morphometric defects in any of the wheat samples treated with the consortia. The sprouts had a uniform color that did not differ from that of the control samples (untreated with the consortia and phytopathogens).

Conclusion

We identified six extremophilic microorganisms and studied the antagonistic activity of ten isolates against the model bacterium *Escherichia coli*. The samples showed low bactericidal properties. Next, we studied their activity against phytopathogenic fungi such as *Alternaria alternata* (F-525), *Fusarium graminearum* PH-1 (F-877), *Fusarium graminearum* (F-892), and *Fusarium*

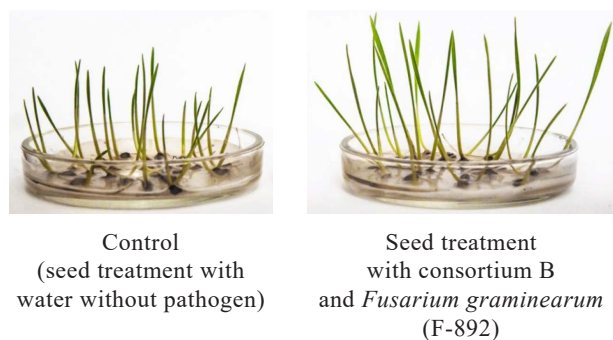


Figure 2. Wheat seedlings treated with consortium B and *Fusarium graminearum* (F-892)

Рисунок 2. Внешний вид проростков пшеницы, обработанных консорциумом В и *Fusarium graminearum* (F-892)

sporotrichioides T11 (F-902). According to the results, the most promising antagonist strains were *Enterobacter aerogenes*, *Leclercia* sp., *Sphingomonas paucimobilis*, *Bacillus megaterium*, and *Lactobacillus plantarum*. We also found that most of the antagonist strains showed maximum activity on the 7th day of cultivation. The isolates were then tested for biocompatibility to form consortia. As a result, we selected those strains that did not exhibit antagonistic properties against each other, namely *Leclercia* sp., *S. paucimobilis*, and *L. plantarum* in the ratios of 1:1:1, 2:1:1, 1:2:1, and 1:1:2 (consortia A, B, C, and D, respectively). The consortia were tested for

antagonistic activity against the phytopathogenic fungi. We found that consortium B, which consisted of *Leclercia* sp., *S. paucimobilis*, and *L. plantarum* in a ratio of 2:1:1, increased the antagonistic properties of its individual microorganisms. Also, this consortium had a phytostimulating effect on wheat seeds, increasing the average coleoptile length by 10.5% compared to the control and contributing to an average germination rate of 24.8 seeds. In addition, the joint treatment of seeds with the consortium and the phytopathogens did not cause any visual morphometric defects in wheat. Thus, this consortium proved highly effective in protecting wheat from *Alternaria* and *Fusarium* pathogens.

Contribution

The authors were equally involved in writing the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest regarding this publication.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в данной публикации.

References/Список литературы

1. Sabouri H, Kazerani B, Fallahi HA, Dehghan MA, Alegh SM, Dadras AR, *et al.* Association analysis of yellow rust, fusarium head blight, tan spot, powdery mildew, and brown rust horizontal resistance genes in wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2022;118. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101808>
2. Drakopoulos D, Kägi A, Six J, Zorn A, Wettstein FE, Bucheli TD, *et al.* The agronomic and economic viability of innovative cropping systems to reduce Fusarium head blight and related mycotoxins in wheat. *Agricultural Systems*. 2021;192. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2021.103198>
3. Shude SPN, Mbili NC, Yobo KS. Epiphytic yeasts as potential antagonists against Fusarium head blight of wheat (*Triticum aestivum* L.) caused by *Fusarium graminearum sensu stricto*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2022;21(6):404–411. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.11.001>
4. Zhang D, Chen G, Zhang H, Jin N, Gu C, Weng S, *et al.* Integration of spectroscopy and image for identifying fusarium damage in wheat kernels. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2020;236. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118344>
5. Martínez M, Biganzoli F, Arata A, Dinolfo MI, Rojas D, Cristos D, *et al.* Warm nights increase Fusarium Head Blight negative impact on barley and wheat grains. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2022;318. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2022.108909>
6. Gagkaeva TYu, Gavrilova OP, Orina AS. First detection of *Fusarium globosum* in small grain cereals on Ural and Siberian territory. *Plant Protection News*. 2019;99(1):10–18. (In Russ.). [https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-10-18](https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-10-18)
7. Asan-Ozusaglam M, Celik I. White pitahaya as a natural additive: potential usage in cosmetic industry. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):57–63. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-552>
8. Wegulo SN, Baenziger PS, Nopsa JH, Bockus WW, Hallen-Adams H. Management of Fusarium head blight of wheat and barley. *Crop Protection*. 2015;73:100–107. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.025>

9. da Cruz Cabral L, Delgado J, Patriarca A, Rodríguez A. Differential response to synthetic and natural antifungals by *Alternaria tenuissima* in wheat simulating media: Growth, mycotoxin production and expression of a gene related to cell wall integrity. *International Journal of Food Microbiology*. 2019;292:48–55. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.005>
10. Somma S, Amatulli MT, Masiello M, Moretti A, Logrieco AF. *Alternaria* species associated to wheat black point identified through a multilocus sequence approach. *International Journal of Food Microbiology*. 2019;293:34–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.001>
11. Guler GO, Cakmak YS, Dagli Z, Aktumsek A, Ozparlak H. Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48(5):1218–1221. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.02.013>
12. Syed-Ab-Rahman SF, Singh E, Pieterse CMJ, Schenk PM. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*. 2018;262:102–111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>
13. Choe SG, Maeng HR, Pak SJ, U SN. Production of *Bacillus thuringiensis* biopesticide using penicillin fermentation waste matter and application in agriculture. *Journal of Natural Pesticide Research*. 2022;2. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2022.100012>
14. Ajayi FF, Ogori AF, Orede VO, Peter E. Synergistic effect of *Balanites aegyptiaca* essential oil and storage materials on cowpea seeds. *Foods and Raw Materials*. 2022;10(2):353–364. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-545>
15. Lu C, Yang Z, Liu J, Liao Q, Ling W, Waigi MG, et al. Chlorpyrifos inhibits nitrogen fixation in rice-vegetated soil containing *Pseudomonas stutzeri* A1501. *Chemosphere*. 2020;256. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127098>
16. Walder F, Schmid MW, Riedo J, Valzano-Held AY, Banerjee S, Büchi L, et al. Soil microbiome signatures are associated with pesticide residues in arable landscapes. *Soil Biology and Biochemistry*. 2022;174. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108830>
17. Tao Y, Jia C, Jing J, Zhang J, Yu P, He M, et al. Occurrence and dietary risk assessment of 37 pesticides in wheat fields in the suburbs of Beijing, China. *Food Chemistry*. 2021;350. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129245>
18. Mrid RB, Benmrid B, Hafsa J, Boukcim H, Sobeh M, Yasri A. Secondary metabolites as biostimulant and bio-protectant agents: A review. *Science of the Total Environment*. 2021;777. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146204>
19. Nysanth NS, Divya S, Nair CB, Anju AB, Praveena R, Anith KN. Biological control of foot rot (*Phytophthora capsici* Leonian) disease in black pepper (*Piper nigrum* L.) with rhizospheric microorganisms. *Rhizosphere*. 2022;23. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100578>
20. Santos AP, Muratore LN, Solé-Gil A, Fariás ME, Ferrando A, Blázquez MA, et al. Extremophilic bacteria restrict the growth of *Macrophomina phaseolina* by combined secretion of polyamines and lytic enzymes. *Biotechnology Reports*. 2021;32. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00674>
21. Giudice AL, Fani R. Antimicrobial potential of cold-adapted bacteria and fungi from Polar Regions. In: Rampelotto PH, editor. *Biotechnology of extremophiles: Advances and challenges*. Cham: Springer; 2016. pp. 83–115. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13521-2_3
22. Liu K, Ding H, Yu Y, Chen B. A cold-adapted chitinase-producing bacterium from Antarctica and its potential in biocontrol of plant pathogenic fungi. *Marine Drugs*. 2019;17(12). <https://doi.org/10.3390/md17120695>
23. Milentyeva IS, Fotina NV, Zharko MYu, Proskuryakova LA. Microbial treatment and oxidative stress in agricultural plants. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(4):750–761. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2403>
24. Voitenkova EV, Matveeva ZN, Makarova MA, Egorova SA, Zabrovskaia AV, Suzhaeva LV, et al. Difficulties in identification of *Comamonas kerstersii* strains isolated from intestinal microbiota of residents of Republic of Guinea and Russian Federation. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2018;8(2):164–168. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-2-163-168>
25. Khalil T, Oklab MK, Al-Qahtanic WH, Alia F, Zahrad M, Shakeela Q, et al. Tracing probiotic producing bacterial species from gut of buffalo (*Bubalus bubalis*), South-East-Asia. *Brazilian Journal of Biology*. 2022;84. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.259094>
26. Sornakili A, Thankappan S, Sridharan AP, Nithya P, Uthandi S. Antagonistic fungal endophytes and their metabolite-mediated interactions against phytopathogens in rice. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2020;112. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2020.101525>
27. Mahar A, Wang P, Ali A, Awasthi MK, Lahori AH, Wang Q, et al. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2016;126:111–121. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.023>
28. Goswami M, Deka S. Isolation of a novel rhizobacteria having multiple plant growth promoting traits and antifungal activity against certain phytopathogens. *Microbiological Research*. 2020;240. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126516>
29. Gorbunov MYu, Mrachkovskaya AN. The use of growth stimulants to increase the commercial yield of petunia seedlings. *Trends in the Development of Science and Education*. 2018;(35–4):60–62. (In Russ.). <https://doi.org/10.18411/lj-28-02-2018-70>

30. Asyakina LK, Dyshlyuk LS, Prosekov AYu. Reclamation of post-technological landscapes: International experience. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):805–818. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-805-818>
31. Panebianco S, Lombardo MF, Anzalone A, Musumarra A, Pellegriti MG, Catara V, *et al.* Epiphytic and endophytic microorganisms associated to different cultivar of tomato fruits in greenhouse environment and characterization of beneficial bacterial strains for the control of post-harvest tomato pathogens. International Journal of Food Microbiology. 2022;379. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109861>
32. Xie Z, Li M, Wang D, Wang F, Shen H, Sun G, *et al.* Biocontrol efficacy of *Bacillus siamensis* LZ88 against brown spot disease of tobacco caused by *Alternaria alternata*. Biological Control. 2021;154. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104508>
33. Gupta S, Didwania N, Singh D. Biological control of mustard blight caused by *Alternaria brassicae* using plant growth promoting bacteria. Current Plant Biology. 2020;23. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100166>
34. Jankiewicz U, Brzezinska MS, Saks E. Identification and characterization of a chitinase of *Stenotrophomonas maltophilia*, a bacterium that is antagonistic towards fungal phytopathogens. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2012;113(1):30–35. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.08.023>
35. Chavéz-Díaz IF, Cruz-Cárdenas CI, Sandoval-Cancino G, Calvillo-Aguilar FF, Ruíz-Ramírez S, Blanco-Camarillo M, *et al.* Seedling growth promotion and potential biocontrol against phytopathogenic *Fusarium* by native rhizospheric *Pseudomonas* spp. strains from Amarillo Zamorano maize landrace. Rhizosphere. 2022;24. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100601>
36. Baffoni L, Gaggia F, Dalanaj N, Prodi A, Nipoti P, Pisi A, *et al.* Microbial inoculants for the biocontrol of *Fusarium* spp. in durum wheat. BMC Microbiology. 2015;15. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0573-7>
37. Wang L-Y, Xie Y-S, Cui Y-Y, Xu J, He W, Chen H-G, *et al.* Conjunctively screening of biocontrol agents (BCAs) against fusarium root rot and fusarium head blight caused by *Fusarium graminearum*. Microbiological Research. 2015;177:34–42. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.05.005>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2458>
<https://elibrary.ru/QXNIPR>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Разработка технологии функциональных хлебобулочных изделий



О. А. Ладнова^{1,*}, С. Я. Корячкина²,
В. П. Корячкин², Л. С. Большакова¹

¹ Среднерусский институт управления – филиал РАНХиГС, Орел, Россия

² Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева , Орел, Россия

Поступила в редакцию: 29.12.2022

Принята после рецензирования: 28.04.2023

Принята к публикации: 02.05.2023

*О. А. Ладнова: ladnovaol@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4747-7116>

С. Я. Корячкина: <https://orcid.org/0000-0003-0481-4936>

В. П. Корячкин: <https://orcid.org/0000-0002-5379-5586>

Л. С. Большакова: <https://orcid.org/0000-0003-4074-4461>

© О. А. Ладнова, С. Я. Корячкина, В. П. Корячкин,
Л. С. Большакова, 2023



Аннотация.

Семена гороха (*Pisum sativum* L.) богаты белком, пищевыми волокнами (клетчатка, гемицеллюлоза, пектины), витаминами группы В и другими веществами. Белки гороха удовлетворяют почти всем требованиям аминокислотного состава эталонного белка. Лимитирующими аминокислотами белка гороха являются серосодержащие (метионин и цистеин), также горох богат лизином – лимитирующей аминокислотой для пшеничной муки. Использование продуктов переработки гороха может способствовать расширению ассортимента высокобелковых продуктов питания массового спроса, в том числе хлебобулочных изделий. Цель работы – разработка технологии хлеба функционального назначения из смеси цельносмолотой муки семян гороха и глютена пшеничного.

Объектами исследования являлись мука пшеничная хлебопекарная, глютен пшеничный, мука цельносмолотая из семян гороха сортов San Cipriano и Вега, образцы теста и готового хлеба. Состояние углеводно-амилазного комплекса муки определяли на приборе Амилотест АТ-97, содержание крахмала – поляриметрическим методом, белка в муке – спектрофотометрическим, в хлебе – методом Кьельдаля. Реологические свойства теста исследовали на вискозиметре Реотест-2. Органолептическую оценку качества хлеба проводили экспертным методом, а химический состав – расчетно-аналитическим.

Исследования показали, что цельносмолотая мука из семян гороха обладала меньшей вязкостью крахмального геля по сравнению с пшеничной мукой. Увеличение дозировки муки при замесе теста приводило к повышению его вязкости. Применение цельносмолотой муки из семян гороха, имеющей высокую кислотность (7,2 и 9,4 град. для муки из гороха сортов San Cipriano и Вега соответственно) и автолитическую активность («число падения» ниже 80 с), позволяет сократить технологический процесс на 115 и 145 мин и получить хлеб с хорошими физико-химическими и органолептическими показателями качества. Благодаря применению высокобелкового сырья в хлебе повышалось содержание белка на 41,9–46,4 % по сравнению с контрольным образцом. Это позволяет удовлетворить суточную потребность в белке на 33,1–34,2 % при употреблении 100 г хлеба.

В работе обосновали ускоренную технологию хлеба функционального назначения из смеси цельносмолотой муки семян высокобелковых сортов гороха San Cipriano и Вега и пшеничного глютена при соотношении 20/80 и 30/70 соответственно.

Ключевые слова. Мука, горох, белок, глютен, белковый хлеб, функциональные продукты, пищевая ценность, обогащение

Для цитирования: Разработка технологии функциональных хлебобулочных изделий / О. А. Ладнова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 576–590. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2458>

New Technology of Functional Bakery Products



Olga L. Ladnova^{1,*}, Svetlana Ya. Koryachkina²,
Vladimir P. Koryachkin², Larisa S. Bolshakova¹

¹ Central Russian Institute of Management – Branch of RANEPA, Orel, Russia

² I.S. Turgenev Orel State University , Orel, Russia

Received: 29.12.2022

Revised: 28.04.2023

Accepted: 02.05.2023

*Olga L. Ladnova: ladnovaol@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4747-7116>

Svetlana Ya. Koryachkina: <https://orcid.org/0000-0003-0481-4936>

Vladimir P. Koryachkin: <https://orcid.org/0000-0002-5379-5586>

Larisa S. Bolshakova: <https://orcid.org/0000-0003-4074-4461>

© O.L. Ladnova, S.Ya. Koryachkina, V.P. Koryachkin,
L.S. Bolshakova, 2023



Abstract.

Peas (*Pisum sativum* L.) are rich in protein, B vitamins, and dietary fiber, represented by hemicellulose and pectins. In terms of amino acids, pea proteins are as close to the reference protein as possible. The limiting amino acids of pea protein are sulfur-containing, i.e., methionine and cysteine. Peas are also rich in lysine, which is the limiting amino acid for wheat flour. Therefore, products of pea processing can expand the range of commercial high-protein foods, including functional bakery products. The research objective was to develop a technology for functional bread from a mix of wholemeal pea flour and wheat gluten.

The study featured baking wheat flour, wheat gluten, wholemeal pea flour of San Cipriano and Vega varieties, dough samples, and ready-made bread. The carbohydrate-amylase complex of flour was studied using an Amilotest AT-97 device. The starch content was determined by the polarimetric method. The spectrophotometric method served to test the flower samples for protein while the Kjeldahl method was applied to the bread samples. The rheological properties of the dough were studied on a Reotest 2 viscometer. The sensory evaluation relied on a panel of experts, and the chemical composition was revealed by calculation and analytically.

The wholemeal pea flour had a lower starch gel viscosity compared to the wheat flour sample. A greater amount of flour added during kneading increased the viscosity of the resulting dough. The acidity was rather high: 7.2 and 9.4 degrees for San Cipriano and Vega samples, respectively, and so was the autolytic activity (≤ 80 s). These useful qualities made it possible to reduce the technological process by 115 and 145 min. The resulting bread demonstrated good physical, chemical, and sensory indicators. The high-protein raw materials increased the protein content in bread by 41.9–46.4%, compared to the control sample, which equaled 33.1–34.2% of the recommended daily intake per 100 g of bread.

The optimal ratio of wholemeal high-protein pea flour and wheat gluten was 20/80 for the San Cipriano samples and 30/70 for the Vega variety.

Keywords. Flour, peas, protein, gluten, protein bread, functional foods, nutritional value, fortification

For citation: Ladnova OL, Koryachkina SYa, Koryachkin VP, Bolshakova LS. New Technology of Functional Bakery Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):576–590. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2458>

Введение

Недостаток белка в организме человека приводит к нарушению его нормальной жизнедеятельности и серьезным последствиям, таким как замедление роста и развития у детей, изменения в печени, нарушение деятельности желез внутренней секреции, изменение гормонального фона у взрослых. Часто белковая недостаточность сопровождается авитаминозом (дефицитом витаминов В₁₂, А и D), поэтому ликвидация дефицита пищевого белка является основной

задачей при организации здорового питания населения. Введение белков в рацион удлиняет процесс усвоения углеводов и снижает суммарный гликемический индекс потребляемой пищи, что позволяет без скачков инсулина длительное время поддерживать достаточный уровень сахара в крови. Это важно в питании больных сахарным диабетом. Повышенное содержание белков в питании оказывает положительное влияние при лечении ожирения и профилактики перееданий [1, 2].

Острой является проблема дефицита белка в развивающихся странах, имеющих низкий доход граждан и высокую плотность населения. Это актуально для большинства стран Африки, Индии, Китая и связано с ростом численности населения и дефицитом белка, особенно животного происхождения. Мировое производство животного белка в 4 раза меньше потребности в нем, а общий дефицит белка составляет 10–25 млн т год [3–5].

Значение белков в физиологии питания зависит от возраста человека: для каждой возрастной группы характерна определенная ежедневная средняя потребность в белках. У детей она составляет примерно 2 г белка на 1 кг массы тела, у взрослых – примерно 0,8 г, а у пожилых людей – около 1,2 г. Изучение питания детей дошкольного и школьного возрастов показывает, что, несмотря на наличие в рационе всех макро- и микронутриентов и соответствие энергетической ценности возрасту детей, питание не является оптимальным. Наблюдается недостаток витаминов группы А, В и Е, дисбаланс белков и жиров, нарушение режима питания и зависимость от социальной среды. Основными источниками нутриентов и энергии служат кондитерские изделия, сахар и жиры (37–44 % энергии); хлеб, крупы и мука обеспечивают 21–25 % энергии; молоко и молочные продукты в младшем школьном возрасте обеспечивают 15 %, вдвое меньше у старшеклассников; мясо, птица и рыба у старшеклассников составляет 15–17 %, меньше в дошкольной возрастной группе; доля овощей и фруктов минимальна в каждой возрастной группе (3–6 %) [6].

Основные проблемы, связанные с питанием пожилых, характеризуются неполным сбалансированием: в питании присутствует много простых углеводов, замещающих белки, что вместе с возрастными изменениями в обмене веществ приводит к избыточному весу и способствует развитию заболеваний (повышенное артериальное давление, высокий уровень холестерина, заболевания желудочно-кишечного тракта) [7].

Высокобелковые продукты являются актуальными в питании спортсменов. Эта категория населения отличается более высокими потребностями в основных пищевых веществах и энергии, в отличие от лиц, не занимающихся спортом. Например, в период чрезмерных физических нагрузок суточные энерготраты спортсменов достигают 5000–6000 ккал, в отдельных случаях 10 000 ккал в сутки, а потребность в белках может изменяться от 1,6 до 2,9 г/кг массы тела в сутки. Эти различия связаны с особенностями спортивной специализации (вид спорта), периодов подготовки и интенсивности тренировок [8]. Такие затраты невозможно восполнить с помощью традиционного питания, поэтому следует включать в рацион питания продукты, обладающие высокой усвояемостью и содержащие незаменимые аминокислоты.

Традиционным источником сбалансированного белка считаются молочные белки. При производстве продуктов для спортивного питания применяют соевый белок, яичный альбумин и белок сухой пшеничной клейковины [9–12].

В хлебопекарной промышленности для выработки как массовых, так и диетических хлебобулочных изделий применяют сухую пшеничную клейковину. Ее добавляют в количестве 1–3 % в качестве улучшителя к муке пониженного качества для повышения структурно-механических свойств мякиша хлебобулочных изделий из целого зерна, а также при производстве продукции диетического и лечебного питания (белково-пшеничный, белково-отрубный, зерновой хлеб и т. д.) [13].

Перспективным сырьем в качестве источника белка являются семена гороха посевного (*Pisum sativum* L.) – одного из старейших растений, культивируемых человеком. В зависимости от хозяйственного назначения выращивают как кормовую, овощную и зерновую культуры, так и сидеральную. Семена овощного гороха могут иметь гладкую или морщинистую поверхность. Семена с гладкой поверхностью имеют шаровидные зерна крахмала с правильными очертаниями, а морщинистые – круглые или звездчатые, при этом морщинистые сорта беднее крахмалом, но богаче белком. Цвет семян определяется семядолями и варьируется от желтого до темно-зеленого.

Содержание белка у сортов различных морфотипов гороха варьируется в широких пределах: от 22,3 до 28,9 %. Наибольший процент белка отмечен в зерне сортов Изумруд, Вега и San Cipriano с морщинистыми семенами. Белки из семян гороха удовлетворяют почти всем требованиям аминокислотного состава эталонного белка. Полноценность белков из семян гороха лимитирована серосодержащими аминокислотами (метионин и цистеин), также горох богат лизином, который является лимитирующей аминокислотой для пшеничной муки. По данным многих авторов, семена гороха являются богатым источником пищевых волокон, представленных на 50 % клетчаткой, 20–25 % гемицеллюлозой, до 17 % пектинами и витаминами группы В [14–16]. Зерно гороха содержит от 2 до 10 % резистентного крахмала в зависимости от сорта, условий и региона выращивания. Крахмал из семян гороха подвержен ретроградации в процессе их обработки и хранения, поэтому относится к более устойчивым крахмалам (RS3), который легко усваивается и способствует низкому гликемическому индексу [17].

Важную роль в оценке питательности семян гороха играет наличие в них ингибиторов, снижающих усвояемость белков, аминокислот и минеральных веществ: трипсина и танинов, а также фитатов и лектинов, имеющих антипитательные свойства [18–20]. Однако воздействие высоких температур снижает

отрицательное воздействие этих веществ [21]. Поэтому применение муки из семян гороха в технологии хлебобулочных изделий с целью обогащения их белком является актуальным.

Разработаны технологии хлебобулочных, кондитерских и макаронных изделий с использованием продуктов переработки гороха, но недостаточно уделено внимания применению цельносмолотой муки из семян гороха определенных высокобелковых сортов в технологии хлебобулочных изделий функционального назначения [22–27].

Цель работы – разработка технологии функционального хлеба из цельносмолотой муки семян гороха сортов San Cipriano и Вега и глютена пшеничного.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта, цельносмолотая мука из семян гороха морщинистых сортов San Cipriano и Вега, глютен пшеничный марки А (ГОСТ 31934-2012), а также тесто и выпеченные хлебобулочные изделия, рецептуры приготовления которых представлены в таблице 1.

Для приготовления цельносмолотой муки семена гороха измельчали на лабораторной мельнице с выходом муки 96 % с размером частиц 250 мкм, затем их просеивали через сито № 4. Мука, полученная при размоле семян гороха сорта San Cipriano, имела зеленый цвет, а мука из семян гороха сорта Вега – желтый.

Влажность муки, теста и мякиша хлеба определяли термогравиметрическим ускоренным методом на приборе ПИВИ-1. Количество влаги устанавливали по разнице навески до и после высушивания, кислотность муки, теста и мякиша хлеба – методом титрования щелочью в присутствии индикатора (фенолфталеина) (ГОСТ 27493-87 и ГОСТ 5670-96).

Оценку состояния углеводно-амилазного комплекса пшеничной муки и муки из семян гороха

определяли на приборе Амилотест АТ-97 в режимах «число падения» и «амилограмма». Содержание в пшеничной муке и муке из семян гороха крахмала определяли по ГОСТ 10845-98 поляриметрическим методом с предварительным растворением крахмала в горячем разбавленном растворе соляной кислоты, осаждением и фильтрованием белковых веществ, а также измерением оптического угла вращения раствора крахмала. Массовую долю белка муки устанавливали методом, который основан на определении общего азота в муке путем мокрого озоления образцов с реактивом Несслера и последующем пересчете на белок с помощью коэффициента перевода по ГОСТ Р 54390-2011/ISO/TS 16634-2:2009. Массовую долю белка в мякише хлеба определяли методом минерализации пробы серной кислотой в присутствии катализатора с образованием сульфата аммония, его разрушения щелочью с выделением аммиака и отгонки аммиака водяным паром в раствор серной или борной кислоты с последующим титрованием (метод Кьельдаля).

Замес теста осуществляли на лабораторной месильной машине У1-ЕТВ (Россия). Тесто готовили безопасным способом. Муку пшеничную хлебопекарную и глютен пшеничный смешивали и просеивали, затем перемешивали с раствором соли и водной суспензией хлебопекарных прессованных дрожжей, в конце замеса добавляли подсолнечное масло (контрольный образец). Опытные образцы вместо пшеничной муки содержали муку из семян зеленого гороха сорта San Cipriano (образцы № 1–4) и из семян желтого гороха сорта Вега (образцы № 5–8). Опытные образцы отличались различным соотношением глютена пшеничного и муки из семян гороха (табл. 1). Реологические характеристики теста – предельное напряжение сдвига, вязкость, коэффициент консистенции и индекс течения – определяли с помощью ротационного вискозиметра Реотест-2.

Таблица 1. Рецептуры контрольного и опытных образцов теста и хлебобулочных изделий

Table 1. Formulations for control and experimental samples of dough and bakery products

Ингредиенты	Количество рецептурных ингредиентов, г								
	Контрольный образец ГОСТ 25832	Образцы с мукой из семян гороха сорта San Cipriano				Образцы с мукой из семян гороха сорта Вега			
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8
Мука пшеничная хлебопекарная высший сорт	50,0	–	–	–	–	–	–	–	–
Мука из семян гороха	–	20,0	30,0	40,0	50,0	20,0	30,0	40,0	50,0
Глютен пшеничный	50,0	80,0	70,0	60,0	50,0	80,0	70,0	60,0	50,0
Дрожжи прессованные хлебопекарные	3,0								
Соль пищевая	1,5								
Масло подсолнечное	6,0								
Вода питьевая	Расчетное								

После замеса тесто помещали в расстойную камеру для брожения при температуре 30–35 °C на 2,5–3,0 ч (контрольный образец). Продолжительность брожения опытных образцов составила 0–30 мин в зависимости от дозировки муки из семян гороха. После брожения тесто подвергали разделке и расстойке заготовок в расстойной камере в течение 40–67 мин при температуре 35–40 °C и относительной влажности воздуха 75–85 %. Затем выпекали формовой хлеб массой 200 ± 5 г в конвекционной печи, совмещенной с расстоечным шкафом марки ПРШ-11 (Россия), с пароувлажнением при температуре 200 °C в течение 30–35 мин. Выпеченный хлеб оценивали через 3 ч после выпечки.

Удельный объем хлеба вычисляли путем деления величины объема хлеба в кубических сантиметрах на его массу в граммах. Структурно-механические свойства мякиша хлеба (общую, упругую и пластическую деформации) определяли на приборе Пенетрометр АП 4/2 [28]. Органолептическую оценку проводили экспертным методом по шкале балловой оценки с учетом коэффициента значимости (суммарный коэффициент значимости – 15). Шкала включала 8 показателей (форма изделия, окраска корки изделия, структура пористости мякиша изделия, цвет мякиша, его эластичность, аромат (запах), вкус и разжевываемость), каждый из которых имел 5 уровней качества, оцениваемых экспертами-дегустаторами в баллах: 1–2 уровень (0–30 баллов) – неудовлетворительное качество; 3 уровень (31–60 баллов) – удовлетворительное качество; 4–5 уровень (61–75 баллов) – хорошее качество. Общая оценка уровня качества рассчитывалась как среднее арифметическое значение оценок всех экспертов. Пищевую и энергетическую ценность готовых изделий определяли расчетно-аналитическим методом на основе данных о белке, жирах и углеводах с учетом энергетической ценности белков и углеводов – 4 ккал, жиров – 9 ккал. Исследования проводили в пятикратной повторности. Результаты исследований обработали методом вариационной статистики путем группировки количественных показателей выборки по средним значениям с использованием коэффициента Стьюдента (одновыборочного t-критерия).

Результаты и их обсуждение

Основными показателями сырья, влияющими на свойства теста и готовых изделий, являются влажность, кислотность и состояние углеводно-амилазного комплекса муки. Влажность пшеничной муки составила $10,2 \pm 0,2$ %, глютена (сухой пшеничной клейковины) – $9,8 \pm 0,2$ %, муки из семян зеленого и желтого гороха – $9,5 \pm 0,5$ %. Наибольшую кислотность имели образцы муки из семян гороха сорта Вега – $9,4 \pm 0,2$ град., у образцов муки из семян гороха сорта San Cipriano значения этого показателя

были ниже и составили $7,2 \pm 0,2$ град. Наименьшей кислотностью обладали образцы муки пшеничной хлебопекарной – $2,7 \pm 0,2$ град.

Компонентами муки, отвечающими за формирование структуры теста и качества хлебобулочных изделий, являются белки и углеводы, поэтому представляет интерес сравнение их содержания в муке из семян гороха с пшеничной хлебопекарной мукой. Установлено, что образцы цельносмолотой муки из семян гороха содержали большее количество белков, чем пшеничная хлебопекарная мука: из семян гороха сорта San Cipriano – $28,6 \pm 0,2$ %, из семян гороха сорта Вега – $27,5 \pm 0,2$ %, мука пшеничная хлебопекарная – $12,5 \pm 0,2$ %. Это обуславливает применение цельносмолотой муки из семян гороха в производстве функциональных (белковых) хлебобулочных изделий, обогащенных белком.

Содержание крахмала в цельносмолотой муке из семян гороха сорта San Cipriano составило $30,6 \pm 0,5$ %, из семян гороха сорта Вега – $28,7 \pm 0,5$ %, в пшеничной хлебопекарной муке – $57,5 \pm 0,5$ %. Крахмал, наряду с белковыми веществами муки, является структурообразующим компонентом теста и определяет его технологические свойства в процессе тестоприготовления и выпечки хлебобулочных изделий. Поэтому исследовали углеводно-амилазный комплекс муки пшеничной хлебопекарной и цельносмолотой муки из семян гороха. Установили, что показатель «число падения» образцов муки пшеничной хлебопекарной (200 ед. пр.) соответствовал средней автолитической активности и был выше значений муки из семян зеленого и желтого гороха (62 ед. пр.). Это соответствует высокой автолитической активности муки, но может быть связано с особенностями состава крахмала муки из семян гороха. Крахмал цельносмолотой муки из семян гороха отличается высоким (60–75 %) содержанием амилозы, что может являться фактором проявления резистентных свойств [29–32]. Амилограмма изменения вязкости крахмального геля пшеничной хлебопекарной и цельносмолотой муки из семян гороха представлена на рисунке 1.

Анализ полученных данных показал, что образование крахмального клейстера в цельносмолотой муке из семян гороха начинается при более низкой температуре (35–40 °C). Максимальная вязкость крахмала муки из семян гороха сорта Вега (желтый) составила 0,51 Н при 98,5 °C, а муки из семян гороха сорта San Cipriano (зеленый) – 0,83 Н при 99 °C. У пшеничной хлебопекарной муки начало клейстеризации крахмала происходит при температуре 75 °C, а максимальная вязкость (2,76 Н) достигается при более низкой температуре (91 °C).

Учитывая, что формирование основных показателей качества хлебобулочных изделий обусловлено значениями структурно-механических и физико-химических свойств теста, определили влажность,

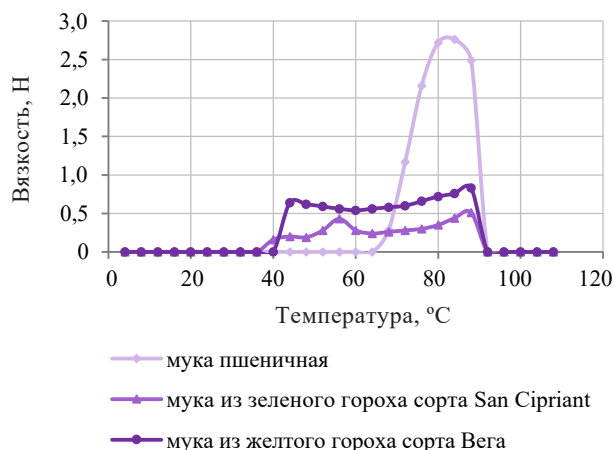


Рисунок 1. Амилограмма муки пшеничной хлебопекарной и цельносмолотой муки из семян зеленого и желтого гороха

Figure 1. Wheat bread flour vs. wholemeal flour from green and yellow peas

кислотность и реологические характеристики теста из смеси глютена пшеничного, пшеничной хлебопекарной муки и цельносмолотой муки из семян гороха. Влажность образцов теста составила $55,0 \pm 0,2$ %.

Влияние различных дозировок глютена пшеничного и цельносмолотой муки из семян зеленого и желтого гороха на кислотность теста сразу после замеса представлено на рисунке 2.

Анализ полученных данных показал, что при повышении дозировки цельносмолотой муки и уменьшении содержания глютена пшеничного кислотность теста увеличивается по сравнению с контрольным образцом. У образцов № 4 и 8 с дозировкой муки из се-

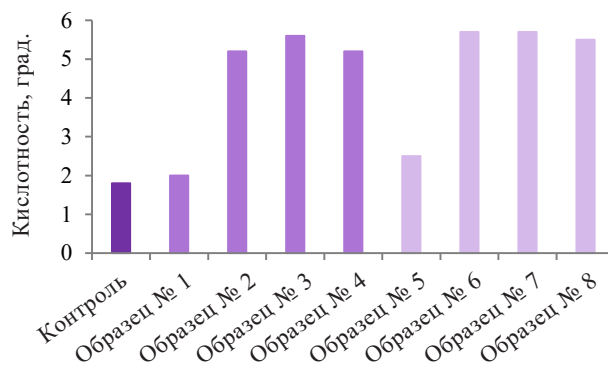


Рисунок 2. Влияние цельносмолотой муки из семян гороха и глютена пшеничного на кислотность теста

Figure 2. Effect of wholemeal pea flour and wheat gluten on dough acidity

мян гороха 50 % кислотность составила 2 и 2,5 град. соответственно, что приближено к значениям контрольного образца. При сравнении кислотности образцов теста с мукой из семян гороха сортов San Cipriano и Vega с одинаковыми дозировками обнаружили, что значения этого показателя для образцов № 5–8 были выше. Это связывали с более высокой кислотностью муки из семян гороха сорта Vega.

Перечисленные особенности цельносмолотой муки из семян гороха могут влиять на реологические характеристики теста, поэтому изучили влияние различных дозировок глютена пшеничного и цельносмолотой муки из семян гороха на напряжение сдвига контрольного и опытных образцов теста. В таблице 2 представлены значения касательного напряжения сдвига образцов теста, содержащих муку из семян гороха сортов San Cipriano и Vega и глютен

Таблица 2. Экспериментальные значения касательного напряжения сдвига образцов теста, содержащих глютен пшеничный и цельносмолотую муку из семян гороха сортов San Cipriano и Vega

Table 2. Tangential shear stress of dough samples with wheat gluten and wholemeal pea flour of San Cipriano and Vega varieties: experimental values

Скорость сдвига, D , c^{-1}	Касательное напряжение сдвига теста, Θ , кПа								
	Контроль	Образцы теста с мукой из семян гороха сорта San Cipriano				Образцы теста с мукой из семян гороха сорта Vega			
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8
0,33	1,68	0,84	1,97	1,69	3,66	1,97	3,09	2,81	1,40
0,6	2,53	1,13	2,25	2,25	4,22	2,53	3,65	3,37	1,97
1	3,09	1,41	2,81	2,81	4,78	3,09	4,50	3,94	2,53
1,8	4,50	2,53	3,94	3,38	5,63	4,22	5,63	4,78	3,37
3	5,35	3,94	5,35	4,78	6,47	5,63	7,03	5,63	4,504
5,4	6,19	5,35	7,32	6,76	7,32	8,44	9,57	7,00	7,04
9	8,73	7,60	10,13	9,29	9,29	10,69	11,82	8,72	10,41
16,2	10,41	10,41	13,51	12,10	10,69	14,07	14,63	10,13	13,23
27	12,67	11,82	16,33	15,20	11,82	17,73	17,73	12,10	15,76

пшеничный, которые получили экспериментально методом ротационной вискозиметрии на вискозиметре Реотест-2.

По экспериментальным данным таблицы 2 были построены в логарифмических координатах кривые течения $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$ исследованных образцов теста: контроль (50 % пшеничной хлебопекарной муки и 50 % глютена пшеничного), образцы теста, содержащие муку из семян гороха San Cipriano (рис. 3)

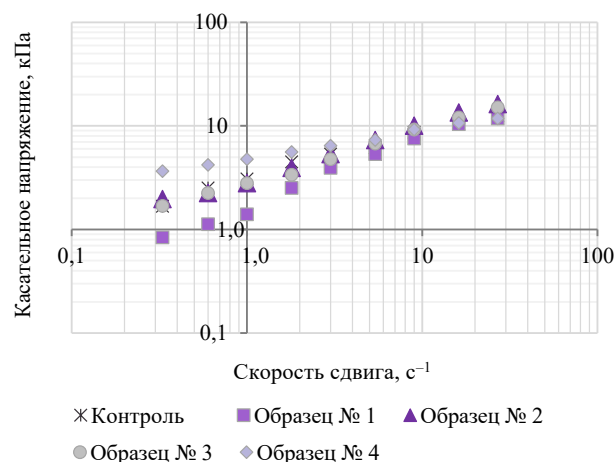


Рисунок 3. Экспериментальные кривые течения образцов теста с цельносмолотой мукой из семян гороха San Cipriano, изображенные в логарифмических координатах $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

Figure 3. Experimental flow curves of dough samples with wholemeal San Cipriano pea flour as logarithmic coordinates $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

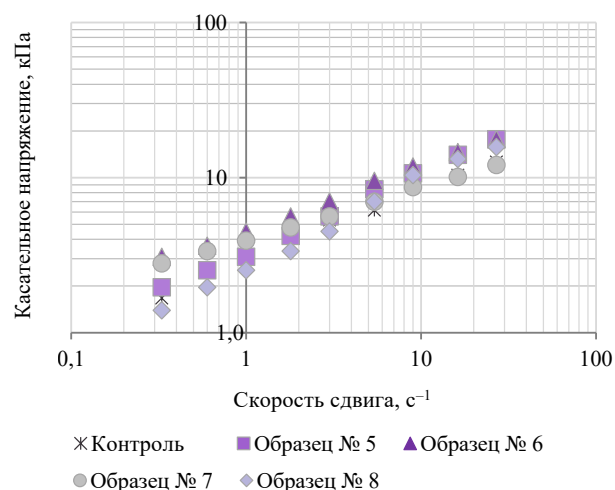


Рисунок 4. Экспериментальные кривые течения образцов теста с цельносмолотой мукой из семян гороха Вега, изображенные в логарифмических координатах $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

Figure 4. Experimental flow curves of dough samples with wholemeal Vega pea flour as logarithmic coordinates $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

и семян гороха Вега (рис. 4) в количестве 20, 30, 40 и 50 %, а также глютен пшеничный в количестве 80, 70, 60 и 50 % соответственно.

Характер графиков кривых течения, изображенных в логарифмических координатах, позволил описать их реологическими уравнениями состояния вида:

$$\theta = \mp \frac{\theta_0^2}{\theta} + kD^n \quad (1)$$

$$\theta = \pm \frac{\theta_0^2}{\theta} + kD^n \quad (2)$$

Графики кривых течения контрольного образца были описаны реологическим уравнением (1), графики образцов теста, содержащих цельносмолотую муку из семян зеленого и желтого гороха, – уравнением (2).

В реологические уравнения состояния (1) и (2) входят символы предельного напряжения сдвига θ со знаками $\pm\theta_0$ и $\mp\theta_0$. Знак $\mp$ у символа предельного напряжения сдвига соответствует тому, что кривизна графика кривой течения контрольного образца обращена выпуклостью к оси касательного напряжения сдвига (уравнение 1, рис. 3) в диапазоне скорости сдвига $0,33 \text{ с}^{-1} \leq D \leq 27 \text{ с}^{-1}$, и после значения скорости сдвига $D = 3 \text{ с}^{-1}$ в диапазоне $3 \text{ с}^{-1} \leq D \leq 27 \text{ с}^{-1}$ график меняет направление своей кривизны на противоположное направление – к оси скорости сдвига. Графики $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$ всех остальных образцов теста до скорости сдвига $D = 3 \text{ с}^{-1}$ обращены выпуклостью к оси скорости сдвига, и затем в диапазоне $3 \text{ с}^{-1} \leq D \leq 27 \text{ с}^{-1}$ графики кривых течения образцов теста из цельносмолотой муки из семян гороха меняют направления кривизны к оси касательного напряжения.

В результате математической обработки экспериментальных графиков кривых течения $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$ (1) и (2), полученных на основе известной методики ротационной реометрии [33] с применением вискозиметра Реотест-2, погрешность которых лежит в пределах 7–11 %, разработали графики с полиномиальными зависимостями: предельное напряжение сдвига θ_0 , коэффициент консистенции k и индекс течения n (рис. 5 и 6).

В таблице 3 представлены численные значения параметров реологических уравнений состояния образцов теста: предельное напряжение сдвига, коэффициент консистенции и индекс течения.

На рисунках 5 и 6 изображены графические зависимости параметров реологических уравнений состояния образцов теста, содержащих цельносмолотую муку из семян зеленого гороха San Cipriano и желтого гороха Вега в количестве 20, 30, 40 и 50 % с содержанием глютена пшеничного 80, 70, 60 и 50 %.

Из рисунков 5 и 6 видно, что графики параметров реологических уравнений состояния (1) и (2) в области содержания 25–30 % цельносмолотой муки из семян гороха имеют экстремальные значения.

Таблица 3. Реологические характеристики теста

Table 3. Rheological profile of dough

Наименование образцов	Предельное напряжение сдвига, кПа	Коэффициент консистенции, кПа·с ⁿ	Индекс течения
Контроль	0,55	3,55	0,312
Образцы с мукой из семян зеленого гороха San Cipriano			
Образец № 1	0,65	2,05	0,565
Образец № 2	0,71	1,95	0,617
Образец № 3	0,68	2,65	0,528
Образец № 4	0,63	4,70	0,311
Образцы с мукой из семян желтого гороха Вега			
Образец № 5	0,83	2,85	0,595
Образец № 6	0,89	2,89	0,578
Образец № 7	0,87	3,40	0,499
Образец № 8	0,78	3,81	0,357

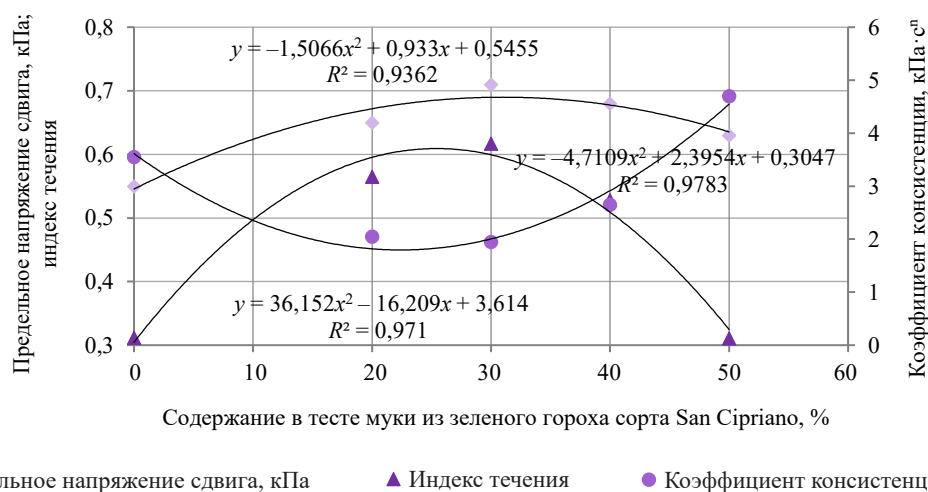


Рисунок 5. Параметры реологического уравнения состояния образцов теста с цельносмолотой мукой из семян гороха San Cipriano

Figure 5. Rheological equation: dough samples with wholemeal San Cipriano pea flour

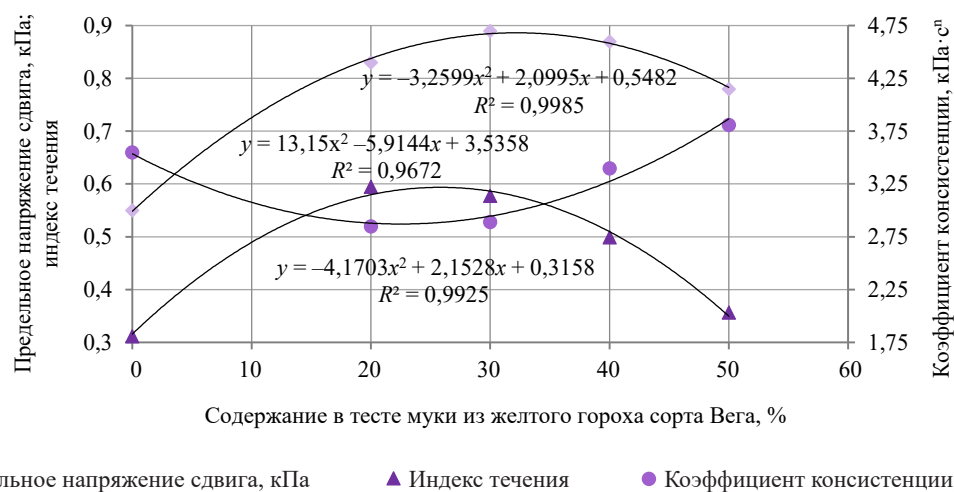


Рисунок 6. Параметры реологического уравнения состояния образцов теста с цельносмолотой мукой из семян гороха Вега

Figure 6. Rheological equation: dough samples with wholemeal Vega pea flour

На рисунках 7 и 8 представлены расчетные графики эффективной вязкости образцов теста, полученные по данным таблиц 1 и 2 и изображенные в логарифмических координатах $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$: контроль (50 % пшеничной хлебопекарной муки и 50 % глютена пшеничного) и образцы теста с цельносомлотой мукой из семян зеленого гороха San Cipriano и желтого гороха Вега 20, 30, 40 и 50 % и глютена пшеничного в количестве 80, 70, 60 и 50 % соответственно.

На рисунке 9 изображены зависимости вязкости образцов теста: контроль (50 % пшеничной хлебопекарной муки и 50 % глютена пшеничного) и образцы теста, содержащие цельносомлотую муку из

семян зеленого гороха San Cipriano и желтого гороха Вега в количестве 20, 30, 40 и 50 % и глютен пшеничный в количестве 80, 70, 60 и 50 % соответственно, при постоянных значениях скорости сдвига 0,33, 1,0, 3, 9, 16,2 и 27 с^{-1} . Это позволяет сравнить численные значения вязкости образцов теста от содержания в них муки из разных сортов гороха.

Анализ рисунка 9 показал, что вязкость образцов теста зависит от содержания в них цельносомлотой муки из семян гороха соответствующего сорта. Тесто, содержащее количество муки более 20 % из семян желтого гороха Вега, обладает большей вязкостью, чем тесто с соответствующим содержанием муки из семян зеленого гороха San Cipriano. Это соответст-

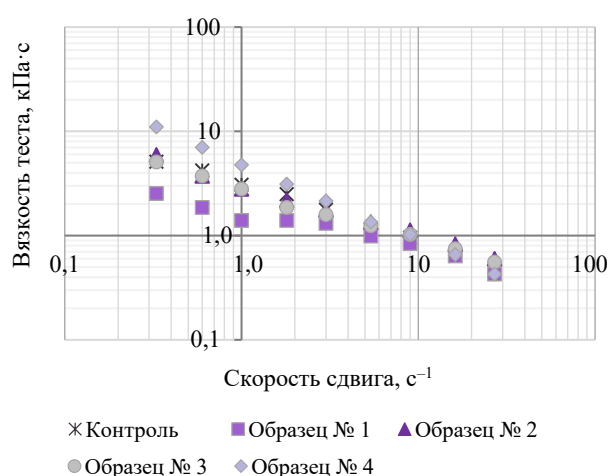


Рисунок 7. Расчетные зависимости вязкости образцов теста с цельносомлотой мукой из семян гороха San Cipriano, изображенные в логарифмических координатах $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

Figure 7. Calculated viscosity of dough samples with wholemeal San Cipriano pea flour as logarithmic coordinates $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

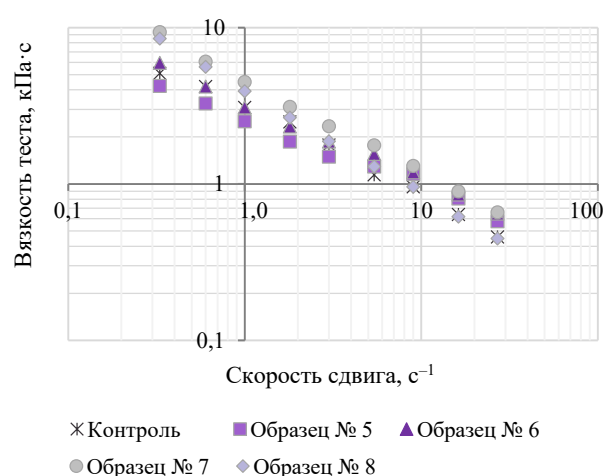


Рисунок 8. Расчетные зависимости вязкости образцов теста с цельносомлотой мукой из семян гороха Вега, изображенные в логарифмических координатах $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

Figure 8. Calculated viscosity of dough samples with wholemeal Vega pea flour as logarithmic coordinates $\lg\theta = \lg\theta(\lg D)$

Таблица 4. Расчетные значения вязкости контрольного образца и образцов теста, содержащих цельносомлотую муку из семян гороха сортов San Cipriano и Вега и глютен пшеничный

Table 4. Calculated viscosity for dough samples with San Cipriano and Vega wholemeal pea flour and wheat gluten vs. control

Скорость сдвига, D , с^{-1}	Вязкость теста, η , $\text{кПа}\cdot\text{с}$								
	Контроль	Образцы теста с мукой из семян гороха сорта San Cipriano				Образцы теста с мукой из семян гороха сорта Вега			
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8
0,33	5,12	2,55	5,97	5,11	11,08	4,26	5,97	9,38	8,53
0,6	4,22	1,87	3,75	3,75	7,03	3,28	4,22	6,09	5,63
1,0	3,09	1,40	2,81	2,81	4,78	2,53	3,09	4,50	3,94
1,8	2,50	1,40	2,18	1,87	3,12	1,87	2,34	3,12	2,66
3,0	1,78	1,31	1,78	1,59	2,16	1,50	1,87	2,34	1,88
5,4	1,15	0,99	1,35	1,25	1,35	1,30	1,56	1,77	1,30
9,0	0,96	0,84	1,13	1,03	1,03	1,16	1,19	1,31	0,96
16,2	0,64	0,64	0,83	0,75	0,66	0,81	0,86	0,90	0,62
27,0	0,46	0,43	0,60	0,56	0,43	0,58	0,65	0,66	0,45

вует амилограмме изменения вязкости крахмального геля муки из семян сортов гороха Beга и San Cipriano, представленной на рисунке 1.

Параллельно с проведением экспериментальных исследований образцов теста методом ротационной вискозиметрии осуществляли их органолептическую оценку: оценивали состояние поверхности, консистенцию и структуру теста. Опытные образцы теста

имели разрыхленную сетчатую структуру с гладкой и увлажненной поверхностью, что свидетельствует о нормальной их консистенции.

После брожения тестовые заготовки формовали и подвергали расстойке в формах и выпечке. Технологические параметры и показатели качества теста и готовых хлебобулочных изделий представлены в таблице 5.

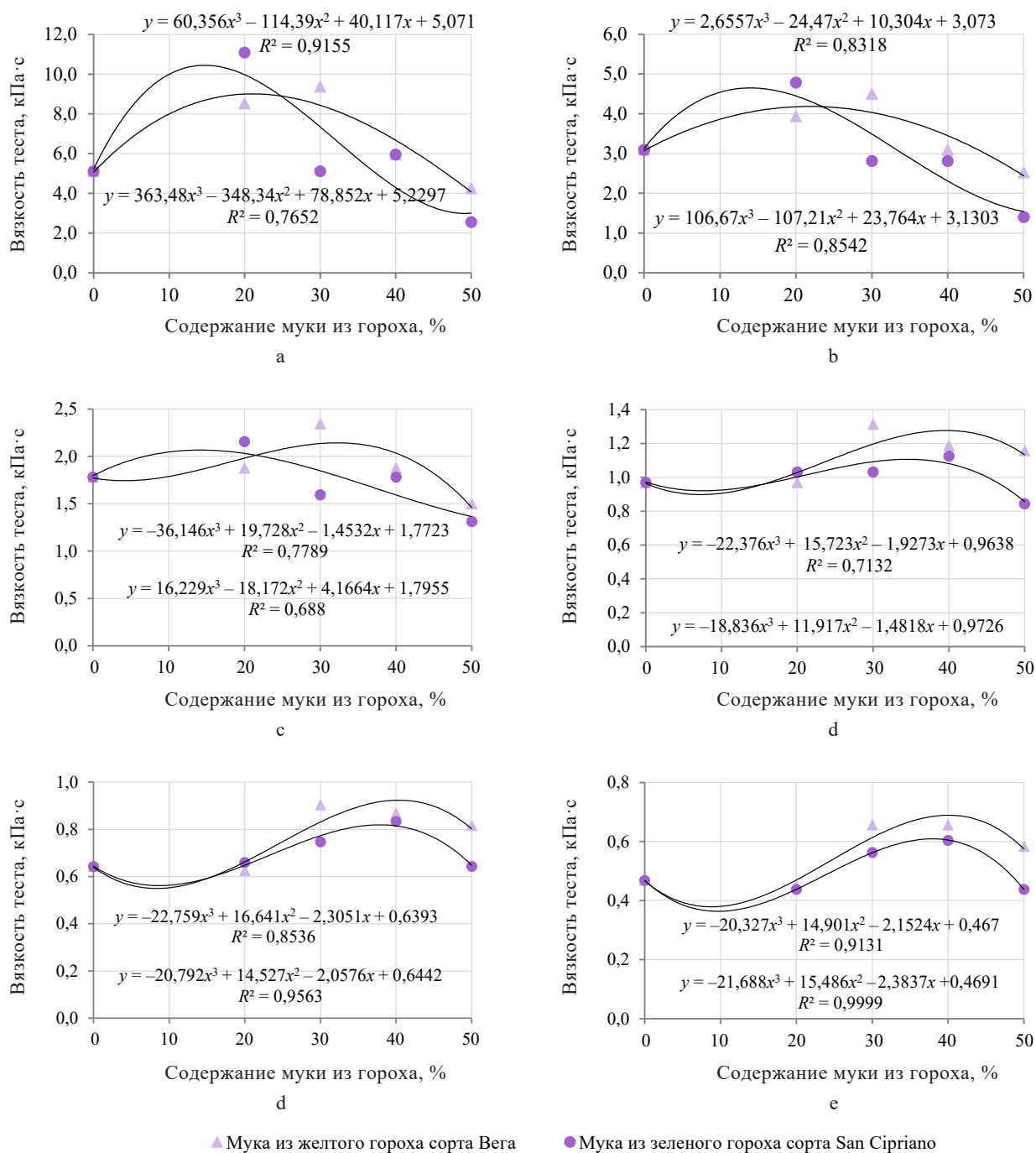


Рисунок 9. Зависимость вязкости теста от содержания цельносомлотой муки из семян гороха при скорости сдвига: а – $0,33 \text{ c}^{-1}$; б – $1,0 \text{ c}^{-1}$; в – $3,9 \text{ c}^{-1}$; д – $16,2 \text{ c}^{-1}$; е – 27 c^{-1}

Figure 9. Effect of wholemeal pea flour on dough viscosity at different shear rates: а – $0,33 \text{ c}^{-1}$; б – $1,0 \text{ c}^{-1}$; в – $3,9 \text{ c}^{-1}$; д – $16,2 \text{ c}^{-1}$; and е – 27 c^{-1}

Таблица 5. Влияние цельносмолотой муки из семян гороха на технологические параметры и физико-химические свойства теста и хлебобулочных изделий

Table 5. Effect of wholemeal pea flour on technological, physical, and chemical properties of dough and bakery products

Показатель	Контроль	Образцы теста с мукой из семян гороха сорта San Cipriano				Образцы теста с мукой из семян гороха сорта Beга			
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8
Кислотность теста начальная, град.	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,2	5,2 ± 0,1	5,6 ± 0,2	5,2 ± 0,4	2,5 ± 0,4	5,7 ± 0,2	5,7 ± 0,1	5,5 ± 0,3
Кислотность теста конечная, град.	3,0 ± 0,2	3,4 ± 0,4	5,2 ± 0,1	5,6 ± 0,2	5,2 ± 0,4	3,2 ± 0,4	5,7 ± 0,2	5,7 ± 0,1	5,5 ± 0,3
Продолжительность брожения теста, мин	150	30	0	0	0	30	0	0	0
Продолжительность расстойки, мин	60 ± 2	65 ± 2	64 ± 3	67 ± 2	43 ± 2	60 ± 3	65 ± 2	64 ± 2	40 ± 4
Влажность мякиша хлеба, %	54,7 ± 0,1	53,0 ± 0,2	53,1 ± 0,2	54,4 ± 0,2	55,1 ± 0,1	54,8 ± 0,1	54,9 ± 0,2	54,4 ± 0,1	54,3 ± 0,1
Кислотность мякиша хлеба, град.	2,0 ± 0,2	3,0 ± 0,1	3,5 ± 0,2	3,9 ± 0,2	4,6 ± 0,1	3,0 ± 0,1	3,5 ± 0,1	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,3
Удельный объем хлеба, см ³ /г	5,0 ± 0,1	5,4 ± 0,1	5,0 ± 0,1	4,5 ± 0,1	4,1 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,0 ± 0,1	3,5 ± 0,1
Относительная пластичность мякиша ($H_{пл}$), %	74,9	71,4	75,8	63,1	64,0	70,5	72,3	62,5	68,2
Относительная упругость мякиша (H_y), %	25,8	23,8	24,4	36,8	33,7	24,3	26,7	36,7	31,8
$H_{пл}/H_y$	2,9	3	3,1	1,7	1,9	2,9	2,7	1,7	2,1
Органолептическая оценка хлеба, балл	61,7 ± 0,6	64,3 ± 0,6	60,5 ± 1,3	53,9 ± 1,4	48,9 ± 1,2	65,5 ± 1,5	59,5 ± 1,2	54,2 ± 1,5	48,9 ± 0,7

Установлено, что при приготовлении контрольного образца продолжительность брожения составила 150 мин, а расстойки – 60 мин. У образцов теста с дозировкой 20 % цельносмолотой муки из семян зеленого и желтого гороха начальная кислотность теста была выше значений контрольного образца на 11 и 39 % для образцов № 1 и 5 соответственно. Через 30 мин кислотность теста достигла значений, соответствующих выброженному тесту, что позволило сократить продолжительность брожения на 120 мин по сравнению с контролем. Увеличение дозировки цельносмолотой муки из семян гороха привело к повышению начальной кислотности теста, поэтому процесс брожения опускали и тесто сразу помещали в формы, а после расстойки выпекали. Окончание расстойки определяли по внешнему виду тестовых заготовок: наличие выпуклой формы и упругости (после нажатия ямка не восстанавливалась). Наименьшая продолжительность расстойки отмечена у образцов № 4 и 8 с содержанием цельносмолотой муки из семян гороха и глютена пшеничного 50/50 – 40–44 мин. При содержании муки из семян гороха, независимо от сорта, 20–40 % продолжительность расстойки увеличивалась на 4–7 мин по сравнению с контролем.

После выпечки образцы охлаждали и оценивали по физико-химическим и органолептическим по-

казателям, а также рассчитывали пищевую и энергетическую ценность.

Значения влажности мякиша опытных образцов хлеба не отличались от значений влажности контрольного образца, но кислотность имела более высокие значения: на 50, 60, 70 и 80 % для образцов хлеба № 1–4 и на 50, 75 и 125 % для образцов № 5–8 соответственно по сравнению с контролем. Увеличение кислотности мякиша хлеба возрастало с повышением дозировки цельносмолотой муки из семян гороха.

Значения удельного объема хлеба при увеличении дозировки муки из семян желтого и зеленого гороха снижались по сравнению с контролем. При дозировке муки из семян зеленого и желтого гороха 50 % хлеб был плоским без выпуклой верхней корки и имел минимальные значения показателя – 4,1 и 3,5 см³/г. Наибольшая относительная пластичность мякиша отмечена у образцов № 1 и 2 (показатель увеличивался на 3,4 и 6,8 % соответственно по сравнению с контролем). Относительная пластичность образца № 5 не отличалась от контроля, у других образцов значения показателя пластичности были ниже на 40,6, 34,5, 6,9, 41,4 и 27,6 % для образцов № 3, 4 и 6–8 соответственно.

При органолептической оценке хлеба с дозировками цельносмолотой муки из семян гороха 20–30 %

Таблица 6. Химический состав и энергетическая ценность хлебобулочных изделий из цельносмолотой муки семян гороха сортов San Cipriano и Vega и глютена пшеничного

Table 6. Chemical composition and energy value of bakery products from wholemeal flour of San Cipriano and Vega peas with wheat gluten

Образцы хлеба	Содержание пищевых веществ и энергетическая ценность				
	Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г		
			Общие	в т. ч. крахмал	в т. ч. пищевые волокна
Контроль	25,66 ± 0,11*	4,73	25,23	23,06	1,09
Образцы с мукой из гороха San Cipriano					
Образец № 1	37,58 ± 0,15*	4,96	9,23	6,66	1,37
Образец № 2	36,43 ± 0,20*	4,94	12,41	8,76	2,07
Образцы с мукой из гороха Vega					
Образец № 5	37,44 ± 0,12*	4,96	8,86	6,43	1,37
Образец № 6	36,47 ± 0,20*	4,94	11,80	8,39	2,07

*Экспериментальные данные имеют статистические различия при $p \leq 0,05$.

*Experimental data are statistically different at $p \leq 0.05$.

эксперты отметили характерный хлебный вкус и запах, а при дозировках муки из семян гороха более 30 % – запах гороха. Интенсивность запаха увеличивалась с повышением дозировки. У образцов хлеба с мукой из семян желтого гороха запах был более интенсивным по сравнению с образцами с мукой из семян зеленого гороха. Добавление муки из семян зеленого гороха влияло на цвет мякиша, придавая зеленоватый оттенок, интенсивность которого увеличивалась с повышением дозировки муки из семян гороха. Добавление муки из семян желтого гороха не оказывало значительного влияния на цвет мякиша хлеба опытных образцов. При разжевывании эксперты отметили хорошую эластичность мякиша, особенно у образцов № 1, 2, 5 и 6, что связывали с большим содержанием клейковины по сравнению с другими образцами. Наибольшую сумму баллов имели образцы № 1 (64,3 балла) и 5 (65,5 балла) с минимальным содержанием муки из семян гороха. При увеличении дозирования муки из семян гороха сортов San Cipriano (зеленый) и Vega (желтый) суммарная органолептическая оценка снижалась. Это связывали с увеличением интенсивности характерного бобового запаха и привкуса, а также с наличием зеленого оттенка у мякиша образцов хлеба с мукой из семян гороха сорта San Cipriano, что определено дегустаторами как категория удовлетворительного качества. Поэтому расчет пищевой ценности представлен для образцов с дозировкой цельносмолотой муки из гороха 20 % (образцы № 1 и 5) и 30 % (образцы № 2 и 6). Влияние цельносмолотой муки из семян гороха на содержание основных пищевых веществ и энергетическую ценность хлебобулочных изделий представлено в таблице 6.

Анализ полученных данных показал, что у всех образцов хлеба с цельносмолотой мукой из семян гороха увеличивалось содержание белка: у образцов

№ 1 и 5 (20 %) – на 46,4 и 45,9 %, у образцов № 2 и 6 (30 %) – на 41,9 и 42,1 %. Суточная физиологическая потребность в белке составляет 75–110 г (МР 2.3.1-0253-2021). Содержание белка в 100 г разработанного хлеба – 36,43–37,58 г, т. е. при употреблении 100 г хлеба в сутки физиологическая потребность в белке будет удовлетворена на 33,1–34,2 %. Это позволяет отнести хлебобулочные изделия к функциональным продуктам (ГОСТ Р 52349-2005 и ГОСТ 55577-2013). Для спортсменов суточная потребность в период интенсивных тренировок может быть увеличена до 200–250 г [34]. В этом случае при употреблении 100 г хлеба суточная потребность будет удовлетворяться на 14,57–15,03 %. Расчетное содержание жира при повышении дозировки муки из семян гороха, по сравнению с контролем, увеличивалось на 3,4–4,8 %, а содержание углеводов у опытных образцов выросло, но было меньше в 1,5–2,8 раза. Отмечено увеличение содержания пищевых волокон у образцов № 1 и 5 на 25,7 %, а у остальных образцов – в 2–3,5 раза по сравнению с контролем. Значения энергетической ценности у образцов с соотношением цельносмолотой муки из семян гороха сортов San Cipriano и Vega и глютена пшеничного 20/80 снижались на 5,7 и 6,6 %, а у образцов с соотношением 30/70 – на 2,5 и 3,4 % по сравнению с контролем.

Выводы

Разработали технологию и рецептуры белковых хлебобулочных изделий с использованием глютена пшеничного и цельносмолотой муки из семян гороха сортов San Cipriano и Vega, определили физико-химические, структурно-механические и органолептические свойства сырья, теста и готовых функциональных хлебобулочных изделий, а также их пищевую ценность.

Цельносмолотая мука из семян гороха, по сравнению с мукой пшеничной, имеет высокую кислотность

(7,2 и 9,4 град. для муки из гороха сорта San Cipriano и Вега соответственно) и, независимо от сорта, отличается высокой автолитической активностью («число падения» ниже 80 с). Показатель «число падения» образцов муки пшеничной хлебопекарной (200 ед. пр.) соответствовал средней автолитической активности. Значения максимальной вязкости крахмального клейстера муки из зеленого и желтого гороха ниже значений пшеничной муки на 69,9 и 81,5 % соответственно, а температура максимальной вязкости крахмального клейстера ниже значений пшеничной муки на 8 и 7,5 °С. Цвет цельно-смолотой муки обусловлен цветом семян гороха (желтый и зеленый) и влияет на цвет теста и готовых хлебобулочных изделий (интенсивность цвета увеличивается при повышении дозировки цельно-смолотой муки).

Выявили взаимосвязь соотношения глютена пшеничного и цельносмолотой муки из семян гороха сортов San Cipriano и Вега и структурно-механических свойств теста (вязкости, предельного напряжения сдвига, индекса течения), которые описаны реологическими уравнениями состояния вида $\theta = \mp \frac{\theta_0}{\sigma} + kD^n$ и $\theta = \pm \frac{\theta_0}{\sigma} + kD^n$. Наилучшими структурно-механическими свойствами обладали образцы теста с соотношением муки из зеленого гороха сорта San Cipriano и глютена пшеничного 30/70 и 40/60, а также с соотношением муки из желтого гороха сорта Вега и глютена 20/80 и 30/70.

Показали положительное влияние цельносмолотой муки из семян гороха на продолжительность технологического процесса. Высокая кислотность цельносмолотой муки из семян гороха, по сравнению с мукой пшеничной, приводит к увеличению значений начальной кислотности теста и позволяет сократить продолжительность брожения теста и расстойки тестовых заготовок на 115 и 145 мин при дозировке цельносмолотой муки из семян гороха 20 и 30 % соответственно.

Изменение соотношения пшеничного глютена и цельносмолотой муки из семян гороха влияет на физико-химические и органолептические показатели качества хлебобулочных изделий. При органолептической оценке хлеба с дозировками цельносмолотой муки из семян гороха 20 и 30 % эксперты отметили выраженный характерный хлебный вкус и запах, а при внесении дозировок муки из семян гороха более 30 % присутствовал запах гороха. Добавление муки из семян зеленого гороха влияло на цвет мякиша, придавая зеленоватый оттенок, интенсивность которого увеличивалась с повышением дозировки муки из семян гороха. Добавление муки из семян желтого гороха не оказывало значительного влияния на цвет мякиша хлеба опытных образцов. При разжевывании эксперты отметили хорошую эластичность мякиша, особенно у образцов с 20 и 30 % муки из семян гороха. Поэтому в разработанных

рецептурах хлебобулочных изделий предусмотрено внесение цельносмолотой муки из семян гороха сортов San Cipriano и Вега в количестве 20 и 30 кг на 100 кг смеси с глютеном пшеничным.

Установлено, что образцы цельносмолотой муки из семян гороха сорта San Cipriano содержат $28,6 \pm 0,2$ % белка, а сорта Вега $27,5 \pm 0,2$ % (мука пшеничная хлебопекарная – $12,7 \pm 0,2$ %); содержание крахмала в цельносмолотой муке из семян гороха сорта San Cipriano составило $30,6 \pm 0,5$ %, из семян гороха сорта Вега – $28,7 \pm 0,5$ %, а в пшеничной хлебопекарной муке – $57,5 \pm 0,5$ %. Это положительно влияет на содержание белка в готовых изделиях. Образцы хлеба с дозировкой 20 % цельносмолотой муки из семян гороха содержали белка на 46,4 и 45,9 % больше, по сравнению с контрольным образцом, а образцы с содержанием 30 % – на 41,9 и 42,1 % для сортов San Cipriano и Вега соответственно. При употреблении 100 г в сутки разработанного хлеба физиологическая потребность в белке будет удовлетворена на 33,1–34,2 %, что позволяет отнести данные хлебобулочные изделия к функциональным продуктам. Расчетное содержание углеводов у опытных образцов меньше в 1,5–2,8 раза, по сравнению с контролем, а жира – больше на 3,4–4,8 %. Отмечено увеличение содержания пищевых волокон у образцов с дозировкой 20 % цельносмолотой муки из гороха на 25,7 %, а у остальных образцов – в 2–3,5 раза по сравнению с контролем.

На основании полученных результатов определили оптимальные дозировки цельносмолотой муки из семян гороха и пшеничного глютена при производстве хлебобулочных изделий из их смеси, употребление которых позволит сократить дефицит белка. Данные хлебобулочные изделия можно рекомендовать для диетического питания лиц, нуждающихся в повышенном потреблении белка – спортсменов и пациентов, которые страдают сахарным диабетом, ожирением и острым ревматизмом, получили ожоговую травму и др.

Критерии авторства

О. Л. Ладнова предложила конструктивное решение и реализацию предложенных идей. В. П. Корячкин предложил конструктивное решение предложенной идеи по результатам исследований реологических характеристик теста и хлебобулочных изделий. С. Я. Корячкина организовала проведение лабораторных и производственных испытаний разработанных хлебобулочных изделий. Л. С. Большакова предложила идею обогащения хлебобулочных изделий за счет добавления муки из семян гороха сортов San Cipriano и Вега.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

O.L. Ladnova proposed the constructive and rationalization solutions. V.P. Koryachkin developed a constructive solution based on the rheological studies of dough and bakery products. S.Ya. Koryachkina was responsible for the laboratory and production tests.

L.S. Bolshakova proposed the idea of fortifying bakery products with flour from of San Cipriano and Vega pea varieties.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Nasrollahzadeh M, Nezafat Z, Shafiei N. Proteins in food industry. In: Nasrollahzadeh M, editor. Biopolymer-based metal nanoparticle chemistry for sustainable applications. Volume 2: Applications. Elsevier; 2021. pp. 97–136. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89970-3.00003-2>
2. Molchanova OV, Andreeva GF. Significance of dietary protein intake in the prevention of obesity, hypertension and breast cancer. The Russian Journal of Preventive Medicine. 2015;18(1):46–53. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/profmed201518146-53>
3. Eliseeva LG, Makhotina IA, Kalachev SL. Improving the safety of plant foods by reducing phytates. Security Issues. 2019;(1):9–17. (In Russ.). [Елисеева Л. Г., Махотина И. А., Калачев С. Л. Повышение безопасности пищевых продуктов растительного происхождения, путем уменьшения содержания фитатов // Вопросы безопасности. 2019. № 1. С. 9–17.]. <https://www.elibrary.ru/ZARHIT>
4. Smol'nikova YaV, Bopp VL, Kolomeytshev AV, Stutko OV, Khanipova VA, Broshko DV. Aqueous enzymatic extraction of protein concentrates from *Camelina sativa* oil cake. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(1):199–209. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-199-209>
5. Kolpakova VV, Ulanova RV, Kulikov DS, Gulakova VA, Semenov GV, Shevjakova LV. Pea and chickpea protein concentrates: Quality indicators. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(4):649–664. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2394>
6. Lir DN, Perevalov AY. Analysis of actual home nutrition of urban children of pre-school and school age. Problems of Nutrition. 2019;88(3):69–77. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10031>
7. Veselov YuV, Chernov GI. Nutrition of the elderly: Sociological aspect. Advances in Gerontology. 2020;33(5):879–884. <https://doi.org/10.34922/AE.2020.33.5.007>
8. Shterman SV, Sidorenko MYu, Sidorenko YuI, Shterman VS, Chebotareva NI. On the role of sports nutrition in modern sports and society. Food Industry. 2021;(5):75–79. <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.5.5.018>
9. Chen J, Liu G, Pantalone V, Zhong Q. Physicochemical properties of proteins extracted from four new Tennessee soybean lines. Journal of Agriculture and Food Research. 2020;2. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100022>
10. Kobelkova IV, Korosteleva MM, Kobelkova MS. The role of high-protein specialized food in increasing the adaptive athletes' potencial. Clinical Nutrition and Metabolism. 2021;2(2):92–99. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/clinutr81572>
11. Kashirskih EV, Babich OO, Kriger OV, Ivanova SA. Oat protein concentrate as part of curd product for sport nutrition. Food Processing: Techniques and Technology. 2019;49(3):345–355. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-3-345-355>
12. Ryazantseva KA, Agarkova EYu, Fedotova OB. Continuous hydrolysis of milk proteins in membrane reactors of various configurations. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):271–281. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-271-281>
13. Kolpakova VV, Kovalenok VA. Relationship of the functional properties of dry wheat gluten with amino acid composition and its quality indicators. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2019;81(1):173–180. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-173-180>
14. Shelepina NV. The comparison characteristic of smooth and wrinkled peas albuminous complex. Scientific notes of the Oryol State University. Series: Natural, Technical, and Medical Sciences. 2011;(5):277–282. (In Russ.). [Шелепина Н. В. Сравнительная характеристика белкового комплекса гладкозёрных и морщинистых форм гороха // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. 2011. № 5. С. 277–282.]. <https://www.elibrary.ru/PHNPIB>
15. Voskobulova NE, Vereshchagina AS, Urazgulov RSh, Kurilkina MYa. Amino acid composition and biological value of pea protein depending on cultivation techniques. Animal Husbandry and Fodder Production. 2019;102(3):117–125. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-102-3-117>
16. Bychkova ES, Podgorbunskikh EM, Rozhdestvenskaya LN, Buchtoyarov VA, Kudacheva PV. Development of technology for bakery products with the introduction of pea hydrolyzate. Storage and Processing of Farm Products. 2022;(3):56–66. (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.371>

17. Korolev AA, Urubkov SA, Koptyaeva IS, Korneva LYa. Grain of legumes plants, general characteristics and application in food concentrates technology. Polzunovskiy Vestnik. 2020;(2):35–39. (In Russ.). <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2020.02.007>
18. 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>
19. Hacisalihoglu G, Beisel NS, Settles AM. Characterization of pea seed nutritional value within a diverse population of *Pisum sativum*. PLoS ONE. 2021;16(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259565>
20. Samtiya M, Aluko RE, Dhewa T. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: An overview. Food Production, Processing and Nutrition. 2020;2. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>
21. Veber AL, Leonova SA, Davletov FA. Phytochemical potential and inhibitory properties of new varieties of leguminous plants. Food Processing: Techniques and Technology. 2019;49(2):281–288. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-281-288>
22. 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>
23. Shelepina NV. Pea germ powder as ingredient of fortified high-grade wheat flour bread. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2022;988. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/988/2/022047>
24. Prikhodko DV, Krasnoshtanova AA. Using casein and gluten protein fractions to obtain functional ingredients. Foods and Raw Materials. 2023;11(2):223–231. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-569>
25. Shen Y, Hong S, Li Y. Pea protein composition, functionality, modification, and food applications: A review. Advances in Food and Nutrition Research. 2022;101:71–127. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2022.02.002>
26. Boukid F. The realm of plant proteins with focus on their application in developing new bakery products. Advances in Food and Nutrition Research. 2022;99:101–136. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.11.001>
27. Osipova GA, Koryachkina SYa, Koryachkin VP, Seregina TV, Zhugina AE. Effects of protein-containing additives on pasta quality and biological value. Foods and Raw Materials. 2019;7(1):60–66. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-1-60-66>
28. Koryachkina SYa, Labutina NV, Berezina NA, Khmeleva EV. Quality control of raw materials, semi-finished products, and bakery products. Moscow: DeLi plyus; 2012. 496 p. (In Russ.). [Контроль качества сырья, полуфабрикатов и хлебобулочных изделий / С. Я. Корячкина [и др.]. М.: ДеЛи плюс, 2012. 496 с.].
29. Ren H, Setia R, Warkentin TD, Ai Y. Functionality and starch digestibility of wrinkled and round pea flours of two different particle sizes. Food Chemistry. 2021;336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127711>
30. Cui W, Ma Z, Li X, Hu X. Structural rearrangement of native and processed pea starches following simulated digestion *in vitro* and fermentation characteristics of their resistant starch residues using human fecal inoculum. International Journal of Biological Macromolecules. 2021;172:490–502. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.092>
31. Terstegen T, Grebenteuch S, Rohn S, Müller K-J, Flöter E, Ulbrich M. Organic pea starches – I. Comprehensive investigation of morphological and molecular properties. Starch – Starke. 2023;75(3–4). <https://doi.org/10.1002/star.202200220>
32. Putina OV, Bobkov SV, Vishnyakova MA. Seed carbohydrate composition and its relation to another breeding important traits of garden pea (*Pisum sativum* L.) in Krasnodar region. Agricultural Biology. 2018;53(1):179–188. (In Russ.). <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2018.1.179rus>
33. Machikhin YuA. Rheometry of food raw materials and products. Moscow: Agropromizdat; 1990. 271 p. (In Russ.). [Мачихин Ю. А. Реометрия пищевого сырья и продуктов. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.].
34. Radzhabadiev RM, Evstratova VS, Solntseva TN, Samoilov AS, Diel F, Khanferyan RA. Evalution of chemical composition and energy value of the diets of highly skilled athletes. RUDN Journal of Medicine. 2018;22(1):106–119. (In Russ.). <https://doi.org/10.22363/2313-0245-2018-22-1-106-119>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2459>
<https://elibrary.ru/VFHZYF>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Сезонные изменения биологической ценности белков молока ослици киргизской породы



Н. К. Турганбаева^{1,*}, М. М. Мусульманова²,
Н. А. Кыдыралиев¹

¹ Кыргызско-Турецкий университет Манас^{ROR}, Бишкек, Кыргызская Республика

² Кыргызский государственный технический университет им. И. Раззакова^{ROR},
Бишкек, Кыргызская Республика

Поступила в редакцию: 10.02.2023

Принята после рецензирования: 24.04.2023

Принята к публикации: 02.05.2023

*Н. К. Турганбаева: nadira.turganbaeva@manas.edu.kg,

<https://orcid.org/0000-0002-7620-9236>

М. М. Мусульманова: <https://orcid.org/0000-0002-4205-2875>

Н. А. Кыдыралиев: <https://orcid.org/0000-0002-6168-8772>

© Н. К. Турганбаева, М. М. Мусульманова,
Н. А. Кыдыралиев, 2023



Аннотация.

Молоко ослици – это полифункциональный продукт с антиоксидантной, противовоспалительной, омолаживающей, противомикробной и противоопухолевой активностями. Широкий спектр физиологических свойств обусловлен его белковым компонентом. Молоко ослици киргизской породы в этом аспекте практически не изучено. Цель исследования – анализ аминокислотного профиля молока ослици, обитающих в горной местности Кыргызстана, в зависимости от сезона года, а также оценка его биологической ценности.

Использовали молоко ослици киргизской породы, которых разводят в Чуйской области Кыргызстана. Образцы ослиного молока собирали в апреле, июле и сентябре. Аминокислотный состав белков молока определяли методом капиллярного электрофореза. Биологическую ценность белков оценивали по аминокислотному скору, индексу незаменимых аминокислот (индекс Осера), коэффициенту утилитарности незаменимых аминокислот и коэффициенту утилитарности аминокислотного состава.

В белке молока ослици киргизской породы выделили и идентифицировали 18 аминокислот, в том числе 8 незаменимых. Общее содержание аминокислот в весеннем молоке составило 1840,07 мг/100 г, летом этот показатель увеличился до 2037 мг/100 г (максимальное значение), а к осеннему периоду снизился до 1264,35 мг/100 г. Это связано с изменением рациона кормления. Отношение незаменимых аминокислот к заменимым близко к единице. Содержание аргинина в весеннем молоке ослици более чем в 2,5 раза выше по сравнению с осенним. Около 1/3 незаменимых аминокислот составляют лейцин и изолейцин (322,60 ± 19,35 мг/100 г молока). В летнем молоке отмечено максимальное содержание других незаменимых аминокислот, кроме валина и триптофана, которые для ослиного молока являются лимитирующими в осенний период. Суммы незаменимых аминокислот в белке исследованного ослиного молока весеннего, летнего и осеннего удоя составили 54,24, 59,26 и 34,77 г/100 г соответственно, что превышает значение в эталонном белке (27,46 г/100 г).

Белки молока ослици киргизской породы характеризуются высокой биологической ценностью, независимо от сезона года. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной возможности использования ослиного молока в составе новых продуктов функционального (специального) назначения.

Ключевые слова. Ослиное молоко, белок, аминокислотный состав, незаменимые аминокислоты, аминокислотный скор, функциональное питание

Финансирование. Исследование выполнено в рамках проекта, финансируемого Министерством образования и науки Кыргызской Республики (номер гранта 007652).

Для цитирования: Турганбаева Н. К., Мусульманова М. М., Кыдыралиев Н. А. Сезонные изменения биологической ценности белков молока ослици киргизской породы // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 591–599. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2459>

Seasonal Variations in the Biological Value of Kyrgyz Donkey's Milk Proteins



Nadira K. Turghanbaeva^{1,*}, Mukarama M. Musulmanova²,
Nurudin A. Kydyraliev¹

¹ Kyrgyz-Turkish Manas University^{ROR}, Bishkek, Kyrgyz Republic

² Razzakov Kyrgyz State Technical University^{ROR}, Bishkek, Kyrgyz Republic

Received: 10.02.2023

Revised: 24.04.2023

Accepted: 02.05.2023

*Nadira K. Turghanbaeva: nadira.turghanbaeva@manas.edu.kg,

<https://orcid.org/0000-0002-7620-9236>

Mukarama M. Musulmanova: <https://orcid.org/0000-0002-4205-2875>

Nurudin A. Kydyraliev: <https://orcid.org/0000-0002-6168-8772>

© N.K. Turghanbaeva, M.M. Musulmanova, N.A. Kydyraliev, 2023



Abstract.

Due to its protein component, donkey's milk is a multifunctional product with a wide range of beneficial physiological properties. It is known for its antioxidant, anti-inflammatory, rejuvenating, antimicrobial, and antitumor effects. However, the milk of Kyrgyz donkeys has not received proper scientific attention in this respect. This study analyzed the seasonal amino acid profile and biological value of milk obtained from Kyrgyz donkeys.

The donkeys belonged to the Kyrgyz breed and inhabited the highlands of the Chui Region, Republic of Kyrgyzstan. The sampling took place in April, July, and September. The amino acid composition of milk proteins was determined by capillary electrophoresis. The biological value of proteins was assessed by amino acid score, index of essential amino acids (Auxerre index), utility ratio of essential amino acids, and utility ratio of amino acid composition.

The analysis revealed 18 amino acids, including eight essential ones. The total content of amino acids in the spring samples was 1840.07 mg/100 g. In the summer samples, this value peaked at 2037 mg/100 g; in autumn, it dropped to 1264.35 mg/100 g. The changes could be explained by the seasonal differences in the diet. The ratio of essential to non-essential amino acids approached 1:1. The milk also proved to contain arginine, which is an essential amino acid for a juvenile organism. In the spring samples, its content was 2.5 times as big as in the autumn ones. Leucine and isoleucine were responsible for 1/3 of the essential amino acids (322.60 ± 19.35 mg/100 g). The summer samples demonstrated the maximal content of some other essential amino acids, except for valine and tryptophan, which appeared to be the limiting essential amino acids for donkey's milk in the autumn period. Total essential amino acids in the spring, summer, and autumn samples amounted to 54.24, 59.26, and 34.77 g/100 g, respectively, which exceeded the value for the reference protein (27.46 g/100 g).

Kyrgyz donkey's milk proteins were of high biological value, regardless of the season, which means that donkey's milk can become part of new functional products.

Keywords. Donkey's milk, protein, amino acid composition, essential amino acids, amino acid score, functional foods

Finding. The study was part of a project supported by the Ministry of Education and Science of the Kyrgyz Republic (grant No. 007652).

For citation: Turghanbaeva NK, Musulmanova MM, Kydyraliev NA. Seasonal Variations in the Biological Value of Kyrgyz Donkey's Milk Proteins. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):591–599. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2459>

Введение

Кыргызстан славится богатством водных ресурсов, чистейшим воздухом, великолепными горными вершинами и горными озерами, а также кумысолечебницами. В стране зарегистрировано около 17 учреждений, предлагающих кумысолечение, неофициальных еще больше [1]. Наряду с лечением кобыльим молоком среди населения стало популярным лечение ослиным молоком. Однако ежегодный

учет поголовья скота в стране указывает на стабильное снижение поголовья ослов. Проведенное Министерством сельского хозяйства Кыргызской Республики статистическое исследование в рамках программы «О проведении на территории Кыргызской Республики пересчета скота и домашней птицы» информирует о том, что в период 2016–2020 гг. поголовье ослов снизилось с 43 040 до 27 586 голов, на 2021 г. поголовье составило 27 613 голов [2].

Наибольшее количество ослов разводится в Джалал-Абадской и Ошской областях, для жителей которых эти животные являются транспортным средством в фермерском хозяйстве. Снижение поголовья ослов может привести к экологическим, экономическим и социальным проблемам. В связи с этим необходимо провести ряд законодательных и административных мер по вопросу урегулирования убоя и вывоза ослов из страны.

Молочная продуктивность ослиц сравнительно низкая и составляет примерно 1,57–1,2 л/сутки [3]. Повышенная выработка молока у лактирующих ослиц происходит в первые три месяца лактации, затем снижается к 8–10 месяцу [3–5]. Ослиное молоко особенно популярно в Италии, где оно традиционно используется в качестве заменителя женского молока [5, 6].

В последние годы отмечается увеличение числа публикаций, касающихся исследования состава и свойства молока ослиц. Сравнительный состав молока различных животных и женского молока приведен в таблице 1 [7].

Как видно из таблицы 1, женское и коровье молоко различается по содержанию лактозы и протеинов. Наиболее приближенными по составу к женскому молоку является кобылье и ослиное молоко, которое относится к альбуминовым видам [7, 8].

Результаты исследований подтверждают антиоксидантные, противовоспалительные, антивозрастные, противомикробные и противораковые свойства ослиного молока, являющегося потенциальным продуктом в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний [9–11]. Китайскими учеными *in vitro* и *in vivo* было доказано, что биологически активные соединения ослиного молока способны элиминировать активные формы кислорода, активируя антиоксидантную систему, и форсировать иммунную функцию организма [12].

В Кыргызской Республике такого рода исследования только начинаются.

Целью данного исследования являлась характеристика аминокислотного профиля молока ослиц, обитающих в горной местности Кыргызстана, в зависимости от сезона года. Полученные данные использовали для оценки биологической ценности белков исследуемого молока.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования стало ослиное молоко, собранное у животных, обитающих в Чуйской долине Кыргызской Республики. Образцы были взяты у двух клинически здоровых, лактирующих ослиц киргизской породы в возрасте 5 лет. Продолжительность жеребости ослиц составила примерно 12 месяцев, период отела – март. Весенний сбор молока провели в апреле, летний – в июле, осенний – в сентябре. Ослиц доили утром, в обед и вечером, сборное молоко процеживали через чистый тканый фильтр и переливали в стерильные пакеты для хранения и замораживания.

Содержание аминокислот в исследуемом молоке определяли в испытательной лаборатории ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (г. Москва) с использованием капиллярного электрофореза Капель-205 (ООО Люмэкс, Россия). За основу была взята методика М 04-38-2009 (ГОСТ Р 55569-2013): разложение проб кислотным или (только для триптофана) щелочным гидролизом с переводом аминокислот в свободные формы, получение ФТК-производных, дальнейшее их разделение и количественное определение методом капиллярного электрофореза. Детектирование проводят в УФ-области спектра при длине волны 254 нм. Результаты исследования ослиного молока приведены в таблице 2.

Для оценки биологической ценности белков исследуемого молока рассчитали аминокислотный скор (C , %, формула 1), индекс незаменимых аминокислот (U_a , формула 2), коэффициент утилитарности незаменимых аминокислот (K_p , формула 3) и коэффициент утилитарности аминокислотного состава (R_c , формула 4) [13, 14]. Данные произведенных расчетов приведены в таблице 3.

Аминокислотный скор:

$$C = \frac{A_i}{A_{ei}} \times 100 \quad (1)$$

где A_i – массовая доля аминокислоты в исследуемом белке, г/100 г белка; A_{ei} – массовая доля незаменимой аминокислоты в эталонном белке, г/100 г белка.

Таблица 1. Химический состав женского, коровьего, ослиного и кобыльего молока

Table 1. Chemical composition of milk: women, cows, donkeys, and mares

Химический состав, %	Коровье	Ослиное	Кобылье	Женское
Жиры	3,5–3,9	0,3–1,8	0,5–2,0	3,5–4,0
Лактоза	4,4–4,9	5,8–7,4	5,8–7,0	6,3–7,0
Общее количество сухих веществ	12,5–13,0	8,8–11,7	9,3–11,6	11,7–12,9
Протеины, в том числе	3,1–3,8	1,5–1,8	1,5–2,8	0,9–1,7
Казеин	2,46–2,80	0,64–1,03	0,94–1,20	0,32–0,42
Сывороточные белки	0,55–0,70	0,49–0,80	0,74–0,91	0,68–0,83

Таблица 2. Содержание аминокислот в молоке ослиц киргизской породы и ослиц региона Синьцзян (Китай) по сезонам года

Table 2. Amino acids in Kyrgyz donkey's milk vs. Xinjiang donkey's milk (China), by season

Аминокислоты, мг/100 г молока	Молоко киргизских ослиц, сырое (собственные данные)				Молоко ослиц Синьцзян [7]
	Весна (апрель)	Лето (июль)	Осень (сентябрь)	Среднее значение	Среднее значение
Заменимые аминокислоты	905,70	1026,72	672,77	868,39	939,99
Аргинин	141,20 ± 8,47	74,86 ± 4,49	52,93 ± 3,17	89,66 ± 5,37	74,28 ± 0,03
Гистидин	84,45 ± 5,06	86,49 ± 5,18	67,15 ± 4,02	79,36 ± 4,76	37,14 ± 0,01
Пролин	295,50 ± 17,73	227,70 ± 13,66	169,20 ± 10,10	230,80 ± 13,84	141,42 ± 0,07
Серин	131,90 ± 7,91	149,50 ± 8,97	90,53 ± 5,43	123,97 ± 7,43	95,71 ± 0,04
Аланин	85,57 ± 5,13	101,10 ± 6,06	52,47 ± 3,14	79,71 ± 4,78	57,14 ± 0,02
Глицин	38,42 ± 2,30	60,57 ± 3,63	26,79 ± 1,60	41,92 ± 2,51	15,74 ± 0,00
Аспарагин + аспарагиновая кислота	50,71 ± 3,04	138,90 ± 8,33	18,10 ± 1,08	69,23 ± 4,15	145,71 ± 0,07
Глутамин + глутаминовая кислота	77,95 ± 4,67	187,60 ± 11,25	195,60 ± 11,70	153,71 ± 9,22	372,85 ± 0,18
Незаменимые аминокислоты	934,37	1010,28	591,58	845,41	688,53
Лизин	153,60 ± 9,21	176,10 ± 10,56	95,84 ± 5,75	141,84 ± 8,51	121,42 ± 0,06
Тирозин	97,91 ± 5,87	101,80 ± 6,10	56,43 ± 3,38	85,38 ± 5,12	57,14 ± 0,02
Фенилаланин	102,90 ± 6,17	102,00 ± 6,12	56,54 ± 3,39	87,14 ± 5,22	74,28 ± 0,03
Лейцин + изолейцин	301,20 ± 18,07	322,60 ± 19,35	187,60 ± 11,20	270,46 ± 16,22	229,99 ± 0,11
Метионин + цистеин	69,40 ± 3,66	102,70 ± 3,93	76,16 ± 2,53	82,75 ± 4,96	37,14 ± 0,01
Валин	90,54 ± 5,43	84,77 ± 5,08	53,56 ± 3,21	76,29 ± 4,57	107,14 ± 0,05
Треонин	85,93 ± 5,15	110,50 ± 6,63	55,35 ± 3,32	83,92 ± 5,03	61,42 ± 0,03
Триптофан	22,80 ± 1,36	9,80 ± 0,58	10,10 ± 0,60	14,23 ± 0,85	–
Соотношение незаменимых/ заменимых аминокислоты	1,03	0,98	0,87	0,97	0,73

Индекс незаменимых аминокислот (индекс Осера):

$$U_a = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n d_{A_i}} \quad (2)$$

при условии

$$d_{A_i} = \left(\frac{A_i}{A_{ei}} \right), \text{ где } A_i \leq A_{ei}$$

$$d_{A_i} = \left(\frac{A_{ei}}{A_i} \right), \text{ где } A_i \geq A_{ei}$$

где n – число аминокислот.

Коэффициент утилитарности (утилизации) (K_i) незаменимой аминокислоты, который является численной характеристикой, отражающей сбалансированность незаменимых аминокислот по отношению к эталону, рассчитали по формуле (3):

$$K_i = \frac{C_{min}}{C_i} \quad (3)$$

где C_{min} – минимальный скор незаменимых аминокислот в исследуемом белке, %, C_i – скор i -ой незаменимой аминокислоты в исследуемом белке, %.

Для расчета коэффициента утилитарности аминокислотного состава (R_c , доли единиц) использовали

данные коэффициента утилитарности незаменимых аминокислот:

$$R_c = \frac{\sum_{i=1}^n (A_i \times K_i)}{\sum_{i=1}^n A_i} \quad (4)$$

Результаты и их обсуждение

Ослиное молоко по количественному составу казеина (57 %) и сывороточных белков (43 %) относится к альбуминовому типу и содержит полный состав и близкое к эталонному количество незаменимых аминокислот. Молоко ослиц киргизской породы в этом аспекте изучено впервые. Научный и технологический интерес представляет характер изменения количественного и качественного состава аминокислот в зависимости от сезона года и стадии лактации.

Сезонные изменения аминокислотного состава исследуемого молока представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, общее содержание аминокислот в молоке ослиц киргизской породы высокое в первые месяцы лактации (весной), достигает максимума к середине лета, но снижается к концу этого периода (осень). Соотношение незаменимых и заменимых аминокислот в этом молоке в весенний период больше 1, т. е. незаменимых аминокислот в

Таблица 3. Биологическая ценность белков молока киргизской ослицы по сезонам года

Table 3. Biological value of Kyrgyz donkey's milk proteins, by season

Незаменимые аминокислоты	Эталон ФАО/ВОЗ, г/100 г идеального белка [25]	Содержание незаменимых аминокислот, г/100 г белка			Аминокислотный скор, %			Коэффициент утилитарности незаменимых аминокислот, K_i		
		Весна	Лето	Осень	Весна	Лето	Осень	Весна	Лето	Осень
Лизин	4,80	9,035 ± 0,540	10,35 ± 0,62	5,64 ± 0,33	188,2	215,6	117,5	0,70	0,40	0,67
Тирозин + фенилаланин	4,10	11,80 ± 0,70	12,00 ± 0,72	6,63 ± 0,39	287,8	292,6	161,7	0,45	0,29	0,48
Лейцин + изолейцин	9,10	17,71 ± 1,06	18,90 ± 1,13	11,03 ± 0,66	194,6	207,6	121,2	0,67	0,41	0,64
Метионин + цистеин	2,30	4,00 ± 0,24	6,07 ± 0,36	4,48 ± 0,26	173,9	263,9	194,7	0,70	0,32	0,40
Валин	4,00	5,29 ± 0,31	4,90 ± 0,29	3,15 ± 0,18	132,2	122,5	78,7	1,00	0,70	1,00
Треонин	2,50	5,058 ± 0,300	6,47 ± 0,38	3,25 ± 0,19	202,3	258,8	130,0	0,60	0,30	0,60
Триптофан	0,66	1,35 ± 0,08	0,57 ± 0,03	0,59 ± 0,03	204,5	86,3	89,0	0,64	1,00	0,80
Сумма незаменимых аминокислот, г/100 г белка	27,46	54,24	59,26	34,77						
U_a , индекс незаменимых аминокислот	1	1,90	1,93	1,10						
R_c , коэффициент утилитарности аминокислотного состава	1	1,65	0,39	0,61						

весеннем молоке больше, чем в летнем и осеннем, где это соотношение меньше 1. Среднее значение соотношения незаменимых и заменимых аминокислот молока ослиц киргизской породы выше, чем в молоке ослиц Синьцзян, что указывает на более высокую биологическую ценность первого.

Содержание аргинина в весенний период составляет $141,20 \pm 8,47$ мг/100 г, что более чем в 2,5 раза выше по сравнению с осенним периодом. Аргинин способствует снижению артериального давления и обладает антипролиферативным, антиатерогенным, противовоспалительным и антиагрегантным эффектами, а его дефицит в питании замедляет рост организма [15]. Ученые отметили улучшение показателей у больных с циррозом печени при применении аргинина: происходит снижение фиброзо- и коллагенообразования, улучшение микроциркуляции в печени [15–17]. Одним из факторов, определяющих лечебный эффект ослиного молока в отношении заболеваний печени, является повышенное содержание аргинина.

Высокое содержание гистидина в молоке ослицы киргизской породы приходится на весенний и летний периоды – 84,45 и 86,49 мг/л соответственно, к осени его содержание снижается примерно на 20 %. Несмотря на это, средние показатели содержания

гистидина в исследуемом молоке превышают средние показатели в молоке ослиц Синьцзян. Гистидин выполняет уникальную роль в буферизации протонов, хелатировании ионов металлов, улавливании активных форм кислорода и азота, кроветворении и гистаминергической системе [18]. Десятилетний опыт подтвердил эффективность гистидина как компонента, используемого для защиты миокарда при кардиохирургии, профилактики атопического дерматита, язв, воспалительных заболеваний кишечника, глазных заболеваний и неврологических расстройств [19].

Среди незаменимых аминокислот выделяется группа аминокислот с разветвленным строением алифатической боковой цепи, к которым относятся лейцин и изолейцин. Высокое содержание этих аминокислот в исследуемом молоке приходится на весенний и летний периоды. Суммарное содержание лейцина и изолейцина составляет около 32 % от среднего количества незаменимых аминокислот в ослином молоке. Лейцин и изолейцин отвечают за кроветворение, заживление ран и корреляцию уровня сахара в крови [20]. Содержание в молоке метионина и цистеина, играющих важную роль в образовании инсулина и иммуноглобулина, в летний период достигает максимума [21]. В то же время в

ослином молоке летнего периода больше глицина, чем в другие периоды. Эта аминокислота выполняет функцию тормозного нейромедиатора, контролирует процессы формирования тонкой моторики пластических процессов и обладает антиоксидантным и антитоксическим действиями, что приводит к уменьшению агрессии и повышению социальной адаптации [22]. Концентрация пролина в молоке киргизской ослицы самая высокая весной – $295,00 \pm 17,73$ мг/100 г. Проллин составляет основную часть белка соединительной ткани – коллагена, который участвует в улучшении состояния кожи и предотвращении быстрого старения и появления морщин [7]. Глутамин, стимулирующий развитие и поддержание функции мышечных тканей, в исследуемом молоке в летний и осенний периоды ($187,60 \pm 11,25$ и $195,6 \pm 11,7$ мг/100 г соответственно) вырабатывается в больших количествах, чем в весенний период ($77,95$ мг/100 г), т. е. с материнским молоком детенышу передаются необходимые компоненты для повышения выносливости. Содержание в молоке киргизских ослиц триптофана – важнейшей незаменимой аминокислоты – и α -лактальбумина достигает максимума в весенний период. Триптофан играет важную роль в развитии головного мозга и нервной системы новорожденных [23, 24]. Исследования показали, что регулярное употребление α -лактальбумина позволяет увеличить количество триптофана в плазме, улучшая некоторые неврологические функции (внимание, когнитивная способность, утренняя бодрость и др.) взрослого человека [23]. Из приведенных данных видно, что употребление ослиного молока более благоприятно в весенний и летний периоды.

Важнейшей характеристикой любого белка является его способность выполнять биологическую функцию, которая оценивается рядом показателей. Провели сравнительную оценку биологической ценности белков молока киргизской ослицы по сезонам года относительно «идеального» (эталонного) белка, результаты которой приведены в таблице 3. Массовая доля белка в исследуемом молоке равна 1,7 %.

Полученные данные (табл. 3) свидетельствуют о том, что в любой период лактации содержание незаменимых аминокислот в исследуемом ослином молоке превышает сумму незаменимых аминокислот в эталонном белке, предложенном ФАО/ВОЗ. Высокий скор имеют фенилаланин и тирозин в весенний и летний периоды. Эти ароматические аминокислоты необходимы для биосинтеза белка и нормализации функционирования щитовидной железы. Фенилаланин незаменим с точки зрения питания, а тирозин как продукт катаболизма фенилаланина зависит от его наличия в достаточном количестве в продукте. Тирозин, который воздействует на подавление аппетита и приводит к снижению отложения жиров, может синтезироваться из фенилаланина, но обратного

образования фенилаланина из тирозина не происходит [21]. Валин относится к группе протеиногенных аминокислот, является одним из важных компонентов в росте и синтезе тканей тела, необходим для нормализации метаболизма в мышцах, стабилизации гормонального фона и регулировании нервных процессов. Дефицит валина в питании может привести к расстройству нервной системы человека, депрессии и склерозу [21]. Содержание валина в исследуемом молоке снижается с $5,29$ г/100 г весной до $3,15$ г/100 г осенью.

Триптофан, лизин и метионин относятся к группе аминокислот, содержание которых в продукте оценивается при определении полноценности питания. Оптимальным считается соотношение этих аминокислот 1:5:3 [23]. В исследуемом молоке данное соотношение составляет в весенний период 1:6,7:2,7, в летний – 1:18:6,75, в осенний – 1:9,5:4,2. То есть весеннее молоко имеет наиболее оптимальное соотношение этих аминокислот.

Треонин является ключевым питательным веществом для кишечника, т. к. играет важную роль в синтезе муцина и гликопротеина, необходимых для защиты кишечного эпителия. Являясь основным компонентом иммуноглобулина, треонин играет важную роль в поддержке организма при различных вирусных инфекциях [26]. Результаты исследований метаболизма человека американскими учеными показывают, что высокий уровень треонина в плазме крови связан с увеличением продолжительности жизни человека, как минимум до 80 лет [27]. Скор этой аминокислоты в исследуемом молоке составляет в весенний период 202,3 %, в летний – 258,8 %, к осеннему периоду снижается до 130 %.

Лизин – одна из наиболее важных аминокислот, отвечающая за повышение гемоглобина в крови. Его недостаток приводит к дистрофии мышечных волокон, нарушению кальцификации костей и анемии. Средний скор этой аминокислоты в ослином молоке составляет 173,76 % с максимумом в летний период. Содержание метионина и цистеина в ослином молоке в летний и осенний периоды превышает его содержание весной примерно на 24 %. Эти аминокислоты оказывают выраженный терапевтический эффект у детей, страдающих анемией, при этом метионин является важным клеточным антиоксидантом, стабилизирующим структуру белков [25, 28, 29]. Исходя из вышеприведенного, можно предположить, что употребление ослиного молока больными, страдающими анемией, в летний и осенний периоды приведет к улучшению их самочувствия. Для подтверждения этого необходимо провести исследования с получением клинической доказательной базы положительного влияния ослиного молока на профилактику и лечение анемии.

Общая сумма незаменимых аминокислот в молоке киргизских ослиц превышает их содержание

в эталонном белке. Однако в летний и осенний периоды лимитирующей аминокислотой является триптофан, скор которого составляет меньше 100 %. В осенний период лимитирующей аминокислотой является валин. Присутствие лимитирующих аминокислот в продукте свидетельствует о необходимости оптимизации его состава через обогащение недостающей аминокислотой либо путем комбинирования с соответствующим компонентом. Индекс незаменимых аминокислот (U_a) исследуемого молока, характеризующий комплексную сбалансированность этих аминокислот, весной и летом почти в 2 раза выше, чем у идеального белка, а осенью практически равен единице (табл. 3), т. е. белок молока киргизских ослиц является полноценным. Коэффициент утилитарности аминокислотного состава (R_c), характеризующий сбалансированность аминокислотного состава, в норме должен быть равен 1. R_c ослиного молока весеннего периода равен 1,65, что указывает на сбалансированность незаменимых аминокислот по отношению к эталону. В летний и осенний периоды коэффициент снижается.

По коэффициенту утилитарности незаменимых аминокислот (K_i) можно судить о том, что триптофан из летнего молока будет использован организмом на анаболические нужды на 100 %, валин будет утилизирован на 100 % весной и летом, а усвоение остальных аминокислот варьируется в среднем в пределах от 46 до 59 %. Это значимо для характеристики биологической ценности белков ослиного молока.

Выводы

Методом капиллярного электрофореза получили данные о количественном содержании в молоке ослиц киргизской породы в разные периоды лактации 18 аминокислот, в том числе незаменимых. Сумма незаменимых аминокислот в белке ослиного молока весеннего, летнего и осеннего удоя выше суммы незаменимых аминокислот в эталонном белке – 54,24, 59,26 и 34,77 г/100 г соответственно против 27,46 г/100 г. Это свидетельствует о высокой биологической ценности ослиного молока. Среди отдельных незаменимых аминокислот имеются лимитирующие: валин в осеннем молоке имеет скор 78,7 %, триптофан со скором 86,3 и 89,0 % в летнем и осеннем молоке соответственно. Индекс незаменимых аминокислот (индекс Осера, U_a), характеризующий их сбалансированность, для белков ослиного молока осеннего удоя практически равен единице, что приравнивает их к идеальному белку.

Биологическая функция белков ослиного молока, оцененная с помощью коэффициента утилитар-

ности незаменимых аминокислот (K_i), свидетельствует о том, что значительная часть незаменимых аминокислот (вплоть до 100 % для валина и триптофана) будет использована на анаболические нужды.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о потенциальной возможности использования ослиного молока в составе новых продуктов функционального (специального) назначения.

Критерии авторства

Н. К. Турганбаева подготовила исходный материал статьи и провела расчет данных. М. М. Мусульманова критически рассмотрела рукопись, отредактировала, внесла существенный и интеллектуальный вклад в концепцию и дизайн рукописи. Н. А. Кыдыралиев внес дополнения к характеристике аминокислот. М. М. Мусульманова и Н. А. Кыдыралиев прочитали и одобрили окончательный вариант статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность А. Г. Галстяну – директору Федерального государственного автономного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ВНИМИ) и Е. А. Юровой – руководителю исследовательской лаборатории «Молоко» ВНИМИ за оказанное содействие в проведении анализов.

Contribution

N.K. Turganbaeva prepared the source material and calculated the data. M.M. Musulmanova edited the manuscript and contributed to its concept and design. N.A. Kydyraliev described the amino acid studies. M.M. Musulmanova and N.A. Kydyraliev read and approved the final version of the manuscript.

Conflict of interest

The authors declared that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to A.G. Galstyan, Director of the All-Russian Scientific Research Institute of Dairy Industry (VNIMI), and E.A. Yurova, Head of Research Lab “Milk” (VNIMI), for their assistance in the analysis.

References/Список литературы

1. Koumiss treatment. Guide to prices and clinics in Kyrgyzstan [Internet]. [cited 2023 Jan 15]. Available from: <https://ru.sputnik.kg/20210527/kumysolechebnicy-kyrgyzstana-spisok-ceny-karta-1052626676.html>

2. Survey of livestock and poultry in the Kyrgyz Republic [Internet]. [cited 2023 Jan 15]. Available from: <https://www.stat.kg/ru/publications/okonchatelnye-itogi-ucheta-skota-po-sostoyaniyu-na-1012013g-po-polnoj-programme>
3. Kaskous S, Pfaffl MW. Milk properties and morphological characteristics of the donkey mammary gland for development of an adopted milking machine – A review. *Dairy*. 2022;3(2):233–247. <https://doi.org/10.3390/dairy3020019>
4. Hassan ZM, Manyelo TG, Nemukondeni N, Sebola AN, Selaledi L, Mabelebele M. The possibility of including donkey meat and milk in the food chain: A Southern African scenario. *Animals*. 2022;12(9). <https://doi.org/10.3390/ani12091073>
5. Naydenova N. Bioactive components of donkey milk. *Food Science and Applied Biotechnology*. 2022;5(2):219–231. <https://doi.org/10.30721/fsab2022.v5.i2>
6. Prasad B. Nutritional and health benefits of donkey milk. *Journal Food Science Nutritional Therapy*. 2020;6(1):022–025. <https://doi.org/10.17352/jfsnt.000022>
7. Guo HY, Pang K, Zhang XY, Zhao L, Chen SW, Dong ML, *et al.* Composition, physiochemical properties, nitrogen fraction distribution and amino acid profile of donkey milk. *Journal of Dairy Science*. 2007;90(4):1635–1643. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-600>
8. Nayak CM, Ramachandra CT, Nidoni U, Hiregoudar S, Ram J, Naik N. Physico-chemical composition, minerals, vitamins, amino acids, fatty acid profile and sensory evaluation of donkey milk from Indian small grey breed. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;57(8):2967–2974. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04329-1>
9. Bhardwaj A, Pal Y, Legha RA, Sharma P, Nayan V, Kumar S, *et al.* Donkey milk composition and its therapeutic applications. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2020;90(6):837–841. <https://doi.org/10.56093/ijans.v90i6.104972>
10. Longodor AL, Mireşan V, Codea RA, Răducu C, Andronie L, Marchiş Z, *et al.* Antioxidant capacity in donkey milk (*Equus asinus*) depending on lactation. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*. 2019;23:181–185.
11. Taghiloo S, Allahmoradi E, Sadeghian-Kiadehi SF, Omrani-Nava V, Nazar E, Ebrahimzadeh MA. Up-regulation of human immune system function by donkey's milk. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;56. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000418449>
12. Mao X, Gu J, Sun Y, Xu S, Zhang X, Yang H, *et al.* Anti-proliferative and anti-tumour effect of active components in donkey milk on A549 human lung cancer cells. *International Dairy Journal*. 2009;19(11):703–708. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.05.007>
13. Orazov A, Nadtochii LA, Safronova AV. Assessing the biological value of milk obtained from various farm animals. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(3):447–453. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-3-447-453>
14. Serova YuM, Bolkhovitina YuS, Shemet YuYu, Beskorovainyi DV, Pyatovsky VV. The protein evaluation of the sunflower hybrid Gorstar. Relevant issues of biology, breeding, cultivation, and processing of agricultural crops: Proceedings of the XI All-Russian Conference of Young Scientists and Specialists; 2021; Krasnodar. Krasnodar: Federal Research Center V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops; 2021. p. 107–111. (In Russ.). <https://doi.org/10.25230/conf11-2021-107-111>
15. Berezin AE. Therapeutic potency of L-arginine in cardiovascular diseases. *Ukrainian Journal of Medicine*. 2019;130(2). (In Russ.). [Березин А. Е. Терапевтический потенциал L-аргинина при кардиоваскулярных заболеваниях // Украинский медицинский журнал. 2019. Т. 130. № 2.].
16. Wang Y, Liu Y, Liu Y, Zhong J, Wang J, Sun L, *et al.* Remodeling liver microenvironment by L-arginine loaded hollow polydopamine nanoparticles for liver cirrhosis treatment. *Biomaterials*. 2023;295. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2023.122028>
17. Hou X, Chen S, Zhang P, Guo D, Wang B. Targeted arginine metabolism therapy: A dilemma in glioma treatment. *Frontiers in Oncology*. 2022;12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.938847>
18. Holeček M. Histidine in health and disease: Metabolism, physiological importance, and use as a supplement. *Nutrients*. 2020;12(3). <https://doi.org/10.3390/nu12030848>
19. Elemanova RSh. Seasonal changes in the protein composition of khainak milk. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(3):555–569. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2381>
20. Kapitonova EA, Yanchenko VV. Amino acid composition determination of the regulatory complex “Baipas” by capillary electrophoresis method. *Agroindustrial Complex of Upper Volga Region Herald*. 2021;53(1):52–56. (In Russ.). <https://doi.org/10.35694/YARCX.2021.53.1.009>
21. Lysikov YuA. Amino acids in human nutrition. *Experimental and Clinical Gastroenterology Journal*. 2012;(2):88–105. (In Russ.). [Лысов Ю. А. Аминокислоты в питании человека // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2012. № 2. С. 88–105.]. <https://elibrary.ru/TBJPRX>
22. Minyaeva OA. Amino acids as biological objects in aqueous solutions. *Scientific Review. Biological Science*. 2016;(6):43–47. (In Russ.). [Миняева О. А. Аминокислоты, как биологические объекты, в водных растворах // Научное образование. Биологические науки. 2016. № 6. С. 43–47.]. <https://elibrary.ru/YHFBMP>

23. Derdak R, Pop OL, Sakoui S, Muresan C, Vodnar DC, Addoum B, *et al.* Donkey milk bioactive proteins and peptides, health and food applications – A review. Preprints. 2020. <https://doi.org/10.20944/preprints202007.0119.v1>
24. 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>.
25. Boyvin L, Séri KL, Armande AJ, Djaman JA. Lysine and threonine plasma concentrations in ivoirian patients living with human immunodeficiency virus. Journal of AIDS and HIV Research. 2017;9(9):194–201. <https://doi.org/10.5897/JAHR2017.0438>
26. Canfield C-A, Bradshaw PC. Amino acids in the regulation of aging and aging-related diseases. Translational Medicine of Aging. 2019;3:70–89. <https://doi.org/10.1016/j.tma.2019.09.001>
27. Brestensky M, Nitrayova S, Patras P, Nitra J. Dietary requirements for proteins and amino acids in human nutrition. Current Nutrition and Food Science. 2019;15(7):638–645. <https://doi.org/10.2174/1573401314666180507123506>
28. Rosenfeld MA, Yurina LV, Vasilyeva AD. The functional role of methionin oxidation in proteins: Arguments “for” and “against”. Biology Bulletin Reviews. 2021;141(4):315–335. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0042132421040050>
29. Kozich V, Stabler S. Lessons Learned from inherited metabolic disorders of sulfur-containing amino acids metabolism. The Journal of Nutrition. 2020;150(1):2506S–2517S. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa134>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2460>
<https://elibrary.ru/PMVGBF>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние сонохимического воздействия на свойства пшеничного крахмала



С. А. Бредихин¹, А. Н. Мартеха^{1,*}, В. В. Торопцев¹,
Ю. Е. Каверина¹, И. А. Короткий²

¹ Российский государственный аграрный университет –
Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева^{ROR}, Москва, Россия

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

Поступила в редакцию: 16.02.2023

Принята после рецензирования: 09.03.2023

Принята к публикации: 04.04.2023

*А. Н. Мартеха: man6630@rau-msha.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-7380-0477>

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

В. В. Торопцев: <https://orcid.org/0000-0001-6448-5586>

Ю. Е. Каверина: <https://orcid.org/0000-0002-8352-922X>

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

© С. А. Бредихин, А. Н. Мартеха,
В. В. Торопцев, Ю. Е. Каверина, И. А. Короткий, 2023



Аннотация.

Сонохимическое воздействие успешно применяется в пищевой промышленности в процессах эмульгирования, гомогенизации, диспергирования и модификации вязкости и структуры. Крахмал является одним из распространенных пищевых ингредиентов, независимо от того, входит ли он в состав сырья или добавляется для достижения или улучшения определенных свойств. Цель работы заключалась в изучении влияния сонохимического воздействия на структурно-механические свойства суспензий пшеничного крахмала.

В работе исследовались образцы суспензий, содержащие 10 % пшеничного крахмала. Обработка образцов суспензий проводилась ультразвуком сразу после приготовления с применением ультразвукового аппарата Волна-М (модель УЗТА-1/22-ОМ) или в ультразвуковой ванне (частота 22 кГц, номинальная мощность 100, 150, 300 и 400 Вт). Продолжительность сонохимического воздействия на образцы составила 15 и 30 мин. До и после обработки определяли реологические, физические и текстурные свойства крахмальных суспензий по общепринятым методикам.

Ультразвуковая обработка вызывает механическое повреждение крахмального зерна, делая его внутреннюю часть доступной для влаги при нагревании. Это приводит к изменениям структурно-механических и реологических свойств крахмальных суспензий. Все исследуемые суспензии имели неньютоновский характер. Ультразвуковая обработка увеличивала их коэффициент консистенции с 28,12 до 152,75 мкПа·с. Ультразвуковая обработка привела к снижению температуры клейстеризации всех крахмальных суспензий: с 63,4 до 61,0 °С. Применение ультразвука высокой мощности в течение более короткого периода обработки снижало прочность сформированных гелей до 1,25 Н по сравнению с аналогичным показателем геля нативного крахмала – 4,28 Н.

Обработка суспензий пшеничного крахмала ультразвуком с целью модификации его структурно-механических и реологических свойств может заменить некоторые стандартные методы (химические, физические и ферментативные). Это позволит получить модифицированные крахмалы заданного качества при одновременном снижении энергозатрат и сокращении продолжительности технологического процесса.

Ключевые слова. Крахмал, ультразвук, структурно-механические свойства, реологические свойства, клейстеризация, пищевая промышленность

Для цитирования: Влияние сонохимического воздействия на свойства пшеничного крахмала / С. А. Бредихин [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 600–611. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2460>

Sonochemical Effects on Wheat Starch



Sergey A. Bredikhin¹, Alexander N. Martekha^{1,*},
Vasily V. Toroptsev¹, Yuliya E. Kaverina¹, Igor A. Korotkiy²

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

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

Received: 16.02.2023
Revised: 09.03.2023
Accepted: 04.04.2023

*Alexander N. Martekha: man6630@rgau-msha.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-7380-0477>
Sergey A. Bredikhin: <https://orcid.org/0000-0002-6898-0389>
Vasily V. Toroptsev: <https://orcid.org/0000-0001-6448-5586>
Yuliya E. Kaverina: <https://orcid.org/0000-0002-8352-922X>
Igor A. Korotkiy: <https://orcid.org/0000-0002-7623-0940>

© S.A. Bredikhin, A.N. Martekha, V.V. Toroptsev,
Yu.E. Kaverina, I.A. Korotkiy, 2023



Abstract.

The food industry uses sonochemical treatment as part of emulsification, homogenization, and dispersion, as well as to modify viscosity and structure. Starch is one of the most common food ingredients, both as a raw material or a property-modifying additive. The research objective was to study the effect of sonochemical action on the structural and mechanical properties of wheat starch suspensions.

The study involved suspension samples with 10% wheat starch. The suspension samples were treated with ultrasound using an ultrasonic device Volna-M model UZTA-1/22-OM or in an ultrasonic bath (22 kHz; 100, 150, 300, and 400 W). The treatment time was 15 and 30 min. The rheological, physical, and textural properties were recorded according to conventional methods before and after the treatment.

The ultrasonic treatment caused mechanical damage to the starch, making it more accessible to moisture when heated. As a result, the structural, mechanical, and rheological properties of starch suspensions changed. All the studied suspensions had a non-Newtonian character. The ultrasonic treatment increased their consistency coefficient from 28.12 to 152.75 $\mu\text{Pa}\cdot\text{s}$. The gelatinization temperature of all experimental starch suspensions dropped from 63.4 to 61.0°C. The short high-power ultrasound treatment reduced the strength of gels to 1.25 N compared to that of native starch gel (4.28 N).

In this research, the ultrasound treatment of wheat starch suspensions modified the structural, mechanical, and rheological profile of starch and proved able to replace some conventional starch modification procedures, i.e., chemical, physical, or enzymatic. The new approach can provide modified starches of a preset quality while reducing energy costs and processing time.

Keywords. Starch, ultrasound, structural and mechanical properties, rheological properties, gelatinization, food industry

For citation: Bredikhin SA, Martekha AN, Toroptsev VV, Kaverina YuE, Korotkiy IA. Sonochemical Effects on Wheat Starch. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):590–611. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2460>

Введение

В пищевой промышленности внимание уделяется созданию методик, обеспечивающих минимальную обработку пищевых продуктов и способных заменить используемые стандартные процедуры консервирования. Результаты исследований свидетельствуют о том, что многие стандартные методы обработки пищевых продуктов могут быть заменены новыми методами: высокое гидростатическое давление, ультразвук, осциллирующее магнитное поле, пульсирующее электрическое поле и электромагнитное излучение. Данная замена будет способствовать улучшению органолептических свойств продуктов, повышению их пищевой ценности и

снижению энергозатрат на осуществление технологического процесса при одновременном сокращении его продолжительности.

Характерной особенностью новых методов является то, что обработка материала происходит при комнатной температуре, вызывая небольшое ее повышение, хотя сам процесс длится сравнительно недолго [1–3]. Наряду с изучением возможностей применения высокого давления для сохранения пищевых продуктов результатов достигли исследования метода ультразвуковой обработки с использованием оборудования высокой номинальной мощности. Пищевая продукция, полученная данным методом, является дополнением, а иногда полной

заменой продуктов, произведенных с помощью традиционных процессов обработки [4–6]. Сегодня ультразвук успешно применяется в пищевой промышленности в процессах эмульгирования, гомогенизации, диспергирования и модификации вязкости и текстуры. Проведенные ранее исследования показывают, что ультразвук вызывает изменение физических свойств биологического материала. Поэтому при применении сонохимических методов в пищевой промышленности важно знать поведение отдельных ингредиентов для оценки влияния ультразвуковой обработки на свойства пищевых продуктов и возможности целенаправленно изменять определенные свойства.

Крахмал является одним из наиболее распространенных пищевых ингредиентов, независимо от того, входит ли он в состав сырья или добавляется с целью достижения или улучшения определенных свойств. Благодаря своим уникальным химическим и физическим свойствам, а также пищевой ценности крахмал является важнейшим полисахаридом в рационе человека. Изучая пищевые привычки людей во всем мире, можно отметить, что от 70 до 80 % энергии поступает из различных видов крахмала, поэтому он занимает центральное место в рационе человека. В природе основная функция крахмала – быть резервным источником энергии, но ученые расширили его функцию, выйдя за пределы первоначального назначения.

Крахмал широко применяется в пищевой промышленности в качестве загустителя и желеобразующего агента, для стабилизации коллоидных систем, удержания влаги, связывания аромата, улучшения качества продукции, а также в производстве 3D-печатных пищевых объектов [7]. Путем выделения крахмала из природных источников, таких как семена и плоды злаков, получают нативный крахмал, сохраняющий свою первоначальную структуру и характеристики. Из-за таких свойств, как ретроградация и нестабильность в кислых условиях, приводящих к синерезису, а также низкой стабильности при высоких температурах и проблем, связанных с

клеястеризацией, нативный крахмал имеет ограниченное применение в пищевой промышленности [8]. Путем проведения различных модификаций с использованием химических, физических и ферментативных методов или их комбинации можно получить большое количество модифицированных крахмалов с отличными от нативного свойствами и возможностями применения как в пищевой, так и в других отраслях промышленности [9–11]. Обработка крахмала ультразвуком с применением оборудования большой номинальной мощности может его модифицировать, т. е. влиять на физико-химические свойства. Поэтому целью данного исследования являлось изучение влияния ультразвука при различной частоте, мощности и времени обработки на структурно-механические и реологические свойства суспензий пшеничного крахмала.

Объекты и методы исследования

В данной работе использовался пшеничный крахмал (ООО «Биотехнологии», Россия). Согласно декларации производителя содержание воды составляло 12,60 %, крахмала – 87,40 %, pH 10 %-ной суспензии крахмала – 7.

Приготовление суспензий. 10 %-ную суспензию готовили путем смешивания соответствующего количества порошкообразного пшеничного крахмала с дистиллированной водой. Приготовленные крахмальные суспензии гомогенизировали на магнитной мешалке и обрабатывали ультразвуком (табл. 1). Для определения набухаемости и индекса растворимости крахмалов 2 %-ные суспензии пшеничного крахмала были приготовлены таким же образом.

Обработка суспензии пшеничного крахмала ультразвуковым аппаратом. Ультразвуковой аппарат представляет собой прибор Волна-М модели УЗТА-1/22-ОМ производства ООО «Центр ультразвуковых технологий» (Бийск, Беларусь).

Характеристики данного ультразвукового аппарата: эффективная выходная мощность – 1000 Вт, напряжение 220 В, частота ультразвука – 22 кГц, амплитуда – 12–260 мкм. Приготовленную крахмальную

Таблица 1. Параметры сонохимического воздействия на крахмальную суспензию

Table 1. Parameters of sonochemical effect on starch suspension

Отметка образца	Способ воздействия	Номинальная мощность ультразвука, Вт	Время воздействия, мин
Контроль	Без обработки	–	–
S1	Ультразвуковая ванна	150	15
S2	Ультразвуковая ванна	150	30
S3	Ультразвуковой зонд	100	15
S4	Ультразвуковой зонд	100	30
S5	Ультразвуковой зонд	300	15
S6	Ультразвуковой зонд	300	30
S7	Ультразвуковой зонд	400	15
S8	Ультразвуковой зонд	400	30

суспензию обрабатывали ультразвуковым зондом диаметром 20 мм с выходной мощностью ультразвука 100, 300 и 400 Вт и частотой 22 кГц. Воздействие длилось 15 и 30 мин с постоянным циклом 100 %.

Обработка суспензии пшеничного крахмала в ультразвуковой ванне. Приготовленные крахмальные суспензии объемом 500 мл помещали в ультразвуковую ванну и обрабатывали ультразвуком частотой 22 кГц в течение 15 и 30 мин (образцы S1 и S2 соответственно). Сонохимический преобразователь номинальной мощностью 150 Вт подключали к внешней поверхности ванны, содержащей 500 мл суспензии, которую подвергали непрерывному воздействию ультразвуковых волн от стенки ванны.

Определение интенсивности применяемого ультразвука. Поскольку при ультразвуковой обработке жидкости выделяется тепло, то мониторинг температуры жидкости, в зависимости от времени, приводит к необходимости расчета общей мощности ультразвука (1):

$$P = m \times C_p \times \frac{dT}{dt} \quad (1)$$

где P – суммарная мощность ультразвукового излучателя, Вт; m – масса обрабатываемой жидкости, г; C_p – удельная теплоемкость жидкости при постоянном давлении, Дж/кг·К; dT/dt – тангенс угла наклона касательной к кривой температурной зависимости в процессе ультразвуковой обработки. Интенсивность ультразвука выражается в Вт на единицу излучающей поверхности или поверхности зонда (Вт/см²).

Определение реологических свойств крахмальных суспензий. Все измерения реологических свойств проводили на ротационном реометре Rheometer DV3T при температуре 20 °С. На основе измеренных данных (скорость и напряжение сдвига) рассчитали реологические параметры (коэффициент консистенции и индекс текучести) с использованием методов линейной регрессии. Коэффициент согласованности k (Па·сⁿ) равен антилогарифмическому значению константы линейной регрессии значений напряжения сдвига и скорости сдвига, а показатель текучести соответствует коэффициенту линейной регрессии. Для расчета реологических параметров использовали закон Оствальда де Вилля:

$$\tau = k \times D^n \quad (2)$$

где τ – напряжение сдвига, Па; k – коэффициент консистенции, Па·сⁿ; D – скорость сдвига, с⁻¹; n – показатель текучести.

Свойства клейстеризации крахмальных суспензий определяли с использованием прибора Микро Виско-Амилограф Brabender (Германия). При определении свойств образцы подвергались нагреву по температурной программе от 30 до 95 °С со скоростью нагрева 7,5 °С/мин. Образцы выдерживали 1 мин при

температуре 50 °С и 5 мин при максимальной температуре 95 °С. По полученным кривым определяли значения следующих показателей: температура начала клейстеризации (°С), максимальная вязкость (BU), величина уменьшения вязкости при охлаждении (BU), увеличение вязкости при нагревании (BU).

Определение набухаемости и показателя растворимости пшеничного крахмала. Общее сухое вещество состоит из всего количества вещества из состава пробы, которое не испаряется при определенных условиях. Способность к набуханию (SP) и индекс растворимости крахмала (WS) определяли с использованием процедуры, определенной по методике [12]. При определении набухаемости и показателя растворимости использовали предварительно приготовленные 2 %-ные суспензии нативного и обработанного ультразвуком крахмала. Температуры, при которых проводились измерения, составляли 25 и 65 °С. Суспензии нагревали при заданных температурах в течение 5 и 15 мин.

Способность к набуханию (SP , г гидратированных молекул/г сухого вещества крахмала) рассчитывали по формуле (3):

$$SP = W_G / W_{STG} \quad (3)$$

где W_G – масса геля, г; W_{STG} – масса сухого вещества в геле, г.

Показатель растворимости (WS , %), рассчитывали по формуле (4):

$$WS = \left(\frac{W_1}{W_0} \right) \times 100 \quad (4)$$

где W_1 – доля сухого вещества в супернатанте, %; W_0 – доля сухого вещества в исходной суспензии, %.

Определение текстурных свойств суспензий пшеничного крахмала. Текстурные свойства суспензий пшеничного крахмала определяли путем нагревания предварительно приготовленной суспензии крахмала до 80 °С в течение 15 мин на водяной бане при постоянном перемешивании до образования геля. После образования геля образцы быстро охлаждали до комнатной температуры погружением в воду со льдом и хранили при +4 °С до дальнейшего анализа.

Текстурные свойства образовавшихся гелей определяли через 24 ч. Определение прочности геля проводили на анализаторе текстуры Структурометр СТ-2 (ООО «Лаборатория качества», Россия). Скорость измерительного цилиндра 1 мм/с. Глубина внедрения в образец составила 10 мм.

На основании полученных кривых в течение 2-х циклов измерений были рассчитаны текстурные свойства крахмальных гелей: прочность, адгезионная и когезионная способности, эластичность и жесткость.

Статистическая обработка результатов. В рамках статистической обработки и интерпретации полученных результатов был проведен дисперсионный

анализ (ANOVA). Для обработки результатов использовали программное обеспечение SPSS версии 21.0 (SPSS Inc., США). Для сравнения между группами использовали дисперсионный анализ (ANOVA) при уровне значимости 5 %. Результаты интерпретировали так, что статистически незначимые результаты отмечены буквой а, статистически значимые буквой б.

Результаты и их обсуждение

Распространение акустической волны в среде вызывает изменения, наиболее существенными из которых являются нагрев, кавитация, структурные эффекты, сжатие и расширение, турбулентность и др. Из-за указанных изменений возможно избирательное повышение температуры за счет удельного поглощения акустической энергии.

Акустическая кавитация включает в себя образование, рост и резкое схлопывание мелких пузырьков или пустот в жидкости в результате колебаний давления, поскольку каждый элемент объема подвергается воздействию различного давления. Быстрое схлопывание кавитационных пузырьков вызывает высокий градиент давления и высокие локальные ускорения слоев жидкости в окружающей их среде. Это приводит к сдвиговым напряжениям, не оказывающим существенного влияния на малые молекулы, но обладающим способностью разрывать полимерные цепи при условии, что они длиннее определенных предельных значений. Изменения физических (мутность, набухание и растворимость), текстурных и морфологических характеристик суспензий пшеничного крахмала являются результатом механико-химических или сдвиговых напряжений, возникновение которых обусловлено турбулентностью потока из-за акустической кавитации [13, 14]. Скорость и эффективность процесса ультразвуковой модификации крахмалов зависят от применяемой частоты и мощности ультразвука, происхождения крахмала (соотношение амилозы и амилопектина), размера и структуры крахмальных зерен [15–17].

Имплозивное исчезновение пузырьков из-за высоких частот ультразвука представляет собой адиабатический процесс, который приводит к быстрому кратковременному повышению температуры примерно до 5000 °K в газовой фазе при схлопывании пузырьков и выше 1000 °K в тонком слое жидкой фазы вблизи пузырьков [18]. Вышеупомянутое механико-химическое воздействие можно контролировать при помощи изменения интенсивности воздействия ультразвука (табл. 2).

Интенсивность излучаемых ультразвуковых колебаний рассчитывается исходя из избирательного повышения температуры крахмальных суспензий за счет удельного поглощения акустической энергии при ультразвуковой обработке. На основе взаимосвязи между температурой и временем составляется полином второй степени, а коэффициент направления полученной кривой представляет собой отношение dT/dt , необходимое для определения интенсивности воздействия ультразвука.

Влияние ультразвука на реологические свойства. Реологические параметры суспензий пшеничного крахмала адекватно определяются с применением закона Оствальда де Вилля, т. к. коэффициент детерминации высок (от 0,992 до 0,999). По полученным показателям текучести все образцы классифицируются как нестационарные неньютоновские жидкости, а все модельные крахмальные суспензии демонстрируют дилатантный характер ($n > 1$), что соответствует предполагаемому характеру крахмальных суспензий.

Ультразвуковая модификация крахмальных суспензий приводит к изменению реологических свойств пшеничного крахмала (табл. 3, рис. 1 и 2).

Вязкость крахмальной суспензии можно увеличить или уменьшить, применяя подходящую программу ультразвуковой обработки, которая зависит от частоты колебаний, времени обработки и интенсивности. Соотношение амилозы и амилопектина можно рассматривать как один из основных факторов, влияющих на изменение вязкости крахмальных суспензий

Таблица 2. Интенсивность сонохимической обработки крахмальной суспензии

Table 2. Intensity of sonochemical treatment of starch sus

Образец	Начальная температура образца, °C	Температура образца после испытания, °C	Интенсивность применяемого ультразвука, Вт/см ²
Контроль	20,0	20,0	–
S1	20,1	20,8	1,30
S2	20,1	21,7	2,20
S3	19,8	36,7	34,22
S4	19,7	44,3	41,70
S5	20,5	39,4	37,45
S6	10,6	42,0	57,64
S7	10,2	37,8	52,14
S8	10,0	47,0	77,24

Таблица 3. Реологические характеристики крахмальной суспензии при температуре 20 °С

Table 3. Rheological profile of starch suspension at 20°C

Образец	Эффективная вязкость, мПа·с	Коэффициент консистенции, мкПа·с	Индекс текучести	Коэффициент детерминации
Контроль	5,87	14,75	1,832	0,998
S1	5,80	28,12	1,747	0,997
S2	5,78	42,06	1,691	0,997
S3	5,87	69,01	1,621	0,999
S4	5,88	40,45	1,695	0,992
S5	5,98	22,22	1,784	0,995
S6	6,34	47,09	1,686	0,998
S7	5,90	30,96	1,734	0,999
S8	8,67	152,75	1,565	0,999

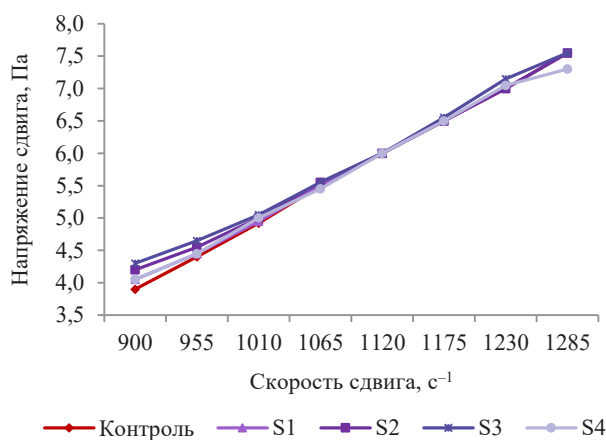


Рисунок 1. Зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига крахмальной суспензии для образцов S1–S4

Figure 1. Effect of shear rate on shear stress, samples S1–S4

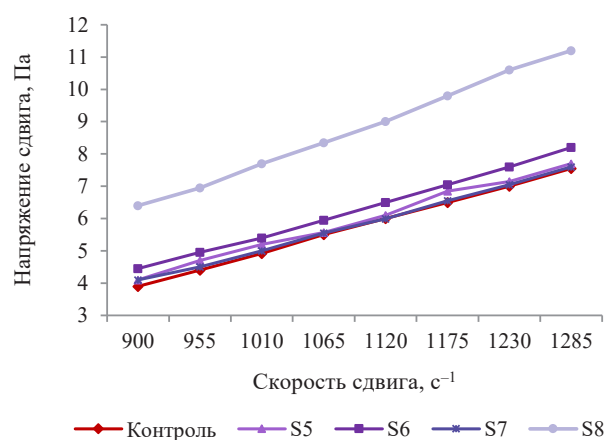


Рисунок 2. Зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига крахмальной суспензии для образцов S5–S8

Figure 2. Effect of shear rate on shear stress, samples S5–S8

при ультразвуковой модификации [19, 20]. Указанные изменения можно объяснить структурой крахмального зерна. Гранулы крахмала содержат участки средней кристалличности (амилопектин) и аморфные участки (амилоза), в которых полимерные цепи менее упорядочены и более чувствительны к акустической кавитации. Текущие данные указывают на возможность обработки ультразвуком аморфных областей, в то время как компактные кристаллические области с трудом разрушаются ультразвуком. Следствием разложения аморфных областей ультразвуком является увеличение водоудерживающей способности ядра крахмальной гранулы, в результате чего увеличивается вязкость системы. Такие результаты можно объяснить влиянием ультразвука на структуру гранулы крахмала и на структуру самой молекулы крахмала. Проникновение молекул воды в гранулу крахмала облегчается за счет кавитационных сил, создаваемых имплозией кавитации (пузыри). Деполимеризация молекулы крахмала и механические повреждения поверхности, вызванные применением

ультразвука, влияют на реологические свойства обработанных суспензий [21, 22]. Схлопывание кавитационных пузырьков вызывает изменения давления и расширяющихся завихрений вблизи гранул. В результате этого возникают силы сдвига, способные создавать зазоры в гранулах крахмала и разрушать полимерные цепи за счет разрыва ковалентных связей. При нарушении кристаллической структуры молекул крахмала молекулы воды связываются со свободными ОН-группами амилозы и амилопектина через водородные связи, что приводит к набуханию [23, 24]. При обработке суспензий пшеничного крахмала в ультразвуковой ванне из-за малой интенсивности ультразвука (1,30–2,20 Вт/см²) предполагался только его гомогенизирующий эффект. Однако полученные результаты, особенно при более длительной обработке (30 мин – S2), позволяют утверждать, что в крахмальном зерне происходят изменения, влияющие на реологические свойства, т. е. на увеличение вязкости и коэффициента консистенции, по сравнению с суспензиями, приготовленными с нативным пшеничным крахмалом [25, 26].

При обработке крахмальных суспензий в Микро Виско-Амиллографе Brabender (рис. 3 и 4, табл. 4,) в результате нагревания в присутствии воды гранулы крахмала превращаются в гель, т. е. гранулы набухают, закристаллизованные части плавятся, а крахмальные цепи гидратируются. Структура изменяется в процессе гелеобразования: плавление кристаллов и расширение двойной спирали, поглощение воды аморфным фоном, изменение фрагментов ами-

лопектина и высвобождение амилозы из гранул [27]. Полученные результаты демонстрировали изменение максимальной вязкости и начало клейстеризации суспензий пшеничного крахмала до и после ультразвуковой обработки. Во всех модельных суспензиях наблюдалось увеличение максимальной вязкости. Модельные суспензии, обработанные в ультразвуковой ванне, имели наибольшую максимальную вязкость пшеничного крахмала, а увели-

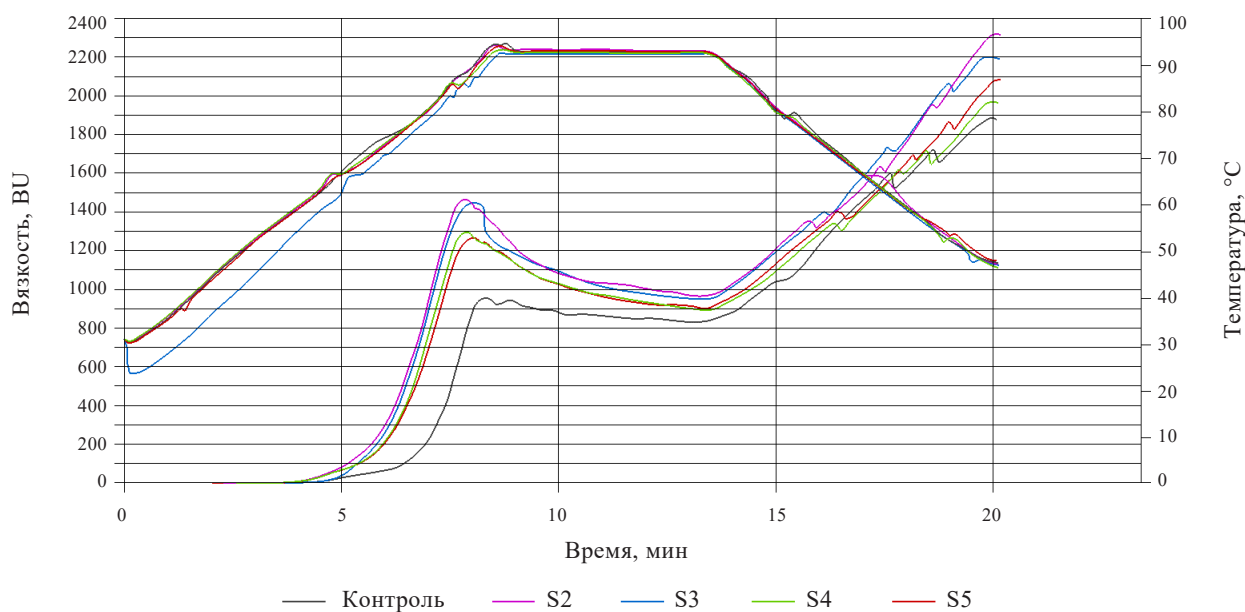


Рисунок 3. Вискограммы нативного (контроль) и обработанного ультразвуком пшеничного крахмала (S1–S4)

Figure 3. Viscograms of native (control) and sonicated wheat starch, samples S1–S4

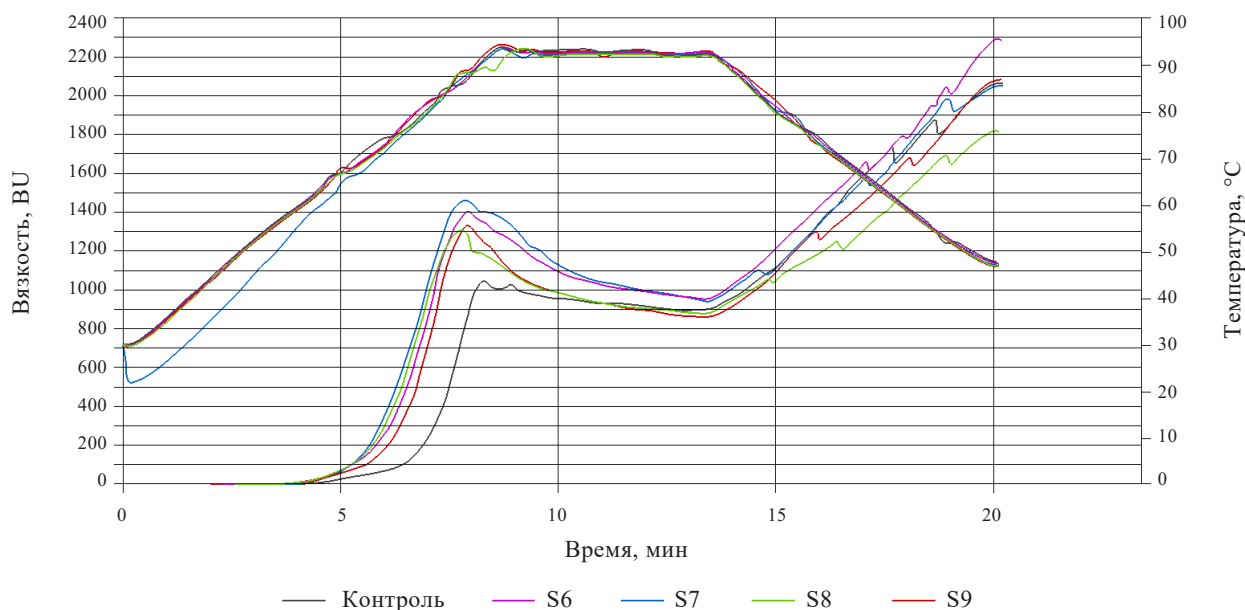


Рисунок 4. Вискограммы нативного (контроль) и обработанного ультразвуком пшеничного крахмала (S5–S8)

Figure 4. Viscograms of native (control) and sonicated wheat starch, samples S5–S8

Таблица 4. Вязкостные характеристики крахмальной суспензии

Table 4. Viscosity profile of starch suspensions

Образец	Максимальная вязкость, BU	Вязкость при охлаждении, BU	Вязкость при нагревании, BU	Температура клейстеризации, °C
Контроль	966	131	897	63,4
S1	1475	504	1093	60,4
S2	1455	499	1062	60,4
S3	1301	398	864	60,3
S4	1273	364	922	60,3
S5	1289	404	991	61,1
S6	1353	476	893	61,1
S7	1220	405	718	61,0
S8	1232	434	939	61,0

чение номинальной мощности ультразвукового излучателя приводило к линейному уменьшению максимальной вязкости. Начало клейстеризации в модельных суспензиях пшеничного крахмала уменьшилось по сравнению с нативным. Снижение начальных температур клейстеризации свидетельствует о более раннем начале стадии набухания гранул при нагревании. Такое поведение связано с увеличением доли аморфных областей в гранулах крахмала при ослаблении и разрушении кристаллических областей в крахмале [28]. Таким образом, установленные эффекты ультразвуковой обработки крахмальных суспензий находятся в соответствии с общим снижением связывающей способности крахмальных цепей, а также с увеличением гидратации крахмальных зерен. Следовательно, процесс клейстеризации может начаться при более низких температурах, а большее набухание гранул приведет к увеличению максимальной вязкости.

Влияние ультразвука на физические свойства.

Способность к набуханию и растворимость могут быть изменены ультразвуковой модификацией (рис. 5–8), интенсивность которой зависит от номинальной мощности и источника ультразвука (зонд или ванна), времени обработки и применяемой частоты [29].

Способность к набуханию и показатель растворимости позволяют судить о степени двустороннего взаимодействия цепей крахмала в пределах аморфной и кристаллической областей крахмального зерна. Их взаимодействие определяется соотношением амилозы и амилопектина, содержанием фосфора, их конформацией и степенью разветвленности [30].

Результаты, представленные на рисунках 5–8, показывают тенденцию повышения способности к набуханию и индекса растворимости с увеличением

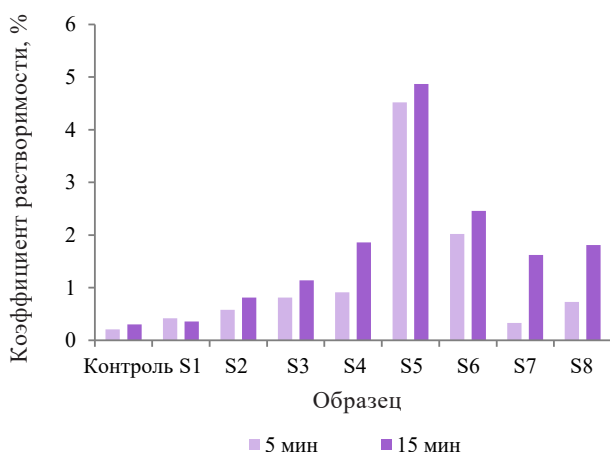


Рисунок 5. Влияние ультразвука на коэффициент растворимости крахмальной суспензии при температуре 25 °C

Figure 5. Effect of ultrasound on solubility coefficient of starch suspensions at 25 °C

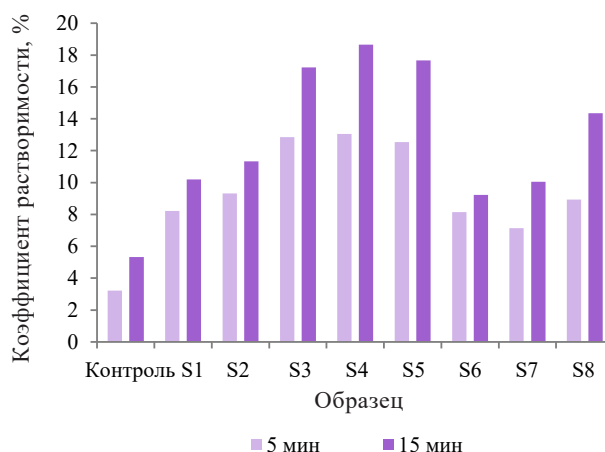


Рисунок 6. Влияние ультразвука на коэффициент растворимости крахмальной суспензии при температуре 65 °C

Figure 6. Effect of ultrasound on solubility coefficient of starch suspensions at 65 °C

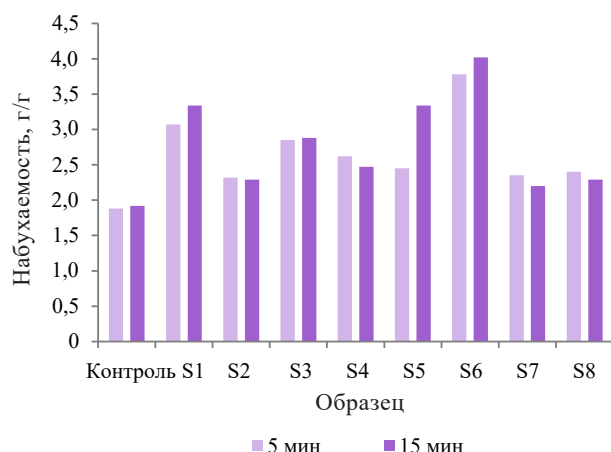


Рисунок 7. Влияние ультразвука на набухаемость крахмальной суспензии при температуре 25 °C

Figure 7. Effect of ultrasound on swelling of starch suspensions at 25°C

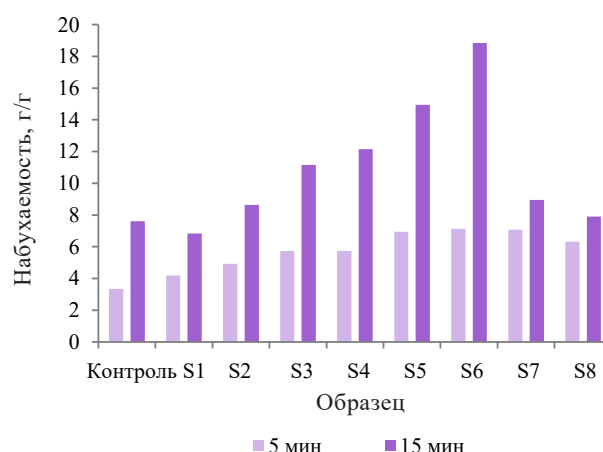


Рисунок 8. Влияние ультразвука на набухаемость крахмальной суспензии при температуре 65 °C

Figure 8. Effect of ultrasound on swelling of starch suspensions at 65°C

времени обработки. Обработка крахмальных суспензий ультразвуком высокой интенсивности приводит к структурной перестройке крахмального зерна. В результате этого происходит взаимное отталкивание крахмальных зерен, способствующее связыванию воды между аморфными участками гранул и последующему увеличению их плотности, способности к набуханию и растворимости [31]. Наибольшее увеличение набухающей способности пшеничного крахмала наблюдалось после обработки ультразвуковым датчиком номинальной мощностью 300 Вт (рис. 6). Повышение растворимости может быть связано с разрывом гликозидных связей в полимерных цепях молекулы крахмала и структурным ослаблением гранулы крахмала из-за обработки ультразвуком. Это соотносится с результатами исследований, показывающих, что увеличение способности к набуханию влечет за собой повышение растворимости [32].

Молекулы амилозы и молекулы с низкой молекулярной массой диффундируют в окружающую среду за счет разрушения структуры гранул крахмала. В результате этого гранулы, демонстрирующие более высокую степень набухания, способны высвобождать большее количество молекул амилозы (рис. 5–8). Кроме того, при увеличении мощности ультразвука повышаются способность к набуханию и индекс растворимости. Увеличение способности к набуханию обработанных ультразвуком крахмалов может быть связано со степенью деградации крахмала, определяющей свойства набухания кукурузного крахмала. Это объясняется разрушением аморфных слоев, которые дестабилизируют кристаллический слой, тем самым увеличивая гидратацию и набухание крахмала.

Влияние ультразвука на текстурные свойства.

Текстурные свойства крахмальных гелей изменяются в зависимости от мощности и частоты колебаний применяемого ультразвука, а также времени обработки крахмальных суспензий (табл. 5, рис. 9).

Прочность гелей пшеничного крахмала после обработки суспензий ультразвуком (ультразвуковая ванна и ультразвуковой датчик) в течение 30 мин вызвала повышение прочности образованных гелей по сравнению с нативным крахмалом. Прочность геля крахмала обусловлена его ретроградацией, связанной с синерезисом воды и амилопектина. Высокая прочность гелей является следствием высокой доли амилозы и длинных цепей амилопектина, а также способностью молекул амилозы образовывать «сеть», которая удерживает молекулы воды в геле. Молекулы амилозы соединяются в структуру двойной спирали, а молекулы амилопектина соединены друг с другом посредством коротких внешних цепей [33]. При применении ультразвука высокой мощности в течение более короткого периода обработки (15 мин – образцы S1, S3 и S7) прочность сформированных гелей оказалась ниже, чем прочность геля нативного крахмала (рис. 9, табл. 3). Это можно объяснить деградацией молекулы крахмала за счет разрушения и перемещения цепей амилозы и амилопектина, в то время как применение гораздо более высокой мощности ультразвуковой обработки (400 Вт) еще больше разрушит гранулы крахмала, а повреждение вызовет снижение потенциала образования геля (S7 и S8).

Адгезионная способность крахмальных гелей, обработанных ультразвуком, обычно ниже, чем у гелей нативного крахмала. Исключением являются гели, обработанные ультразвуком мощностью

Таблица 5. Текстурные параметры крахмальной суспензии

Table 5. Textural profile of starch suspensions

Образец	Прочность, Н	Адгезионная способность, Н/мм	Когезионная способность	Эластичность	Жесткость
Контроль	$4,28 \pm 0,11^a$	$1,228 \pm 0,090^a$	$0,333 \pm 0,080^a$	$0,931 \pm 0,080^a$	$1,418 \pm 0,050^a$
S1	$3,11 \pm 0,10^b$	$1,164 \pm 0,080^a$	$0,434 \pm 0,060^b$	$0,977 \pm 0,070^a$	$1,343 \pm 0,040^a$
S2	$7,44 \pm 0,10^c$	$0,923 \pm 0,070^b$	$0,788 \pm 0,050^b$	$0,996 \pm 0,060^a$	$5,848 \pm 0,040^b$
S3	$2,56 \pm 0,10^b$	$1,064 \pm 0,080^a$	$0,382 \pm 0,060^a$	$0,933 \pm 0,070^a$	$0,973 \pm 0,030^b$
S4	$8,30 \pm 0,11^b$	$1,373 \pm 0,080^a$	$0,267 \pm 0,060^a$	$0,941 \pm 0,080^a$	$2,208 \pm 0,050^b$
S5	$4,72 \pm 0,12^a$	$1,249 \pm 0,090^a$	$0,222 \pm 0,060^b$	$0,933 \pm 0,070^a$	$1,042 \pm 0,060^b$
S6	$9,85 \pm 0,11^b$	$1,271 \pm 0,070^a$	$0,684 \pm 0,060^b$	$1,002 \pm 0,060^b$	$6,726 \pm 0,040^b$
S7	$1,25 \pm 0,11^b$	$0,856 \pm 0,070^b$	$0,440 \pm 0,090^b$	$0,954 \pm 0,070^a$	$0,548 \pm 0,060^b$
S8	$0,92 \pm 0,10^b$	$0,720 \pm 0,070^b$	$0,599 \pm 0,090^b$	$0,980 \pm 0,100^a$	$0,550 \pm 0,070^b$

*Результаты представлены как среднее значение двух определений $\pm$ стандартное отклонение.

*The results are presented as the mean of two determinations $\pm$ standard deviation.

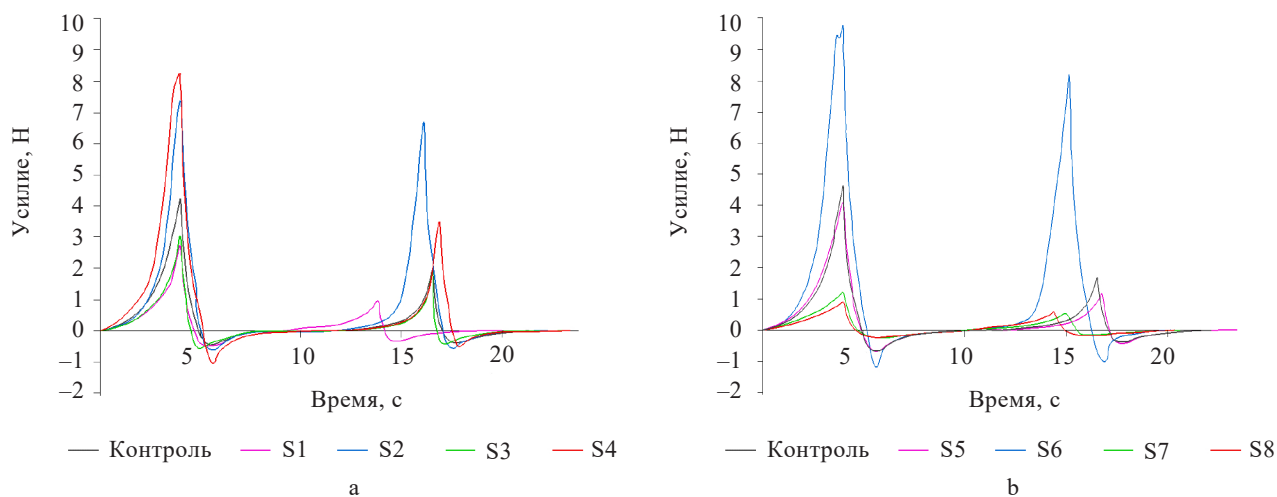


Рисунок 9. Анализ текстурных свойств геля пшеничного крахмала до (а) и после (б) обработки ультразвуком

Figure 9. Textural properties of wheat starch gel before (a) and after (b) sonication

100 Вт/30 мин (S4), 300 Вт/15 мин (S5) и 300 Вт/30 мин (S6). Когезионная способность, показывающая, насколько эффективнее крахмальный гель оказывает сопротивление повторному воздействию на него, была выше у гелей, подвергавшихся более длительной ультразвуковой обработке (S2, S6 и S8) по сравнению с нативным образцом. Наибольшее влияние на когезионную способность крахмальных гелей оказала обработка 30 мин в ультразвуковой ванне (S2). Эластичность всех образовавшихся гелей после обработки ультразвуком была выше, чем у гелей нативного крахмала. Наибольшую эластичность и эластичность показали образцы S6.

Выводы

Результаты работы показали, что обработка суспензии пшеничного крахмала ультразвуком высокой интенсивности вызывает механическое повреждение крахмального зерна, делая его внутрен-

нюю часть более доступной для влаги при нагревании. Это приводит к изменению структурно-механических и реологических свойств крахмальных суспензий. Установлено, что интенсивность изменения реологических и теплофизических свойств зависит от частоты, времени обработки и интенсивности применяемого ультразвука. Ультразвуковая обработка вызывает увеличение коэффициента консистенции всех испытанных систем и снижение температуры клейстеризации всех крахмальных суспензий. Снижение начальных температур клейстеризации свидетельствует о более ранней стадии набухания гранул при нагревании.

Полученные результаты обозначили тенденцию к улучшению набухаемости и повышению показателя растворимости с увеличением времени обработки и номинальной мощности ультразвука. Наибольшее увеличение набухаемости и показателя растворимости пшеничного крахмала наблюдалось

после обработки ультразвуковым зондом номинальной мощностью 300 Вт. Дальнейшее увеличение мощности ультразвука снижает растворимость и набухаемость пшеничного крахмала. Прочность гелей пшеничного крахмала после обработки суспензий ультразвуком в течение 30 мин выше, чем у нативного крахмала, а при обработке в течение 15 мин ниже, чем у гелей, приготовленных с использованием нативного крахмала. Другие исследованные текстурные свойства (адгезионная и когезионная способности, эластичность и жесткость) были выше у обработанных ультразвуком крахмальных гелей по сравнению с нативным образцом.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод о том, что обработка суспензий пшеничного крахмала ультразвуком высокой интенсивности с целью модификации его структурно-механических и реологических свойств может заменить некоторые применяемые процедуры модификации крахмала (химические, физические и ферментативные). Это позволит получать модифицированные крахмалы

заданного качества при одновременном сокращении продолжительности технологического процесса и снижении энергозатрат на его осуществление.

Критерии авторства

С. А. Бредихин руководил работой. Все авторы принимали участие в исследованиях, обработке данных и написании текста.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

S.A. Bredikhin supervised the research. Other authors performed the experiments, processed the obtained data, and wrote the manuscript.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Vela AJ, Villanueva M, Li C, Hamaker B, Ronda F. Ultrasound treatments of tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] flour rupture starch α -(1,4) bonds and fragment amylose with modification of gelatinization properties. LWT. 2023;174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114463>
2. Eremeeva NB, Makarova NV, Zhidkova EM, Maximova VP, Lesova EA. Ultrasonic and microwave activation of raspberry extract: antioxidant and anti-carcinogenic properties. Foods and Raw Materials. 2019;7(2):264–273. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-264-273>
3. Ermolaev VA, Prosekov AYU. Vacuum technologies of milk-protein concentrates. Kemerovo: Kuzbassvuzizdat; 2010. 211 p. (In Russ.). [Ермолаев В. А., Просеков А. Ю. Вакуумные технологии молочно-белковых концентратов. Кемерово: Кузбассвузиздат, 2010. 211 с.]. <https://elibrary.ru/QNHYGd>
4. Shi M, Wang F, Lan P, Zhang Y, Zhang M, Yan Y, et al. Effect of ultrasonic intensity on structure and properties of wheat starch-monoglyceride complex and its influence on quality of norther-style Chinese steamed bread. LWT. 2021;138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110677>
5. Li S, Li Q, Zhu F, Song H, Wang C, Guan X. Effect of vacuum combined ultrasound treatment on the fine structure and physiochemical properties of rice starch. Food Hydrocolloids. 2022;124. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107198>
6. Tang J, Liang Q, Ren X, Raza H, Ma H. Insights into ultrasound-induced starch-lipid complexes to understand physicochemical and nutritional interventions. International Journal of Biological Macromolecules. 2022;222:950–960. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.242>
7. Zhang J, Li Y, Cai Y, Ahmad I, Zhang A, Ding Y, et al. Hot extrusion 3D printing technologies based on starchy food: A review. Carbohydrate Polymers. 2022;294. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119763>
8. Zhuang J, Liu H, You L, Xu F, Zeng H, Zeng S. Influence of ultrasonic-microwave power on the structure and *in vitro* digestibility of lotus seed starch-glycerin monostearin complexes after retrogradation. International Journal of Biological Macromolecules. 2023;228:59–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.188>
9. Navikaite-Snipaitiene V, Rosliuk D, Almonaityte K, Rutkaite R, Vaskeliene V, Raisutis R. Ultrasound-activated modified starch microgranules for removal of ibuprofen from aqueous media. Starch – Stärke. 2022;74(5–6). <https://doi.org/10.1002/star.202100261>
10. Rahaman A, Kumari A, Zeng X-A, Farooq MA, Siddique R, Khalifa I, et al. Ultrasound based modification and structural-functional analysis of corn and cassava starch. Ultrasonics Sonochemistry. 2021;80. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105795>
11. Almeida RLJ, Santos NC, dos Santos Pereira T, Monteiro SS, da Silva LRI, da Silva Eduardo R, et al. Extraction and modification of Achachairu's seed (*Garcinia humilis*) starch using high-intensity low-frequency ultrasound. Journal of Food Process Engineering. 2022;45(5). <https://doi.org/10.1111/jfpe.14022>
12. Chang Y-H, Lin J-H, Chang S-Y. Physicochemical properties of waxy and normal corn starches treated in different anhydrous alcohols with hydrochloric acid. Food Hydrocolloids. 2006;20(2–3):332–339. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.02.024>

13. Jamalabadi M, Saremnezhad S, Bahrami A, Jafari SM. The influence of bath and probe sonication on the physicochemical and microstructural properties of wheat starch. *Food Science and Nutrition*. 2019;7(7):2427–2435. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1111>
14. Bredihin SA, Andreev VN, Martekha AN, Schenzle MG, Korotkiy IA. Erosion potential of ultrasonic food processing. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(2):335–344. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-335-344>
15. Abedi E, Pourmohammadi K, Jahromi M, Niakousari M, Torri L. The effect of ultrasonic probe size for effective ultrasound-assisted pregelatinized starch. *Food and Bioprocess Technology*. 2019;12:1852–1862. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02347-2>
16. Sun Y, Yang Y, Zheng L, Zheng X, Xiao D, Wang S, *et al.* Physicochemical, structural, and digestive properties of banana starch modified by ultrasound and resveratrol treatments. *Foods*. 2022;11(22). <https://doi.org/10.3390/foods11223741>
17. Wang L, Wang M, Zhou Y, Wu Y, Ouyang J. Influence of ultrasound and microwave treatments on the structural and thermal properties of normal maize starch and potato starch: A comparative study. *Food Chemistry*. 2022;377. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131990>
18. Luo J, Xu W, Li R. Collapse of cavitation bubbles near air bubbles. *Journal of Hydrodynamics*. 2020;32(5):929–941. <https://doi.org/10.1007/s42241-019-0061-x>
19. Shang L, Wu C, Wang S, Wei X, Li B, Li J. The influence of amylose and amylopectin on water retention capacity and texture properties of frozen-thawed konjac glucomannan gel. *Food Hydrocolloids*. 2021;113. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106521>
20. Zhang Y, Li B, Zhang Y, Xu F, Zhu K, Li S, *et al.* Effect of degree of polymerization of amylopectin on the gelatinization properties of jackfruit seed starch. *Food Chemistry*. 2019;289:152–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.033>
21. Golkar A, Milani JM, Motamedzadeghan A, Kenari RE. Physicochemical, structural, and rheological characteristics of corn starch after thermal-ultrasound processing. *Food Science and Technology International*. 2021;29(2). <https://doi.org/10.1177/10820132211069242>
22. Bredikhin SA, Andreev VN, Martekha AN, Soldusova EA. Investigation of the process of structure formation during ultrasonic homogenization of milk. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022;954. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/954/1/012014>
23. Pan B, Tao J, Bao X, Xiao J, Liu H, Zhao X, *et al.* Quantitative study of starch swelling capacity during gelatinization with an efficient automatic segmentation methodology. *Carbohydrate Polymers*. 2021;255. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117372>
24. Joyner HS, Wicklund RA, Templeton CM, Howarth LG, Wong S-S, Anvari M, *et al.* Development of starch texture rheological maps through empirical modeling of starch swelling behavior. *Food Hydrocolloids*. 2021;120. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106920>
25. Bredikhin SA, Martekha AN, Andreev VN, Soldusova EA, Karpova NA. Investigation of the structural and mechanical characteristics of mayonnaise with the addition of linseed oil. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022;979. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/979/1/012089>
26. Bredikhin SA, Martekha AN, Andreev VN, Kaverina YuE, Korotkiy IA. Rheological properties of mayonnaise with non-traditional ingredients. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(4):739–749. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2402>
27. Schmidt C, Brunner M, Berger C, Zahn S, Rohm H. Solubility and swelling of soils from native starch. *International Journal of Food Science and Technology*. 2022;57(10):6755–6762. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15911>
28. Samarakoon ERJ. Impact of physical modifications on starch nutritional fractions: Rapidly Digestible Starch, Slowly Digestible Starch and Resistant Starch. *Journal of Food Bioactives*. 2020;12:106–121. <https://doi.org/10.31665/JFB.2020.12249>
29. Liu Y, Li M, Zhu C, Wei M. Effect of synergic pretreatment with ultrasound and alkaline hydrogen peroxide on enzymolysis and physicochemical properties of corn starch. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2021;13:12667–12678. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-02095-4>
30. Sun J, Sun L, Chen X, Raza H, Wu G, Liang Q, *et al.* Characterization of arrowhead-derived type 3 resistant starch prepared by ultrasound-assisted α -amylase degradation. *Journal of Food Quality*. 2023;2023. <https://doi.org/10.1155/2023/2301485>
31. Liu Z, Tian S, Lv C, Chen Z. Preparation and physicochemical properties of *Cyperus esculentus* starch from its tubers using ultrasound-assisted alkali method. *BioResources*. 2022;18(1):60–72. <https://doi.org/10.15376/biores.18.1.60-72>
32. Zhou Y, Wang M, Wang L, Liu L, Wu Y, Ouyang J. Comparison of the effect of ultrasound and microwave on the functional properties and in vitro digestibility of normal maize starch and potato starch. *Journal of Food Process Engineering*. 2022;46(2). <https://doi.org/10.1111/jfpe.14222>
33. Kaur B, Venkatrao KB, Panesar PS, Chopra HK, Anal AK. Optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction of resistant starch from green banana peels and its structural characterization. *Journal of Food Science and Technology*. 2022;59(12):4663–4672. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05546-6>
34. Zeng L, Zhang L, Li K, He J, Xin H, Wang Q. Effect of gelatinization processing on the antioxidant, digestion, and physicochemical properties of wheat starch enhanced with tannic acid. *LWT*. 2020;125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109228>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2461>
<https://elibrary.ru/WBFATX>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Изотопная масс-спектрометрия как инструмент идентификации томатов (*Solanum lycopersicum* L.)



Л. А. Оганесянц^{ID}, А. Л. Панасюк^{ID}, Е. И. Кузьмина^{ID},
Д. А. Свиридов^{ID}, М. Ю. Ганин^{*ID}, А. А. Шилкин^{ID}

Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной
и винодельческой промышленности^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 23.03.2023

Принята после рецензирования: 15.06.2023

Принята к публикации: 04.07.2023

*М. Ю. Ганин: labvin@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-0518-1181>

Л. А. Оганесянц: <https://orcid.org/0000-0001-8195-4292>

А. Л. Панасюк: <https://orcid.org/0000-0002-5502-7951>

Е. И. Кузьмина: <https://orcid.org/0000-0001-7623-440X>

Д. А. Свиридов: <https://orcid.org/0000-0002-5595-0455>

А. А. Шилкин: <https://orcid.org/0000-0003-1223-0703>

© Л. А. Оганесянц, А. Л. Панасюк, Е. И. Кузьмина,
Д. А. Свиридов, М. Ю. Ганин, А. А. Шилкин, 2023



Аннотация.

Томаты (*Solanum lycopersicum* L.) относятся к наиболее популярным овощным культурам. Увеличивающимся спросом, в том числе у российского потребителя, пользуются томаты, отмеченные знаком «органик». Однако сельскохозяйственная отрасль испытывает недостаток инструментальных методов анализа, способных подтвердить «органический» способ производства продукции. Перспективным методом, способным выявить фальсификат среди органической продукции, является метод изотопной масс-спектрометрии. Цель исследования заключалась в оценке возможности использования значений изотопных характеристик общего азота и общего углерода томатов для установления идентификационных критериев для продукции, выращенной в открытом грунте или в теплицах в атмосфере, которая обогащена диоксидом углерода.

Объектами исследования являлись 16 образцов томатов, 14 из которых были приобретены в российских торговых сетях. 2 образца были выращены в открытом грунте без использования химических удобрений. Состав стабильных изотопов углерода и азота в образцах определяли с использованием изотопного масс-спектрометра IRMS Delta V Advantage с дополнительными вспомогательными модулями.

Выявили, что томаты, выращенные в теплицах с атмосферой, которая обогащена диоксидом углерода, имеют диапазон значений показателя $\delta^{13}\text{C}$ от -44 до -32 ‰, а в обычной теплице от -30 до -24 ‰. Установлено, что 6 из 16 исследованных образцов томатов относятся к продукции, выращенной в условиях искусственного обогащения атмосферы диоксидом углерода. 3 образца имеют пограничные значения показателей $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$, идентификация которых затруднена как по использованию обогащения искусственным диоксидом углерода, так и по типу вносимых удобрений.

Метод изотопной масс-спектрометрии является мощным инструментом при выявлении фальсифицированной органической продукции. Изотопные характеристики общего углерода в томатах, выращенных в атмосфере с искусственным обогащением углекислым газом, имеют более низкие значения в сравнении с натуральной органической продукцией. Полученные значения позволяют сделать вывод об органической или химической природе удобрений.

Ключевые слова. Томаты, изотопная масс-спектрометрия, изотопы углерода, изотопы азота, идентификация, место происхождения, фальсификация, растениеводство

Для цитирования: Изотопная масс-спектрометрия как инструмент идентификации томатов (*Solanum lycopersicum* L.) / Л. А. Оганесянц [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 612–620. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2461>

Isotope Mass Spectrometry as a Tool for Identifying Organic Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.)



Lev A. Oganesyants^{ID}, Alexander L. Panasyuk^{ID}, Elena I. Kuzmina^{ID},
Dmitry A. Sviridov^{ID}, Mikhail Yu. Ganin*^{ID}, Alexei A. Schilkin^{ID}

All-Russian Research Institute of Brewing, Non-Alcoholic and Wine Industry^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 23.03.2023
Revised: 15.06.2023
Accepted: 04.07.2023

*Mikhail Yu. Ganin: labvin@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-0518-1181>
Lev A. Oganesyants: <https://orcid.org/0000-0001-8195-4292>
Alexander L. Panasyuk: <https://orcid.org/0000-0002-5502-7951>
Elena I. Kuzmina: <https://orcid.org/0000-0001-7623-440X>
Dmitry A. Sviridov: <https://orcid.org/0000-0002-5595-0455>
Alexei A. Schilkin: <https://orcid.org/0000-0003-1223-0703>

© L.A. Oganesyants, A.L. Panasyuk, E.I. Kuzmina,
D.A. Sviridov, M.Yu. Ganin, A.A. Schilkin, 2023



Abstract.

Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) are one of the most popular vegetables in the world. These days, Russian consumers prefer tomatoes labeled as organic. However, the agricultural industry often lacks instrumental methods to confirm the organic status of tomatoes. Isotope mass spectrometry is a promising method that can detect tomatoes that fail to meet organic standards. Isotopic values of total nitrogen and total carbon can be used to identify tomatoes as those grown on the field or as those cultivated in greenhouses enriched with carbon dioxide.

The research featured 16 samples of tomatoes, 14 of which were purchased in Russian retail chains. Two samples were grown on the field without chemical fertilizers. The composition of stable carbon and nitrogen isotopes in the samples was determined using an IRMS Delta V Advantage isotope mass spectrometer with additional auxiliary modules.

In the greenhouse tomatoes, $\delta^{13}\text{C}$ values ranged from -44 to -32‰ . In the samples obtained from a conventional greenhouse, $\delta^{13}\text{C}$ values ranged from -30 to -24‰ . Six samples proved to have been grown in artificial carbon dioxide atmosphere. Three samples demonstrated borderline values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$; they were impossible to identify as organic or conventional, both in terms of artificial carbon dioxide and fertilizers.

Isotope mass spectrometry proved to be efficient in detecting falsified organic products. Tomatoes grown with carbon dioxide enrichment had lower isotope values of total carbon than organic tomatoes. The obtained values also made it possible to tell between organic and chemical fertilizers.

Keywords. Tomatoes, isotope mass spectrometry, isotopes of carbon, oxygen, hydrogen, identification, place of origin, falsification, plant cultivation

For citation: Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Sviridov DA, Ganin MYu, Schilkin AA. Isotope Mass Spectrometry as a Tool for Identifying Organic Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):612–620. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2461>

Введение

Томаты (*Solanum lycopersicum* L.) являются одними из самых популярных и повсеместно распространенных овощных культур в мире. Объемы их производства и потребления постоянно растут: за последние 30 лет объем производства томатов на мировом рынке увеличился в 3 раза. В среднем производительность на 1 м² составляет 3,7 кг. Крупнейшими мировыми производителями томатов являются Китай и Индия, хотя урожайность в Индии довольно низкая – менее 2,5 кг на 1 м². Это

контрастирует с показателями США (9,03 кг на 1 м²), Испании (8,62 кг на 1 м²) и Марокко (8,08 кг на 1 м²). Самый высокий урожай собирают в Голландии – в среднем 50,7 кг на 1 м² [1].

До сих пор нет единого мнения, к какому виду культур относятся томаты. В быту их считают овощами, но плоды растут на лозе и выращиваются из семечек, поэтому их можно отнести к ягодам. В 2001 г. Евросоюз принял регламент, в котором помидоры были отнесены к фруктам. Но к какому бы ботаническому виду не относился томат, его особая

биологическая ценность признается повсеместно. В состав томатов входят сахара (фруктоза и глюкоза) и минеральные вещества: йод, калий, фосфор, бор, магний, натрий, марганец, кальций, железо, медь и цинк. Помидоры богаты витаминами А, В, В₂, В₆, С, Е, К, РР и бета-каротином. Процент содержания этих витаминов находится в прямой зависимости от спелости томатов: чем они спелее и краснее, тем полезнее [2].

По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации объединенных наций (FAOSTAT), под посадки томатов выделено более 5 млн га. Около 60 % всей площади относится к защищенному грунту: стеклянным и пленочным теплицам, межсезонным парникам и укрытиям. Во многих странах мира отрасль защищенного грунта занимает ведущее место в производстве других овощей. По прогнозам ряда специалистов, в будущем в развитых странах растениеводство почти полностью перейдет на технологии выращивания большинства сельскохозяйственных культур в защищенном грунте с использованием теплиц. Однако они не учитывают изменения в запросах покупателей, которые проявляют интерес к органической продукции.

Существует большое количество методов и систем ведения сельского хозяйства. Среди них выделяют два подхода: обычный (общепринятый) и органический (природный).

Общепринятый или интенсивный способ ведения сельского хозяйства берет свое начало в 1840 г., когда был опубликован труд «Химия, примененная к земледелию» немецкого ученого Юстуса фон Либиха – одного из основателей агрохимии и создателя системы химического образования. Либих в своем труде доказал, что для питания растений необходимы только минеральные элементы, которые они берут из почвы, обосновал теорию истощения почв из-за выноса питательных веществ растениями и показал необходимость возврата этих веществ в виде минеральных удобрений. Ученый утверждал, что растение может нормально развиваться без добавления питательных веществ органического происхождения, т. е. состоящих из растительных и животных остатков. Теория Либиха на долгие годы определила развитие сельского хозяйства во всем мире. Началась интенсивная химизация сельского хозяйства и связанные с ней технологии возделывания земли.

На сегодняшний день сложилась система ведения хозяйства, основанная на глубокой вспашке, внесении минеральных удобрений, монокультуре, применении пестицидов для борьбы с вредителями, гербицидов для борьбы с сорной растительностью и т. д. Разработаны целые комплексы механизмов и машин для обработки почвы. Стали считать, что почва – это набор химических элементов, а для поддержания ее плодородия достаточно вносить не-

обходимое количество определенных минеральных удобрений. Следовательно, количество вносимой органики уменьшилось. Новые методы ведения сельского хозяйства способствовали увеличению количества сельхозпродукции и позволили накормить все возрастающее население. В то же время наметились отрицательные тенденции: истощение и эрозия почв, химизация, вмешательство человека в природный цикл, зависимость урожая от минеральных удобрений, заражение окружающей среды пестицидами и гербицидами, неблагоприятное воздействие на здоровье человека и животных, а также окружающую среду.

Второй подход – органический или природный, иногда его называют экологическим, поскольку основной его идеей является не только получение полезных продуктов питания, но и сохранение окружающей среды. Сторонники этого способа ведения сельского хозяйства стараются следовать законам природы и моделировать природные процессы у себя на грядках, полях. Они применяют смешанные посадки для достижения симбиоза и защиты растений от вредителей, используют микроорганизмы, микробиологические препараты и материалы растительного, животного и естественного минерального происхождения, но не синтезированные химические вещества, отказываются от ядохимикатов. [3].

Органические методы ведения сельского хозяйства позволяют восстановить почву и поддерживать ее плодородие, не нанося вреда человеку и природе, т. к. не используются химические вещества, а производимая продукция имеет природный вкус и запах, а также лучше сохраняется. Несмотря на очевидные плюсы, органическое земледелие имеет свои минусы. Это более низкая продуктивность, более высокая цена продуктов, сезонность и ручной труд, поскольку для этого вида хозяйствования нет серийных машин и агрегатов [3].

Органически выращенные продукты с каждым днем становятся все более популярными, в том числе у российского населения, из-за их полезности, безопасности и преимуществ используемых методов ведения сельского хозяйства, которые являются более экологичными.

В России Федеральный закон № 280-ФЗ «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» был подписан 3 августа 2018 г. и вступил в силу 1 января 2020 г. Документ вводит запрет на применение агрохимикатов небиологического происхождения, пестицидов и стимуляторов роста, за исключением тех, которые разрешены к применению действующими национальными, межгосударственными и международными стандартами в сфере производства органической продукции. Производство органической продукции несовместимо с гидропонным методом выращивания растений [4].

«Органическими» являются продукты, при производстве которых был исключен ряд вредных обработок, включающий в себя использование ГМО, пестицидов, антибиотиков и гормонов роста, а также внесение химических удобрений. Одной из проблем в органическом сельском хозяйстве являются ГМО. В Европе используются два метода определения присутствия ГМО: иммуноферментный анализ, связанный с ферментом (ELISA), который идентифицирует белки, и метод ПЦР (полимеразной цепной реакции). Эти методы позволяют обнаружить присутствие ГМО, но не дают ответа на вопрос об органической природе данной продукции.

Системы органического земледелия отличаются от своих традиционных аналогов запретом на использование пестицидов и синтетических азотных удобрений. Исследования показали, что содержание остатков пестицидов в органических растительных продуктах ниже, чем в обычных [5]. Однако выборочное тестирование остатков пестицидов не может доказать, что растение было выращено без применения пестицидов, т. к. анализ охватывает небольшой диапазон большого количества пестицидов, регулярно используемых в сельском хозяйстве. Концентрации остаточных количеств пестицидов часто ниже аналитических пределов обнаружения даже в обычных продуктах растительного происхождения. Поэтому необходимо улучшить существующие процедуры аутентификации путем применения новых аналитических методов.

Декларирование высокого качества и натуральности продукции должно подкрепляться результатами анализа, проведенного с помощью надежных инструментальных методов. Одним из перспективных направлений в решении этой задачи является изотопная масс-спектрометрия. Данные литературных источников показывают, что предлагаемый подход может быть использован в качестве надежного инструмента при анализе различных видов пищевых продуктов [6–12]. Учеными показана возможность использования данного метода для выявления способа сельскохозяйственного производства различных видов как органической, так и обычной овощной и зеленой продукции. Кроме того, метод изотопной масс-спектрометрии может быть использован для установления природы используемых азотных удобрений, что является важным условием производства органической продукции [13–18]. В работе зарубежных ученых W.-J. Choi и др. с целью изучения использования показателя $\delta^{15}\text{N}$ в качестве маркера органических веществ была исследована разница в естественном содержании ^{15}N в почвах с внесением химических удобрений и в площадях, куда вносили компост [18]. Учеными было изучено около 20 образцов. Результаты показали, что длительное применение компоста привело к обогащению почв и растений азотом ^{15}N по сравнению с использованием

химических удобрений. Это исследование показало, что $\delta^{15}\text{N}$ может служить индикатором применения органических удобрений. Тем не менее авторы утверждают, что необходимо провести дальнейшие исследования в других условиях, чтобы подготовить надежные рекомендации по значениям $\delta^{15}\text{N}$ для органических продуктов, поскольку на значения $\delta^{15}\text{N}$ неорганического азота почвы и растений влияют различные факторы, такие как тип почвы, виды растений и скорость циркуляции азота, а также процессы минерализации, нитрификации и денитрификации.

Исходя из ряда литературных источников, существуют различия в качестве овощей, в том числе томатов, выращенных в теплицах или в условиях открытого грунта [13, 19, 20]. В современной практике агрономы все чаще стали прибегать к искусственному обогащению атмосферы теплицы диоксидом углерода, который используется в качестве компонента для роста томатов и ускорения процесса фотосинтеза. Это приводит к большей продуктивности растений, ее повышение может составлять 40–50 %. Однако, быстро набирая вес и необходимый товарный размер, томаты не достигают полной физиологической зрелости, что отрицательно сказывается на накоплении сахаров, ароматических веществ и других компонентов, обеспечивающих их вкусовые свойства. Искусственное обогащение тепличного воздуха углекислым газом можно определить, используя следующую особенность его изотопного состава. Диоксид углерода, полученный в промышленных масштабах из нефти и газа, в частности при сгорании метана, имеет более низкие значения изотопных характеристик входящего в его состав углерода, чем те же значения в атмосферном углекислом газе. Как следствие, овощи (томаты), выращенные в открытом грунте или в обычной теплице, отличаются по изотопным характеристикам общего углерода от продукта, полученного в искусственной атмосфере.

Также свой вклад вносит фотосинтетическая ассимиляция диоксида углерода, когда относительная концентрация стабильных изотопов углерода $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ в растениях изменяется в результате дискриминации C^{13} в пользу C^{12} [20, 21]. В результате растительный материал имеет более легкие изотопные характеристики углерода, чем атмосферный углекислый газ, что соответствует отрицательным значениям $\delta^{13}\text{C}$ в растительном материале.

Целью исследования была оценка возможности использования значений изотопных характеристик общего азота и общего углерода томатов для установления способа ведения их сельскохозяйственного производства, включая выявление использования химических азотных удобрений и установление идентификационных критериев

для томатов, выращенных в открытом грунте или в теплицах в атмосфере, которая обогащена диоксидом углерода.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись 16 образцов томатов, часть из которых была приобретена в российских торговых сетях, а часть выращена в открытом грунте без использования химических удобрений специально для исследования.

Состав стабильных изотопов углерода и азота в образцах определяли на изотопном масс-спектрометре для анализа стабильных изотопов легких элементов IRMS Delta V Advantage. Пробоподготовка заключалась в дроблении пробы в блендере до пюреобразного состояния и удалении влаги при помощи леофильной сушишки Zirbus Vaco 2 Germany в течение суток. Затем высушенная проба перетиралась в ступке до порошкообразного состояния, после чего навеску массой 0,4–0,6 мг вносили в оловянную капсулу. Капсулу герметично закрывали с помощью пинцета. Для каждого образца подготавливали 3 капсулы, которые помещали в автосамплер для твердых проб MAS200 элементного анализатора Flash EA Isolink. Капсулированные образцы сжигались в окислительно-восстановительном реакторе при температуре 1000 °C в потоке кислорода и газаносителя (гелия) до азота и диоксида углерода. В качестве окислителей использовали химически чистые соединения Cr_2O_3 и CuO , в качестве восстановителя – металлическую медь (Cu). Далее полученные газы N_2 и CO_2 проходили через набивную колонку и интерфейс ConFlowIV, после чего поступали в ионный источник изотопного масс-

спектрометра, где проводился анализ изотопных отношений. Регистрацию и обработку результатов измерений проводили с помощью высокоуровневого программного пакета Isodat 3.0

Значения изотопного соотношения были выражены в δ , ‰, по формуле:

$$\delta = [(R_{\text{sample}} - R_{\text{st}})/R_{\text{st}}] \times 1000$$

где R_{sample} – изотопное отношение углерода или азота в образце; R_{st} – изотопное отношение углерода или азота в стандарте. Для калибровки прибора использовали международный стандарт кофеина IAEA-600 с паспортными значениями $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = -27,77 \pm 0,043$ ‰ и $\delta^{15}\text{N}_{\text{air}} = +1,00 \pm 0,2$ ‰.

Результаты и их обсуждение

Условия окружающей среды (температура и доступность воды, концентрация диоксида углерода в атмосфере, количество загрязнителей воздуха) могут изменять изотопный состав углерода тканей растений. [21]. Исходя из вышеизложенного, можно сгруппировать томаты на тепличные с искусственным обогащением углекислым газом с диапазоном числовых значений изотопных характеристик углерода от –44 до –32 ‰ и без обогащения атмосферы, а также в условиях открытого грунта с диапазоном значений $\delta^{13}\text{C}$ от –30 до –24 ‰ (рис. 1).

Изотопная масс-спектрометрия может быть использована для определения природы применяемых удобрений. Один из подходов к определению предложен в работе А. S. Bateman и др., где представлены результаты исследований изотопных характеристик общего азота ряда овощей, включая томаты [16].

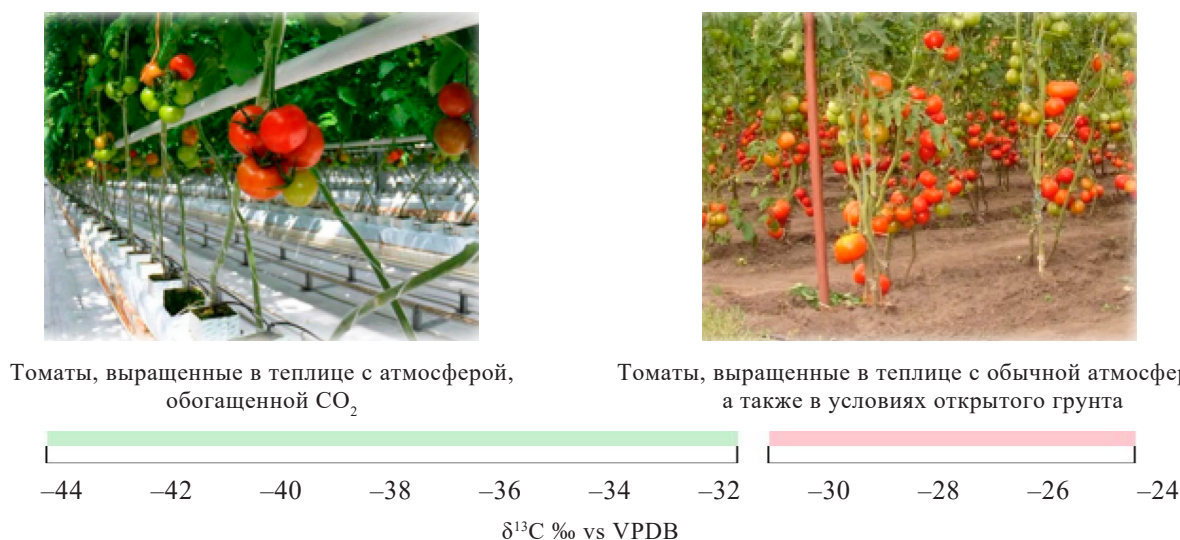


Рисунок 1. Диапазоны значений показателя $\delta^{13}\text{C}$ ‰ vs VPDB томатов, выращенных в теплице с атмосферой, обогащенной CO_2 , и в теплице с обычной атмосферой, а также в условиях открытого грунта

Figure 1. Value ranges of $\delta^{13}\text{C}$ ‰ vs. VPDB for tomatoes grown in a CO_2 -enriched greenhouse, in a conventional greenhouse, and on the field

Вид азотсодержащего удобрения и время его внесения в питательную среду влияют на потери азота в результате частичного улетучивания и выщелачивания. Исследования [14, 15] показали, что отношения стабильных изотопов азота могут являться основой системы идентификации для определения факта внесения химических удобрений при культивировании растений. Овощи, выращенные с такими органическими удобрениями, как торф, осадок сточных вод, навоз и компост, имеют значения изотопных характеристик азота от +8 до +20 ‰ [13, 22]. Овощи, выращенные с использованием химических удобрений, такие как нитратные, аммиачные и амидные, имеют числовые отношения изотопных характеристик азота от 0 до +6 ‰ [13, 14]. Это различие в значениях изотопных характеристик азота происходит в результате улетучивания выделяющегося аммиака, денитрификации, нитрификации и других процессов преобразования азотсодержащих соединений до поглощения растениями [22]. Представленные данные обеспечивают основу для сравнения томатов, выращенных с использованием органических или химических удобрений. Указанные диапазоны распространяются преимущественно на томаты, т. к. в других овощах они могут отличаться. Нужно больше данных и экспериментов, в том числе с использованием российских овощей (рис. 2).

При проведении исследований нами было отобрано и проанализировано 16 проб томатов, купленных в российских супермаркетах или выращенных в условиях открытого грунта в Подмосковье и Владимирской области. Результаты исследований изотопных характеристик углерода и азота приведены в таблице 1.

Как показывают результаты исследований (табл. 1), 6 образцов томатов (№ 1–3, 6, 11 и 12) относятся к тепличной продукции с обогащением атмосферы диоксидом углерода, 7 образцов (№ 4, 5, 7, 10, 13,

15 и 16) – к томатам, выращенным в теплицах без обогащения углекислым газом или в условиях открытого грунта. Если разделить томаты по типу используемых удобрений при культивировании, то образцы № 1, 10, 12, 13, 15 и 16 выращивались с использованием органических удобрений, а образцы № 2–8 и 14 – с использованием химических удобрений. В двух образцах (№ 8 и 9) числовые значения показателя $\delta^{13}\text{C}$ приходятся на границу идентификационных диапазонов, а у образца № 11 к границе числового диапазона приближено значение показателя $\delta^{15}\text{N}$. Эти значения попадают под неопределенность, при которой точная идентификация как по использованию обогащения искусственным диоксидом углерода, так и по типу вносимых удобрений затруднена. В этом случае необходимы дополнительные исследования, в том числе с использованием значений изотопных характеристик серы [23, 24].

Результаты показывают, что изотопная масс-спектрометрия может быть перспективным методом для установления способов культивирования овощей, в частности при определении условий выращивания органической продукции.

Выводы

Были определены значения изотопных характеристик общего углерода и общего азота для томатов, выращенных в условиях защищенного грунта (теплице) с обогащением атмосферы диоксидом углерода или без него, а также для томатов, выращенных в условиях открытого грунта, с установлением типа вносимых удобрений. Выявили значимость вариаций полученных изотопных соотношений $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, которые согласуются с литературными данными [13–22].

Установлено, что томаты, выращенные в условиях органического производства как в теплице, так и



Рисунок 2. Диапазоны значений $\delta^{15}\text{N}$ ‰ томатов, выращенных с использованием органических или химических удобрений

Figure 2. $\delta^{15}\text{N}$ ‰ for organic tomatoes vs. chemically fertilized tomatoes

Таблица 1. Значения изотопных характеристик общего углерода и общего азота в томатах

Table 1. Isotopic profile of total carbon and total nitrogen in tomatoes

№	Наименование	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰ vs VPDB}$	$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰ vs Air}$	Тип выращивания, исходя из полученных результатов	Тип используемых удобрений, исходя из полученных результатов
1	Томаты Черри. Приобретено в торговой сети	$-43,53 \pm 0,03$	$11,55 \pm 0,19$	Теплица с обогащением CO_2	Органические
2	Томаты розовые, завялены как тепличные. Приобретено в торговой сети	$-49,88 \pm 0,77$	$2,22 \pm 0,30$	Теплица с обогащением CO_2	Химические
3	Томаты. Приобретено в торговой сети	$-43,50 \pm 0,28$	$2,40 \pm 0,57$	Теплица с обогащением CO_2	Химические
4	Томаты розовые, Узбекистан. Приобретено в торговой сети.	$-25,43 \pm 0,63$	$5,01 \pm 0,21$	Теплица без обогащения CO_2 или открытый грунт	Химические
5	Томаты розовые. Приобретено в торговой сети	$-25,14 \pm 0,20$	$5,52 \pm 0,10$	Теплица без обогащения CO_2 или открытый грунт	Химические
6	Томаты сливки розовые. Приобретено в торговой сети	$-39,14 \pm 0,07$	$2,72 \pm 0,26$	Теплица с обогащением CO_2	Химические
7	Томаты Pink Paradise, Узбекистан. Приобретено в торговой сети	$-28,06 \pm 0,63$	$0,46 \pm 0,20$	Теплица без обогащения CO_2 или открытый грунт	Химические
8	Томаты, Краснодар. Приобретено в торговой сети	$-30,85 \pm 0,40$	$3,84 \pm 0,14$	Не определено	Химические
9	Томаты, Костромской р-н. Приобретено в торговой сети	$-30,25 \pm 0,30$	$6,80 \pm 0,57$	Не определено	Не определено
10	Томаты сорт первый, розовый, Азербайджан. Приобретено в торговой сети	$-28,29 \pm 0,57$	$11,57 \pm 0,79$	Теплица без обогащения CO_2 или открытый грунт	Органические
11	Томаты, Ленинградская обл., г. Пикалево. Приобретено в торговой сети	$-32,41 \pm 0,28$	$6,28 \pm 0,93$	Теплица с обогащением CO_2	Не определено
12	Томаты, г. Кашира. Приобретено в торговой сети	$-33,53 \pm 0,63$	$8,63 \pm 1,16$	Теплица с обогащением CO_2	Органические
13	Помидоры Бакинские черри. Приобретено в торговой сети	$-29,58 \pm 0,48$	$9,42 \pm 0,40$	Теплица без обогащения CO_2 или открытый грунт	Органические
14	Томаты розовые, Узбекистан. Приобретено в торговой сети	$-30,64 \pm 0,40$	$2,83 \pm 0,15$	Не определено	Химические
15	Томаты, выращенные в условиях открытого грунта, Владимирская область	$-29,24 \pm 0,13$	$8,67 \pm 0,31$	Теплица без обогащения CO_2 или открытый грунт	Органические
16	Томаты, выращенные в условиях открытого грунта, Московская область	$-28,24 \pm 0,21$	$10,73 \pm 0,25$	Теплица без обогащения CO_2 или открытый грунт	Органические

в открытом грунте, имели более высокие значения изотопных характеристик общего азота, чем томаты, при культивировании которых использовали химические удобрения.

Достоверная маркировка овощной продукции как «органической» способствует правильному питанию и поддержанию здоровья потребителей, а обоснование более высокой стоимости, по сравнению с обычной продукцией, дает импульс к расширению ее производства. Для реализации такого под-

хода необходимо достоверно идентифицировать природу продаваемой продукции.

Критерии авторства

Л. А. Оганесянц – постановка и научное руководство исследованиями. А. Л. Панасюк, Е. И. Кузьмина и Д. А. Свиридов – обзор литературы, подготовка образцов к анализам, обработка результатов исследований. М. Ю. Ганин и А. А. Шилкин – анализ образцов на изотопном масс-спектрометре.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

the experimental results. M.Yu. Ganin and A.A. Schilkin analyzed the samples with an isotope mass spectrometer.

Contribution

L.A. Oganesyants organized and supervised the research. A.L. Panasyuk, E.I. Kuzmina, and D.A. Sviridov wrote the review, prepared the samples, and processed

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Survey of the global tomato market [Internet]. [cited 2023 Feb 10]. Available from: <https://fruitnews.ru/home/category/analitika/obzor-mirovogo-rynka-tomatov.html>
2. Regions in Russia that grow tomatoes on an industrial scale [Internet]. [cited 2023 Feb 10]. Available from: <https://agroklassiksna.ru/kultivirovanie/gde-v-rossii-vyrashhivayut-pomidory-v-promyshlennyh-masshtabah>
3. Comparative survey of conventional and organic farming [Internet]. [cited 2023 Feb 10]. Available from: <https://www.greencross.by/ru/SG-sposoby-vedenija-selskogo-hozjajstva>
4. Organic vs. natural products: What's the difference? [Internet]. [cited 2023 Feb 10]. Available from: <https://plus-one.ru/manual/2022/03/24/organicheskie-i-naturalnye-produkty-v-chem-raznica>
5. Puig R, Soler A, Widory D, Mas-Pla J, Domenech C, Otero N. Characterizing sources and natural attenuation of nitrate contamination in the Baix Ter aquifer system (NE Spain) using a multi-isotope approach. *Science of the Total Environment*. 2017;580:518–532. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.206>
6. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuzmina EI, Ganin MYu. Isotopes of carbon, oxygen, and hydrogen ethanol in fruit wines. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(4):717–725. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-717-725>
7. Kuzmina EI, Ganin MYu, Sviridov DA, Egorova OS, Shilkin AA, Akbulatova DR. Using modern instrumental methods for coffee identification. *Food Systems*. 2022;5(1):30–40. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-30-40>
8. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuz'mina EI, Sviridov DA, Ganin MYu. Modern methods for vegetable oils from various raw materials identification. *Food Industry*. 2021;(12):56–59. (In Russ.). <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.12.12.010>
9. Snyder KA, Robinson SA, Schmidt S, Hultine KR. Stable isotope approaches and opportunities for improving plant conservation. *Conservation Physiology*. 2022;10;(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/coac056>
10. McNicol G, Yu Z, Berry ZC, Emery N, Soper FM, Yang WH. Tracing plant-environment interactions from organismal to planetary scales using stable isotopes: A mini review. *Emerging Topics in Life Sciences*. 2021;5(2):301–316. <https://doi.org/10.1042/ETLS20200277>
11. Liu H, Nie J, Liu Y, Wadood SA, Rogers KM, Yuan Y, *et al.* A review of recent compound-specific isotope analysis studies applied to food authentication. *Food Chemistry*. 2023;415. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135791>
12. Ehleringer JR, Chesson LA, Valenzuela LO, Tipple BJ, Martinelli LA. Stable isotopes trace the truth: From adulterated foods to crime scenes. *Elements*. 2015;11(4):259–264. <https://doi.org/10.2113/gselements.11.4.259>
13. Christopher B, Oliver K. EA-IRMS: Detecting organic grown vegetables [Internet]. [cited 2023 Feb 10]. Available from: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/AB-30399-IRMS-Organic-Vegetables-AB30399-EN.pdf>
14. Laursen KH, Mihailova A, Kelly SD, Epov VN, Bérail S, Schjoerring JK, *et al.* Is it really organic? – Multi-isotopic analysis as a tool to discriminate between organic and conventional plants. *Food Chemistry*. 2013;141(3):2812–2820. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.068>
15. Schmidt H-L, Robins RJ, Werner RA. Multi-factorial *in vivo* stable isotope fractionation: Causes, correlations, consequences and applications. *Isotopes in Environmental and Health Studies*. 2015;51(1):155–199. <https://doi.org/10.1080/10256016.2015.1014355>
16. Bateman AS, Kelly SD, Woolfe M. Nitrogen isotope composition of organically and conventionally grown crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(7):2664–2670. <https://doi.org/10.1021/jf0627726>
17. Verenitch S, Mazumder A. Isotopic characterization as a screening tool in authentication of organic produce commercially available in western North America. *Isotopes in Environmental and Health Studies*. 2015;51(2):332–343. <https://doi.org/10.1080/10256016.2015.997723>
18. Choi W-J, Ro H-M, Hobbie EA. Patterns of natural ^{15}N in soils and plants from chemically and organically fertilized uplands. *Soil Biology and Biochemistry*. 2003;35(11):1493–1500. [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(03\)00246-3](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(03)00246-3)

19. Verenitch S, Mazumder A. Carbon and nitrogen isotopic signatures and nitrogen profile to identify adulteration in organic fertilizers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(34):8278–8285. <https://doi.org/10.1021/jf302938s>
20. Farquhar GD, O'Leary MH, Berry JA. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*. 1982;9(2):121–137. <https://doi.org/10.1071/pp9820121>
21. Saurer M, Fuhrer J, Siegenthaler U. Influence of ozone on the stable carbon isotope composition, $\delta^{13}\text{C}$, of leaves and grain of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology*. 1991;97(1):313–316. <https://doi.org/10.1104/pp.97.1.313>
22. Trandel MA, Vigardt A, Walters SA, Lefticariu M, Kinsel M. Nitrogen isotope composition, nitrogen amount, and fruit yield of tomato plants affected by the soil-fertilizer types. *ACS Omega*. 2018;3(6):6419–6426. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00296>
23. Afanasev RA, Nosikov VV, Litvinskiy VA, Voronchiihina IN. Oat productivity formation under radioactive pollution soddy-podzolic soil. *Plodorodie*. 2019;109(4):26–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.25680/S19948603.2019.109.09>
24. Litvinskiy VA, Nosikov VV, Sushkova LO, Grishina EA. The possibility of using of the stable isotopes of sulphur and nitrogen as a criteria allowing to identify the nutrients at organic farming. *Agrochemical Herald*. 2019;(6):79–82. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2516-2019-10096>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2462>
<https://elibrary.ru/PBIYUP>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние сухого созревания на белки мышечной ткани говядины



Г. В. Гуринович^{1,*}, И. С. Патракова¹, В. А. Хренов¹,
М. В. Патшина¹, А. И. Шевченко²

¹ Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

² Горно-Алтайский государственный университет^{ROR}, Горно-Алтайск, Россия

Поступила в редакцию: 26.04.2023

Принята после рецензирования: 19.06.2023

Принята к публикации: 04.07.2023

*Г. В. Гуринович: gguv55@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-7869-4151>

И. С. Патракова: <https://orcid.org/0000-0001-6147-0899>

В. А. Хренов: <https://orcid.org/0000-0003-1713-9407>

М. В. Патшина: <https://orcid.org/0000-0002-2047-3644>

А. И. Шевченко: <https://orcid.org/0000-0002-7753-1761>

© Г. В. Гуринович, И. С. Патракова,

В. А. Хренов, М. В. Патшина, А. И. Шевченко, 2023



Аннотация.

Качество мяса формируется на разных этапах производства, хранения и переработки. Среди них значение имеет созревание, технологии которого позволяют регулировать интенсивность биохимических процессов и связанных с ними свойств мяса. Один из трендов в развитии технологий созревания – это сухое созревание в течение длительного времени в условиях, ограничивающих рост микроорганизмов. Актуальность исследования определяет такой аспект формирования качества мяса сухого созревания, как изменение белковой составляющей.

Исследовали образцы, выделенные из внутренней части костных спинно-поясничных отрубов полутуш говядины породы герфорд сибирской селекции после 21, 35 и 42 суток сухого созревания (температура 0–1 °С, относительная влажность воздуха 74–75 %, скорость движения воздуха 0,5 м/с). На сухое созревание отруба подавали после выдержки в течение 1 суток при 4 °С. Контролировали фракционный состав белков методом вертикального электрофореза с использованием камеры Mini-Protean Tetra System, аминокислотный состав – методом ВЭЖХ (хроматограф жидкостной Shimadzu LC-20 Prominence с диодно-матричным детектором Shimadzu SPD20MA, разделительная колонка Kromasil C-18), переваримость белков – последовательным воздействием системы протеиназ пепсин – трипсин в условиях, имитирующих желудочное пищеварение.

Длительное сухое созревание сопровождается развитием протеолиза под действием эндогенных ферментов. Результаты анализа электрофореграмм позволяют говорить о том, что протеолитические изменения высокомолекулярных миофибриллярных белков высококачественной говядины становятся более выраженными с увеличением продолжительности сухой выдержки. Распределение фракций белков по стадиям сухого созревания свидетельствует о разной скорости деградации сократительных и регуляторных белков и белков цитоскелета. Это влияет на нарушение структурной целостности мышечных волокон, формирование нежности мяса и доступность белков пищеварительным ферментам. Результаты определения аминокислотного состава и переваримости белков *in vitro* позволяют говорить о повышении пищевой ценности говядины и доступности белков действию протеиназ к 42 суткам сухого созревания.

Длительное сухое созревание способствует повышению усвояемости мышечных белков высококачественной говядины. Это обусловлено развитием протеолиза с накоплением низкомолекулярных фракций, выраженного к 42 суткам созревания, и умеренными окислительными изменениями белков.

Ключевые слова. Мясо, говядина, сухое созревание, протеолиз, фракции белков, аминокислоты, усвояемость белков

Финансирование. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием Кемеровского государственного университета (КемГУ)^{ROR} в рамках соглашения № 075-15-2021-694 от 05.08.2021, заключенного между Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)^{ROR} и КемГУ (уникальный идентификатор контракта RF----2296.61321X0032).

Для цитирования: Влияние сухого созревания на белки мышечной ткани говядины / Г. В. Гуринович [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 621–629. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2462>

Effect of Dry Aging on Beef Muscle Proteins



Galina V. Gurinovich^{1,*}, **Irina S. Patrakova¹**,
Vladislav A. Khrenov¹, **Marina V. Patshina¹**,
Antonina I. Shevchenko²

¹ Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

² Gorno-Altai State University, Gorno-Altai, Russia

Received: 26.04.2023

Revised: 19.06.2023

Accepted: 04.07.2023

*Galina V. Gurinovich: ggu55@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-7869-4151>

Irina S. Patrakova: <https://orcid.org/0000-0001-6147-0899>

Vladislav A. Khrenov: <https://orcid.org/0000-0003-1713-9407>

Marina V. Patshina: <https://orcid.org/0000-0002-2047-3644>

Antonina I. Shevchenko: <https://orcid.org/0000-0002-7753-1761>

© G.V. Gurinovich, I.S. Patrakova, V.A. Khrenov,
M.V. Patshina, A.I. Shevchenko, 2023



Abstract.

Meat is an inherent part of human diet. Its quality develops at different stages of production, storage, and processing. In this respect, the stage of aging is especially important. This technology makes it possible to regulate biochemical processes in meat raw materials. Long-term dry aging is a promising method that presupposes conditions that limit the growth of microorganisms. The transformations in the protein component are an important but understudied aspect of meat quality formation during dry aging.

The research featured Hereford beef carcasses of Siberian breeding. The samples were isolated from the inner part of bone spinal-lumbar cuts after 21, 35, and 42 days of dry aging under the following conditions: 0–1°C, 74–75% relative humidity, 0.5 m/s air velocity. The samples were subjected to dry aging after 24 h at 4°C. The fractional composition of proteins was controlled by vertical electrophoresis in a Mini-Protean Tetra System chamber. The amino acid composition was defined by high-performance liquid chromatography in a Shimadzu LC-20 Prominence liquid chromatograph with a Shimadzu SPD20MA diode-matrix detector and a Kromasil C-18 separation column. The protein digestibility was measured by sequential exposure to pepsin-trypsin proteinase system under simulated gastric digestion.

Long-time dry aging triggered proteolysis under the action of endogenous enzymes. The electropherogram analysis showed that the proteolytic changes in high-molecular myofibrillar proteins of high-quality beef became more pronounced after a longer maturation period. The distribution of protein fractions by dry aging stages indicated a different rate of degradation of contractile, regulatory, and cytoskeletal proteins. As a result, the structural integrity of muscle fibers degraded, the meat grew tender, and the proteins became more available to digestive enzymes. The amino acid and protein digestibility analyses *in vitro* demonstrated an increase in the nutritional value of beef and the availability of proteins to the action of proteinases after 42 days of dry aging.

Long-term dry aging of high-quality beef increased the digestibility of muscle proteins as a result of proteolysis that accompanied the accumulation of low-molecular fractions. According to the amino acid analysis, the optimal result was most pronounced on day 42 as proven by the moderate oxidative changes in proteins.

Keywords. Meat, beef, dry maturation, proteolysis, protein fractions, amino acids, protein digestibility

Funding. The research was conducted on the premises of the Research Equipment Sharing Center of Kemerovo State University (KemSU), agreement No. 075-15-2021-694, Aug. 5, 2021, between the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauki) and KemSU (contract identifier RF----2296.61321X0032).

For citation: Gurinovich GV, Patrakova IS, Khrenov VA, Patshina MV, Shevchenko AI. Effect of Dry Aging on Beef Muscle Proteins. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):621–629. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2462>

Введение

Мясо – источник белка высокой биологической ценности, витаминов группы В, минеральных веществ, в частности биодоступного железа, цинка, магния,

селена, и других биологически активных соединений. Поэтому для большинства людей мясо является частью рациона в качестве фактора достижения оптимального роста и развития организма [1, 2].

Пищевая ценность мяса зависит от многих прижизненных факторов и способов технологической обработки и хранения. Один из таких процессов – созревание. Созревание мяса является сложным биохимическим процессом, который происходит под действием эндогенных ферментов и приводит к улучшению его органолептических свойств, включая вкус, аромат и нежность, и увеличению концентрации вкусо-ароматических компонентов в результате потери влаги [3, 4]. Протеолитические ферменты вызывают изменение структуры мышечных волокон и коллагена, образование пептидов и аминокислот. Это повышает доступность мышечных белков действию пищеварительных ферментов, а также пищевую и биологическую ценность мяса [5, 6].

В процессе созревания мышечные белки (преимущественно миофибриллярные) могут подвергаться окислительной деградации, которая определяется как ковалентная модификация белка, индуцируемая активными формами кислорода и побочными продуктами окисления липидов. Это вероятно, т. к. возможности собственной антиоксидантной защиты мяса в послеубойный период снижаются. Физико-химические изменения, вызванные окислением белков, приводят к различным функциональным изменениям, которые, в зависимости от степени их проявления, могут носить желательный или нежелательный характер. Умеренная окислительная модификация способствует упорядоченному межбелковому взаимодействию и улучшению функциональных свойств мяса, в то время как чрезмерное развитие окисления белков может привести к снижению функциональных свойств, нежности мяса и усвояемости белков [7–11]. Окисление белков пищевых продуктов происходит в изменяющихся условиях, поэтому химические модификации и их продукты могут различаться.

Интенсивность и скорость развития послеубойных изменений белков, включая гидролитические и окислительные изменения, будут зависеть от технологии созревания. В исследованиях поясничного отруба мраморной говядины (short loins) установлено, что степень протеолиза белков с накоплением низкомолекулярных продуктов выше при ее выдержке по технологии сухого созревания, чем у традиционного и влажного [12]. С этим согласуются результаты, полученные Y. H. Kim с соавторами и свидетельствующие об увеличении свободных аминокислот как продуктов распада мышечных белков при сухом созревании [13]. В исследовании J. Choe и др. не выявлено различий в белковых профилях баранины сухого и влажного созревания, что обусловлено одинаковой активностью эндогенных ферментов [14].

Исследования взаимосвязи процессов протеолиза и усвояемости белков мяса, в зависимости от технологии созревания, ограничены, а их результаты неоднозначны.

Целью исследования являлось изучение влияния продолжительности сухого созревания высоко-

качественной говядины на белки мышечной ткани и доступность их действию пищеварительных ферментов.

Объекты и методы исследования

Исследования выполнили на высококачественной говядине от бычков породы герефорд сибирской селекции, откормленных на зерне в течение 12 месяцев на пастбище с доращиванием в течение 180 суток со средней живой массой 540 кг. Убой скота, разделку туш и сухое созревание сырья выполняли в промышленных условиях (д. Уфимцево, Кемеровская область). Качество полутуш оценивали на уровне крестцового позвонка и между 12 и 13 ребрами после охлаждения по совокупности показателей, определенных ГОСТ 33818-2016. Полученное сырье соответствовало второму классу, выход мяса 61 %.

Для созревания взяли костные поясничные отруба, выделенные из задней четвертины. Отруб включает 13-е ребро, он отделен от костреца в месте соединения поясничного и крестцового позвонков разрезом под прямым углом до тазобедренного хряща с отделенными тонким краем пашины и вырезкой.

Для сухого созревания отруба помещали в камеру Dry Aged DX 1000 (Германия) при температуре 0–1 °С, относительной влажности воздуха 74–75 % и скорости движения воздуха 0,5 м/с. Максимальная продолжительность сухой выдержки составила 42 дня. Комбинирование низкой температуры и относительной влажности воздуха направлено на торможение развития микроорганизмов при сухой выдержке.

На рисунке 1 приведен внешний вид образцов, размещенных в камере сухого созревания на разных стадиях. По мере выдержки наблюдаются потемнение мышечной ткани на разрезе, уплотнение внешнего слоя, появление характерного запаха и аромата мяса. Пробы для исследований отбирали из внутренней части отрубов после их зачистки от внешнего слоя, масса образцов 150–200 г. До использования пробы хранили в вакуумной упаковке при температуре –18° С. В ходе исследования контролировали фракционный состав белков и переваримость белков в условиях *in vitro* на начало процесса, а затем на 21, 35 и 42 сутки сухого созревания, а также аминокислотный состав на начало созревания и через 42 сутки выдержки.

Фракционный состав белков определяли методом нативного вертикального электрофореза в пластине ПААГ с использованием камеры Mini-Protean Tetra System. Гель-документирующая система Molecular Imager Gel Doc XR+ (BioRad). Количественный анализ фракций белков выполняли с использованием программного обеспечения Image Lab Software (BioRad). Содержание фракций выражали как массовую долю от общего содержания (%). Маркер белковый форебезе Unstained Protein Standard, Broad Range (10–200 kDa) (BioLabs).

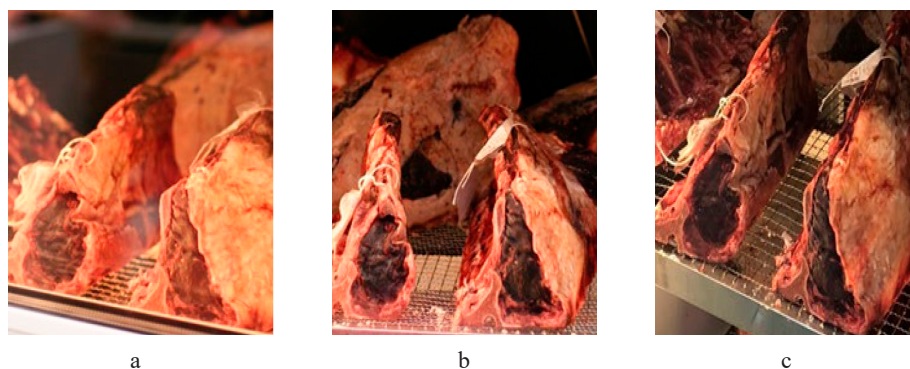


Рисунок 1. Отруба высококачественной говядины сухого созревания через 21 (а), 35 (b) и 42 (с) суток

Figure 1. High-quality beef on dry aging days 21 (a), 35 (b), and 42 (c)

Аминокислотный состав определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием хроматографа жидкостного Shimadzu LC-20 Prominence с диодно-матричным детектором Shimadzu SPD20MA с разделением аминокислот на колонке Kromasil C-18 250×4,6 мм. Условия проведения: давление 752 мм рт.ст., температура 24 °С, относительная влажность 40 % (МВИ МН 1363-2000. Метод по определению аминокислот в продуктах питания с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии).

Переваримость белков пищеварительными ферментами в опытах *in vitro* устанавливали методом последовательного воздействия на них системой протеаз, включающей пепсин и трипсин, при непрерывном удалении продуктов гидролиза диализом. Количество низкомолекулярных продуктов гидролиза определяли по тирозину [15]. Предварительно образцы (масса 100,0 ± 0,1 г) подвергали варке в воде при температуре 85 °С до кулинарной готовности 70 ± 2 °С.

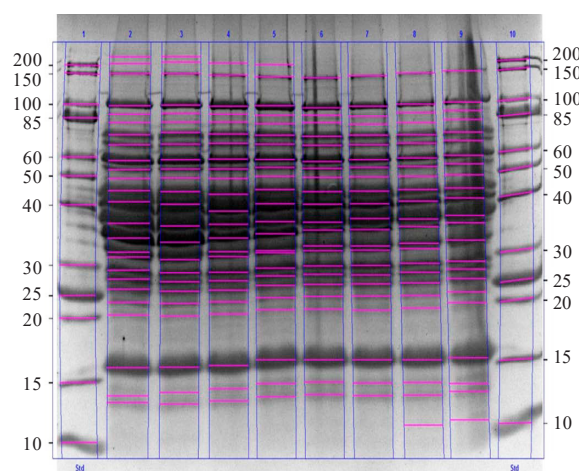
Результаты и их обсуждение

Протеолиз белков – важный фактор, определяющий нежность мяса и степень доступности белков действию пищеварительных ферментов. Электрофореграмма говядины сухого созревания на разных стадиях представлена на рисунке 2, результаты обработки полученных результатов – на рисунке 3.

Согласно полученным данным на начало созревания в исследуемом сырье идентифицированы белки с молекулярной массой 250–200 кДа, которые соответствуют тяжелым цепям миозина и парамиозина [16].

Массовая доля этих фракций составляет 1,0–1,2 %. При исследовании образцов через 21, 35 и 42 суток созревания белки с такой молекулярной массой не идентифицированы, что можно объяснить их распадом.

На всех стадиях контроля в исследуемых образцах выявили фракции белков с молекулярной



1 и 10 – маркеры; 2 и 3 – 1 сутки созревания; 4 и 5 – 21 сутки созревания; 6 и 7 – 35 суток созревания; 8 и 9 – 42 суток созревания

Рисунок 2. Электрофореграмма фракционирования белков говядины сухого созревания

Figure 2. Dry-aged beef protein fractionation: electropherogram

массой 150–100 кДа. Однако с увеличением продолжительности выдержки их количество снижалось с 14,5 % на начало созревания до 6,96 % через 21 сутки созревания, затем до 3,98 и 1,4 % через 35 и 42 суток соответственно. В говядине со сроком сухого созревания 21 сутки преобладали фракции с молекулярной массой около 140 кДа, в говядине со сроком созревания 35 и 42 дня – 130 кДа. Эти фракции следует рассматривать как растворимые продукты распада высокомолекулярных миофибриллярных белков, а также С-белка и актинина, участвующего в образовании поперечных связей между тонкими филаментами миофибрилл [17].

Установлено, что к 35 и 42 суткам созревания увеличилось содержание белковых фракций с молекулярной массой 80–90 кДа, тогда как через 21 сутки массовая доля белков этой фракции была сопос-

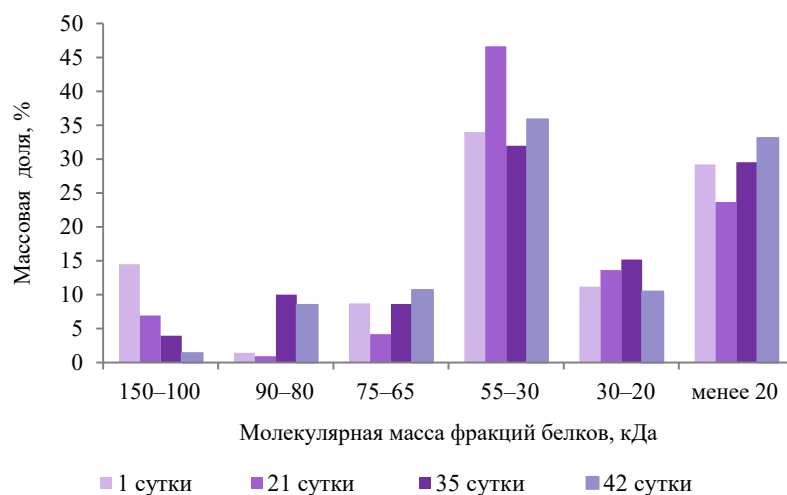


Рисунок 3. Изменение фракционного состава белков высококачественной говядины в процессе сухого созревания

Figure 3. Fractional composition of high-quality beef proteins during dry aging

тавима со значением для сырья, направляемого на созревание. Увеличение количества фракций белков с такой молекулярной массой свидетельствует о протеолитических изменениях в актомиозиновом комплексе с повышением свободных миозина и актина, которые начинают проявляться после длительного сухого созревания, превышающего 21 день.

Увеличение длительности сухого созревания приводит к повышению массовой доли фракций белков с молекулярной массой 65–75 кДа к 42 суткам выдержки. В контролируемые периоды сухого созревания их количество составило 8,71, 4,19, 8,64 и 10,71 % через 21, 35 и 42 сутки соответственно. Значительную долю представляют белковые фракции с молекулярной массой 55–30 кДа, которые могут быть отнесены к белкам тропонин-тропомиозинового комплекса, актину и десмину. Доля фракций белков с данной молекулярной массой составила 37 %, в исследуемые периоды созревания она изменялась незначительно.

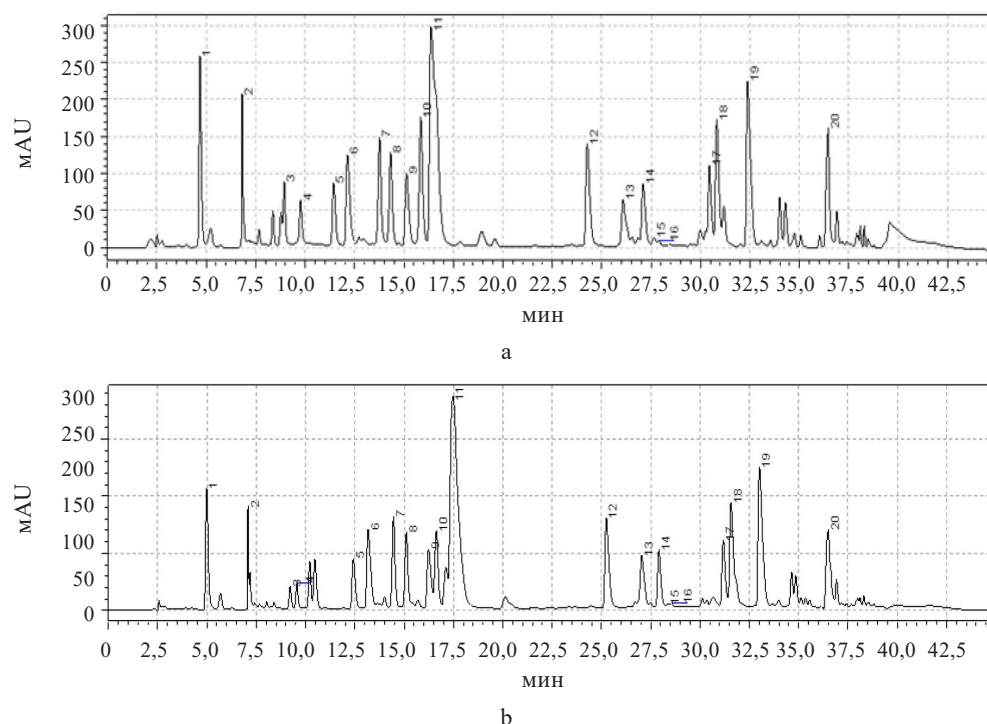
Особенностью электрофореграмм говядины сухого созревания является повышение фрагментов белков с молекулярной массой от 27 до 30 кДа. Их количество для исходного сырья составляет 7,83 %, для сырья со сроком сухого созревания 21, 35 и 42 сутки – 12,51, 13,79 и 8,97 % соответственно. Увеличение белков этих фракций относительно исходного сырья оценивается в 1,60, 1,98 и 1,10 раз через 21, 35 и 42 сутки сухого созревания соответственно. Появление этих фрагментов можно объяснить изменением регуляторных миофибриллярных белков, в частности тропомиозина и тропонина, с появлением фрагментов Т-тропомина молекулярной массой от 27 до 30 кДа. Снижение доли фракций белков массой 27–30 кДа на более поздних сроках созревания может быть обусловлено их взаимодействием с другими компонентами системы или дальнейшим распадом.

Появление фракций белков в зоне ниже 20 кДа свидетельствует о накоплении низкомолекулярных фрагментов как результата деградации основных мажорных белков, в частности легких цепей миозина. Содержание низкомолекулярных фракций составляет в исходном сырье 29,23 %, в сырье с исследуемыми сроками созревания – 23,66, 29,55 и 33,09 %.

Полученные данные изменения фракционного состава указывают на то, что деградация сократительных и регуляторных белков и белков цитоскелета приходится на разные сроки созревания и сопровождается нарушением структурной целостности мышечных волокон и повышением нежности мяса и доступности их пищеварительным ферментам. При выбранных условиях созревания увеличение доли низкомолекулярных фракций белков высококачественной говядины бычков породы герефорд сибирской селекции происходит при продолжительности сухого созревания более 35 суток, тогда как выдержки в течение 21 суток для этого недостаточно.

Для характеристики биологической ценности белковой составляющей и оценки влияния сухого созревания на степень модификации аминокислот изучили их состав на начало процесса и через 42 дня сухого созревания (рис. 4).

Высококачественная говядина сибирского герефорда – это сырье высокой пищевой ценности. На начало созревания общее содержание незаменимых аминокислот составляет 39,19 г/100 г белка, в эталонном белке оно равно 29,06 г/100 г белка (эталон ФАО/ВОЗ, 2011 г.). Через 42 дня созревания содержание незаменимых аминокислот увеличилось до 43,26 г/100 г белка, что можно объяснить уменьшением массовой доли влаги в созревшем сырье (табл. 1) [18]. В результате определения массовой доли белка установили ее увеличение с 20,8 % на начало созревания до 23,6 % к 42 суткам созревания.



1 – Асп, 2 – Глу, 3 – о-Про, 4 – Сер, 5 – Гли, 6 – Гис, 7 – Арг, 8 – Трп, 9 – Тре, 10 – Ала, 11 – Про, 12 – Тир, 13 – Мет, 14 – Вал, 15 – Цис, 16 – Цис, 17 – Иле, 18 – Лей, 19 – Фен, 20 – Лиз

Рисунок 4. ВЭЖХ хроматограмма анализа состава аминокислот говядины на начало (а) и через 42 дня (б) сухого созревания

Figure 4. Amino acid composition of beef on days 1 (a) and 42 (b) of dry aging: HPLC chromatogram

При оценке аминокислотного состава устанавливали содержание отдельных аминокислот, учитывая их чувствительность к окислению (табл. 1). Из-за высокой реакционной способности тиоловой группы к активным формам кислорода наиболее чувствительными являются метионин и цистеин. Другие аминокислоты, такие как тирозин, гистидин и триптофан, подвержены окислению, но в меньшей степени. Аргинин, пролин и тирозин более устойчивы к окислению. Изменения данных аминокислот вызывают осложненные условия, а именно развитие процесса окисления липидов, катализируемого металлами переменной валентности с образованием гидроксильных радикалов, которые способны взаимодействовать с боковыми группами аминокислот и изменять их [19, 20].

Из данных аминокислотного состава (табл. 1) следует, что в процессе созревания содержание серосодержащих аминокислот цистеина и метионина к 42 суткам созревания уменьшилось с 3,71 до 3,32 г/100 г белка и с 1,58 до 1,34 г/100 г белка соответственно по сравнению с началом сухого созревания. Выявленные различия находятся в пределах погрешности метода. Установлено снижение содержания таких аминокислот, как аргинин и триптофан. Наибольшее снижение содержания выявлено для пролина, тогда как массовая доля гистидина и фенилаланина увеличилась.

Таблица 1. Аминокислотный состав высококачественной говядины сухого созревания

Table 1. Amino acid composition of high-quality dry-aged beef

Аминокислота	Содержание аминокислот, г/100 г белка	
	1 сутки созревания	42 сутки созревания
Апсарагиновая кислота	6,23 ± 1,40	5,68 ± 1,30
Глутаминовая кислота	10,53 ± 2,40	12,98 ± 1,30
Оксипролин	1,32 ± 0,30	0,87 ± 0,20
Серин	1,77 ± 0,40	1,05 ± 0,20
Глицин	2,92 ± 0,60	2,88 ± 0,60
Гистидин	5,01 ± 1,10	5,33 ± 1,20
Аргинин	4,86 ± 1,10	4,66 ± 1,10
Триптофан	1,31 ± 0,30	1,23 ± 0,20
Треонин	4,06 ± 0,90	3,95 ± 0,90
Аланин	6,64 ± 1,50	4,40 ± 1,00
Пролин	5,43 ± 1,20	3,81 ± 0,80
Тирозин	5,08 ± 1,10	5,02 ± 1,10
Метионин	3,71 ± 0,80	3,32 ± 0,70
Цистин	1,58 ± 0,40	1,34 ± 0,30
Валин	3,03 ± 0,70	3,30 ± 0,70
Изолейцин	2,78 ± 0,60	3,72 ± 0,80
Лейцин	5,02 ± 1,00	7,97 ± 1,60
Фенилаланин	7,17 ± 1,60	7,63 ± 1,70
Лизин	5,45 ± 1,20	5,47 ± 1,20
$p < 0,05$		

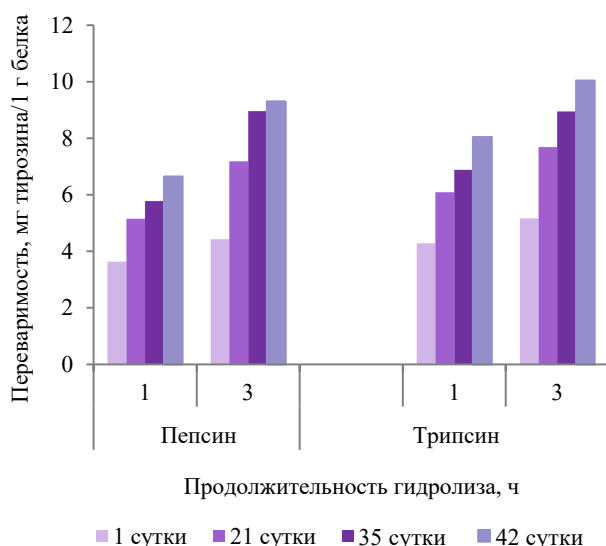


Рисунок 5. Переваримость белков высококачественной говядины в зависимости от степени сухого созревания

Figure 5. Protein digestibility of high-quality beef depending on the degree of dry aging

Из данных аминокислотного состава видно, что степень окислительных изменений белков зависит от условий, в которых находится сырье. Длительное сухое созревание говядины вызывает модификацию белков. Однако можно говорить об умеренности этих изменений, что подтверждают полученные ранее данные [21].

Фрагментация белков с появлением продуктов протеолиза меньшей молекулярной массы и свободных аминокислот приведет к повышению степени их доступности. Модификация аминокислот в результате окисления может вызвать изменение сайтов прикрепления пищеварительных ферментов и снижение доступности белков. Исследования взаимосвязи протеолиза и окисления белков пищевых систем и их доступности действию пищеварительных ферментов ограничены. Имеющиеся научные работы связаны с модельными исследованиями на белках, подвергаемых индуцированному химическому окислению, которое приводит к окислительным изменениям. В качестве примера можно привести модельные исследования переваримости нативного миозина и миозина, подвергнутого индуцированному окислению, которое вызывает выраженную деградацию. Из результатов исследования следует, что миозин, окисленный с образованием поперечных связей между биомолекулами, остается более устойчивым [22]. Исследования М. Morzel и др. с миофибриллярными белками скелетных свиных мышц, предварительно окисленных гидроксильным радикалом (ОН), показали, что модификации аминокислот при окислении могут снижать восприимчивость к гидро-

лазам, в частности к папаину [11]. Биомедицинскими исследованиями установлено, что повышение гидрофобности поверхности белков может усиливать деградацию белка протеазами [23]. Миофибриллы – более сложная система со многими белок-белковыми взаимодействиями, поэтому результаты, полученные на модельных системах, не могут быть в полной мере перенесены на реальные объекты.

В связи с этим был изучен процесс гидролиза белков говядины сухого созревания при последовательном воздействии на них пищеварительных ферментов в условиях *in vitro*, которые имитируют пищеварение в желудочно-кишечном тракте (рис. 5). Пепсин как пищеварительный фермент эффективно расщепляет пептидные связи между гидрофобными и ароматическими аминокислотами, такими как фенилаланин, триптофан и тирозин. Трипсин воздействует на остатки аргинина или лизина на С-конце.

Усвояемость мясных белков зависит от размера и последовательности пептидных сегментов, а также от состава аминокислот после переваривания.

Как следует из полученных данных, степень гидролиза пептидных связей белков пищеварительными ферментами увеличивается с повышением продолжительности выдержки говядины в условиях сухого созревания. Для говядины со сроком сухого созревания 42 дня количество продуктов гидролиза при воздействии пепсина в течение 1 ч увеличилось в 1,83 раза относительно невыдержанного сырья. При более длительном воздействии пепсина (3 ч) относительное увеличение продуктов гидролиза оценивается в 2,1 раза. Таким образом, увеличение экспозиции мышечных белков и фермента приводит к тому, что возможное негативное влияние агрегирования как результата окисления снижается.

Действие пепсина, вызвавшего гидролиз значительного количества пептидных связей, способствует увеличению скорости гидролиза белка под действием трипсина. Общее количество продуктов гидролиза при переваривании высококачественной говядины на начало созревания составило 9,59 мг тирозина/г белка, тогда как через 42 суток созревания оно увеличилось до 16,69 мг тирозина/г белка. Эти данные свидетельствуют о том, что деградация белка на стадии созревания нивелирует последствия молекулярной агрегации, вызванной окислением, которое при сухом созревании носит ограниченный характер [21].

Полученные данные согласуются с исследованием R. Zhang и др., в котором лучшая усвояемость белка говядины ступенчатого созревания в проницаемых пакетах обусловлена развитием ферментативных процессов с образованием низкомолекулярных фрагментов белка и свободных аминокислот и стабилизацией белков за счет ограниченного доступа кислорода [24]. Аналогичные результаты получены в исследовании влияния способов созревания свинины

на протеолиз и переваримость белков, согласно которым сухое созревание в течение 28 суток способствовало повышению количества растворимых пептидов и аминокислот в гидролизате *in vitro* [25]. В работе J.-H. Kim и др. приводятся данные о том, что белки говядины сухого созревания (28 суток), доведенной до кулинарной готовности, усваиваются лучше, чем белки товарной говядины аналогичного способа подготовки, хотя степень окисления и гидрофобность белков созревшей говядины были выше [26].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное сухое созревание до 42 суток способствует повышению пищевой ценности и усвояемости белков высококачественной говядины.

Выводы

Распределение фракций белков по стадиям сухого созревания свидетельствует о разной скорости деградации мышечных белков и степени нарушения структурной целостности мышечных волокон, формирования нежности мяса и доступности белков пищеварительным ферментам. Результаты определения аминокислотного состава и перевариваемости *in vitro* позволяют говорить о повышении доступности белков действию пищеварительных ферментов к 21 суткам сухого созревания

и далее. Полученные результаты свидетельствуют о возможности регулирования качества и пищевой ценности говядины сухого созревания длительностью выдержки.

Критерии авторства

Г. В. Гуринович руководила проектом (0,4). В проведении исследований, обработке данных, написании и корректировке статьи принимали участие все авторы в долях: В. А. Хренов – 0,25, И. С. Патракова – 0,15, М. В. Патшина – 0,15, А. И. Шевченко – 0,05.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

G.V. Gurinovich supervised the project (0.4%). Other authors were responsible for the following shares of experimental studies, data processing, writing, and editing: V.A. Khrenov – 0.25%, I.S. Patrakova – 0.15%, M.V. Patshina – 0.15%, A.I. Shevchenko – 0.05%.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Schöne F, Ibel A, Lorkowski S, Ihling M, Ramminger S, Kirmse R, et al. Composition of pork and German meat products with a focus on iron, selenium and iodine. Journal of Food Composition and Analysis. 2023;119. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105246>
2. Santos D, Barradas M, Rodríguez-Alcalá LM, Teixeira P, Pintado M. Nutritional profile of beef on the shelves: Influence of production system. Journal of Food and Agriculture Research. 2021;1(2):157–179.
3. Sosin-Bzducha E, Puchała M. Effect of breed and aging time on physicochemical and organoleptic quality of beef and its oxidative stability. Archives Animal Breeding. 2017;60:191–198. <https://doi.org/10.5194/aab-60-191-2017>
4. Chernukha IM, Akhremko AG. Comparative study of autolytic changes in pork and beef muscle tissue proteome. Theory and Practice of Meat Processing. 2018;3(3):56–63. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-3-56-63>
5. Bhat ZF, Morton JD, Mason SL, Bekhit AE-DA. Role of calpain system in meat tenderness: A review. Food Science and Human Wellness. 2018;7(3):196–204. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.08.002>
6. Shi H, Shahidi F, Wang J, Huang Y, Zou Y, Xu W, et al. Techniques for postmortem tenderisation in meat processing: Effectiveness, application and possible mechanisms. Food Production, Processing and Nutrition. 2021;3. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00062-0>
7. Wang Z, He Z, Gan X, Li H. Interrelationship among ferrous myoglobin, lipid and protein oxidations in rabbit meat during refrigerated and superchilled storage. Meat Science. 2018;146:131–139. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.006>
8. Zhu X, Ma Z, Zhang X, Huang X, Liu J, Zhuang X. Effect of malondialdehyde-induced oxidation modification on physicochemical changes and gel characteristics of duck myofibrillar proteins. Gels. 2022;8(10). <https://doi.org/10.3390/gels8100633>
9. Bao Y, Boeren S, Ertbjerg P. Myofibrillar protein oxidation affects filament charges, aggregation and water-holding. Meat Science. 2018;135:102–108. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.09.011>
10. Xiong YL. Muscle protein oxidation and functionality: A global view of a once-neglected phenomenon. Meat and Muscle Biology. 2022;5(3). <https://doi.org/10.22175/mmb.14349>
11. Morzel M, Gatellier P, Sayd T, Renner M, Laville E. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. Meat Science. 2006;73(3):536–543. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.02.005>

12. Kim J-H, Kim T-K, Shin D-M, Kim H-W, Kim Y-B, Choi Y-S, *et al.* Comparative effects of dry-aging and wet-aging on physicochemical properties and digestibility of Hanwoo beef. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2020;33(3):501–505. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0031>
13. Kim YHB, Kemp R, Samuelsson LM. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. *Meat Science*. 2016;111:168–176. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.09.008>
14. Choe J, Park B, Lee HJ, Jo C. Potential antioxidant and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in crust of dry-aged beef. *Scientific Reports*. 2020;10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64861-0>
15. Zhuravskaya NK, Alekhina LT, Otryashenkova LM. Research and quality control of meat and meat products. Moscow: Agropromizdat; 1985. 296 p. (In Russ.). [Журавская Н. К., Алехина Л. Т., Отряшенкова Л. М. Исследование и контроль качества мяса и мясопродуктов. М.: Агропромиздат, 1985. 296 с.]
16. Lisitsyn AB, Ivankin AN, Vostrikova NL, Stanovova IA. Study of the fractional composition of meat proteins during prolonged cold storage. *Vsyo o Myase*. 2014;(2):36–40. (In Russ.). [Изучение фракционного состава белков мяса в процессе длительного холодильного хранения / А. Б. Лисицын [и др.] // Все о мясе. 2014. № 2. С. 36–40.]. <https://www.elibrary.ru/SCSMXL>
17. Grujić R, Savanović D. Analysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins in pork meat by capillary gel electrophoresis. *Foods and Raw Materials*. 2018;6(2):421–428. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-421-428>
18. Hrenov VA, Gurinovich GV, Patrakova IS, Kudryashov LS. Beef quality regulation by dry aging. *Meat Industry*. 2022;(9):24–28. (In Russ.). <https://doi.org/10.37861/2618-8252-2022-09-24-28>
19. Papuc C, Goran GV, Predescu CN, Nicorescu V. Mechanisms of oxidative processes in meat and toxicity induced by postprandial degradation products: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017;16(1):96–123. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12241>
20. Zhang W, Xiao S, Ahn DU. Protein oxidation: Basic principles and implications for meat quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013;53(11):1191–1201. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.577540>
21. Gurinovich GV, Hrenov VA, Patrakova IS, Kudryashov LS. Study of the oxidative changes in beef upon dry aging. *Vsyo o Myase*. 2022;(5):54–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-5-54-57>
22. Kamin-Belsky N, Brillon AA, Arav R, Shaklai N. Degradation of myosin by enzymes of the digestive system: Comparison between native and oxidatively cross-linked protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996;44(7):1641–1646. <https://doi.org/10.1021/jf950413x>
23. Davies KJA. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie*. 2001;83(3–4):301–310. [https://doi.org/10.1016/s0300-9084\(01\)01250-0](https://doi.org/10.1016/s0300-9084(01)01250-0)
24. Zhang R, Yoo MJY, Farouk MM. Oxidative stability, proteolysis, and *in vitro* digestibility of fresh and long-term frozen stored in-bag dry-aged lean beef. *Food Chemistry*. 2021;344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128601>
25. Vinauskienė R, Surblytė G, Alekšūnas A, Keršienė M, Leskauskaitė D. Effect of traditional and dry package ageing on physicochemical properties and protein digestibility of pork *Longissimus thoracis* muscle. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 2022;27. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100487>
26. Kim J-H, Lee H-J, Shin D-M, Kim T-K, Kim Y-B, Choi Y-S. The dry-aging and heating effects on protein characteristics of beef *longissimus dorsi*. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2018;38(5):1101–1108. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e43>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2463>
<https://elibrary.ru/NKFQYF>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Оптимизация получения полисахаридов из *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200



С. А. Сухих*, Е. А. Буденкова, Ю.-Д. С. Бойченко,
В. Д. Анохова, В. Ф. Долганюк, Е. В. Каширских

Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта, Калининград, Россия

Поступила в редакцию: 25.07.2023

Принята после рецензирования: 23.08.2023

Принята к публикации: 05.09.2023

*С. А. Сухих: stas-asp@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-7910-8388>

Е. А. Буденкова: <https://orcid.org/0000-0003-4854-5459>

В. Ф. Долганюк: <https://orcid.org/0000-0003-0603-7456>

Е. В. Каширских: <https://orcid.org/0000-0003-0442-5471>

© С. А. Сухих, Е. А. Буденкова, Ю.-Д. С. Бойченко,
В. Д. Анохова, В. Ф. Долганюк, Е. В. Каширских, 2023



Аннотация.

Цианобактерии являются перспективными продуцентами экзополисахаридов, обладающих высокой биологической активностью. Актуальным является вопрос выделения и идентификации экзополисахаридов из штамма цианобактерий *Cyanobacterium* sp. рода *Cyanobacterium* семейства *Cyanobacteriaceae* fam. nov. Цель исследования заключалась в изучении экзополисахаридов штамма цианобактерий *Cyanobacterium* sp. B-1200, в зависимости от физико-химических условий культивирования и состава культуральной среды, и подборе оптимальных параметров экстракции и очистки экзополисахаридов из культуральной среды.

Штамм цианобактерий *Cyanobacterium* sp. B-1200 выращивали в условиях освещения 7500 ± 50 люкс (12 ч света/12 ч темноты). Сухую клеточную массу цианобактерий определяли методом гравиметрии, а также с использованием градуировочного графика зависимости количества биомассы от степени поглощения при длине волны 750 нм. Количество полисахаридов в культуральной жидкости оценивали антрон-серноокислым методом. Экстракцию полисахаридов осуществляли путем спиртового осаждения. Метод ультразвукового диспергирования применяли для деструкции клеточных стенок цианобактерий.

В результате исследования подобрали оптимальные параметры экстракции и очистки экзополисахаридов. Удаление из культуральной среды гидрокарбоната натрия и увеличение его концентрации в среде на 300 % положительно влияло на выход полисахаридов. Оптимальным значением активной кислотности для синтеза полисахаридов являлось значение $\text{pH} = 6$. Оптимальная температура для накопления полисахаридов – 35°C , хотя наибольшее количество биомассы отмечено при 25°C . Интенсивное белое освещение способствовало наибольшему выходу экзополисахаридов в культуральную среду, красно-белое освещение вызывало изменение морфологии клеток цианобактерий. При проведении экстракции влияние оказывали концентрация, температура и природа экстрагента: наибольший выход экзополисахаридов наблюдался при использовании изопропанола, наименьший – при использовании бутанола.

В результате подбора оптимальных режимов экстракции и очистки полисахаридов были сформулированы следующие рекомендации: для ультразвуковой обработки рекомендовано использовать мощность 20 Вт и время обработки 5 мин, для сублимационной – продолжительность 8 ч и температура -15°C .

Ключевые слова. *Cyanobacterium* sp., экзополисахариды, спиртовая экстракция, условия культивирования, ультразвуковое диспергирование, культуральная жидкость, нейтральные сахара, уроновые кислоты

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России), проект № 075-15-2022-245 (внутр. 13.2251.21.0134).

Для цитирования: Оптимизация получения полисахаридов из *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200 / С. А. Сухих [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 630–641. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2463>

Optimizing the Production of Polysaccharides from *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200



Stanislav A. Sukhikh*, Ekaterina A. Budenkova, Yulia-Danae S. Boychenko, Veronika D. Anokhova, Vyacheslav F. Dolganyuk, Egor V. Kashirskih

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Received: 25.07.2023
Revised: 23.08.2023
Accepted: 05.09.2023

*Stanislav A. Sukhikh: stas-asp@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-7910-8388>
Ekaterina A. Budenkova: <https://orcid.org/0000-0003-4854-5459>
Vyacheslav F. Dolganyuk: <https://orcid.org/0000-0003-0603-7456>
Egor V. Kashirskih: <https://orcid.org/0000-0003-0442-5471>

© S.A. Sukhikh, E.A. Budenkova, Yu.-D.S. Boychenko, V.D. Anokhova, V.F. Dolganyuk, E.V. Kashirskih, 2023



Abstract.

Cyanobacterium sp. IPPAS B-1200 is a cyanobacteria strain that belongs to the rare genus *Cyanobacterium*, family *Cyanobacteriaceae* fam. nov. Studies devoted to the isolation of secondary metabolites from this strain concentrate mostly on the fatty acid composition while the issue of isolating and identifying exopolysaccharides remains understudied. However, polysaccharides from cyanobacteria are of scientific and economic interest in the framework of biotechnology, medicine, pharmacology, etc. The research objective was to study the effect of the physicochemical conditions of cultivation and the composition of the cultural medium on exopolysaccharide production.

Cyanobacterium sp. B-1200 were grown under 7500 ± 50 lux (12 h light/12 h dark). The dry cell weight was determined by gravimetry and a calibration plot that illustrated the dependence of the biomass amount on the degree of absorption at a wavelength of 750 nm. The amount of polysaccharides in the culture liquid was assessed by the Anthrone-sulphate method. The extraction was carried out by alcohol precipitation. The method of ultrasonic dispersion was used to destroy the cell walls of cyanobacteria.

The experimental study revealed the optimal parameters for the extraction and purification of exopolysaccharides from the culture medium. Removal of sodium bicarbonate from the medium and a 300%-increase in its concentration raised the yield of polysaccharides. The optimal value of active acidity for the synthesis of polysaccharides was pH = 6 while the optimal temperature for their accumulation was 35°C. The largest amount of biomass was obtained at 25°C. Intense white illumination contributed to the greatest release of exopolysaccharides into the culture medium; red-white illumination affected the morphology of cyanobacteria cells. During the extraction, the concentration, temperature, and nature of the extractant proved to be the most important factors. For example, isopropanol produced the highest yield while butanol triggered the least effective response.

The optimal extraction and purification modes for polysaccharides were as follows. For ultrasonic processing, the best results were obtained at a power of 20 W after 5 min. For freeze drying, the rational parameters were 8 h at –15°C.

Keywords. *Cyanobacterium* sp., exopolysaccharides, alcohol extraction, cultivation conditions, ultrasonic dispersion, culture liquid, neutral sugars, uronic acids

Funding. The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauki), project no. 075-15-2022-245 (ext. 13.2251.21.0134).

For citation: Sukhikh SA, Budenkova EA, Boychenko Yu-DS, Anokhova VD, Dolganyuk VF, Kashirskih EV. Optimizing the Production of Polysaccharides from *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):630–641. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2463>

Введение

Полисахариды представляют собой биополимеры, встречающиеся в природе в ряде организмов, таких как животные, растения, грибы и бактерии.

Экзополисахариды – полимеры с большой молекулярной массой, которые выделяются клетками организмов в окружающую среду и состоят из остатков сахаров [1]. Экзополисахариды привлекают

внимание исследователей из-за своей биологической активности и применения в фармацевтической и диагностической индустриях [2].

Микроводоросли и цианобактерии являются перспективными продуцентами экзополисахаридов, по сравнению с микроорганизмами, поскольку для их культивирования не требуются богатые углеводами субстраты. Определенные условия культивирования позволяют добиться увеличения продукции экзополисахаридов: стрессовые физические факторы (температура, освещение), солевой стресс и др. [3]. Интерес вызывают экзополисахариды цианобактерий, поскольку их наличие обуславливает присутствие цианобактерий даже в экстремальных условиях и их легкую адаптацию к этим средам. Экзополисахариды способствуют образованию биопленок, которые являются одним из эффективных способов выживания в суровых условиях окружающей среды [4].

Экзополисахариды цианобактерий обладают сложной химической структурой, которая обуславливает их биологически активный потенциал [5]. Они характеризуются большим разнообразием как по количеству конститутивных моносахаридов (от 2 до 10), так и по их типу (различное расположение кислых и нейтральных сахаров). Большинство экзополисахаридов цианобактерий имеет анионную природу из-за присутствия уроновых кислот и/или других заряженных групп, таких как пирувил или сульфат. Иногда обнаруживаются полипептидные фрагменты и ацетильные заместители [6]. Функции экзополисахаридов различаются у разных видов и обеспечивают в качестве основного механизма выживания в экстремальных условиях защиту от токсинов, тяжелых металлов, условий окружающей среды и дефицита питательных факторов. Они модифицируют текучесть внешней среды и участвуют в важных для структурирования сообщества биопленок клеточных коммуникациях. Таким образом, выживание и рост цианобактерий зависят от свойств и наличия экзополисахаридов. В связи с этим на производство экзополисахаридов цианобактерии расходуют до 70 % всего запаса энергии [7].

Экзополисахариды цианобактерий находят применение в различных отраслях промышленности, таких как медицина, косметология и др. [8]. Полисахариды цианобактерий обладают ранозаживляющими и противоаллергическими свойствами, поэтому их можно рассматривать как сырье для производства гипоаллергенной ранозаживляющей косметики [9]. Такой цианобактериальный полисахарид, как сакран, имеет потенциал применения в тканевой инженерии, фармакологии и в производстве биомедицинских материалов [10]. Также экзополисахариды цианобактерий рассматриваются как сырье для производства биосмазочных материалов [11].

Несмотря на биотехнологический потенциал экзополисахаридов, не все виды микроводорослей и

цианобактерий имеют естественно высокую концентрацию. Это обуславливает необходимость подбора физико-химических параметров культивирования. Многими исследованиями показано, что варьирование технологических параметров культивирования способствует адаптации метаболизма микроводорослей для производства большего количества полисахаридов [12–15]. Например, при изменении температурного и светового режимов, ограничении макро- и микроэлементного состава (в основном азота) и солевого стресса. Таким образом, оптимизация технологических условий культивирования микроводорослей способствует увеличению скорости роста клеток, производства биомассы и выхода полисахаридов.

Исследование J. B. Moreira и др. подтверждает, что снижение концентрации питательных веществ в культуральной среде способствует увеличению выработки экзополисахаридов микроводорослями [16]. Повышение концентрации питательных веществ в культуральной среде, как и снижение, может привести к аналогичному результату. В случае с цианобактерией *Cyanobacterium* sp. высокие концентрации гидрокарбоната натрия способствовали увеличению содержания полисахаридов до 49,2 % [17].

Штамм *Cyanobacterium* sp. B-1200 относится к немногочисленному и поли/парафилетическому роду *Cyanobacterium*, семейству *Cyanobacteriaceae* fam. nov. и порядку *Chroococcales* или Хлорококковые [18]. Этот штамм цианобактерий был выделен и очищен из соленого озера Балхаш, Казахстан. Штамм характеризуется относительно высоким содержанием жирных кислот (миристиновой и миристоеиновой), их количество может достигать 60 % [19]. Однако отсутствуют сведения о содержании и составе полисахаридов для этого штамма.

Целью работы являлось исследование продукции экзополисахаридов из штамма цианобактерии *Cyanobacterium* sp. B-1200, в зависимости от физико-химических условий культивирования и состава культуральной среды, а также подбор оптимальных параметров экстракции и очистки экзополисахаридов из культуральной среды.

Объекты и методы исследования

Штамм цианобактерии *Cyanobacterium* sp. B-1200 был приобретен из Коллекции 143 микроводорослей и цианобактерий Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук (ИППАС ИПП РАН). Клетки одиночные или парные, с продольно расположенным тилакоидами, без слизистых оболочек (рис. 1). Штамм охарактеризован как алкалофил, мезофил, светолубивый и автотроф; выделен в 2012 г. из озера Балхаш, Казахстан [19].

Методом периодического культивирования штамм *Cyanobacterium* sp. B-1200 выращивали в конических колбах объемом 100 мл при освещении 7500 ± 50 люкс

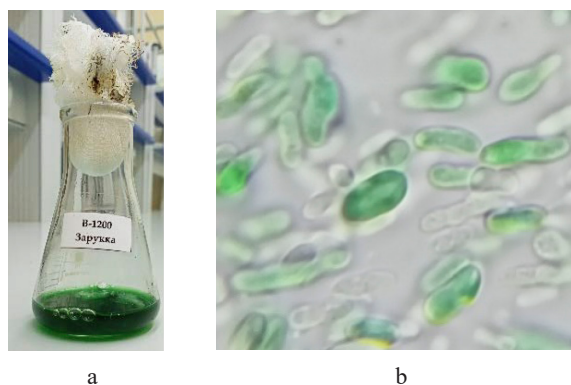


Рисунок 1. Морфология штамма *Cyanobacterium* sp. B-1200: а – макровид, б – клетки при 100-кратном увеличении

Figure 1. Morphology of *Cyanobacterium* sp. B-1200: а – macro view, б – cells at 100× magnification

(12 ч света/12 ч темноты). Освещение обеспечивалось светодиодной лампой ProLine 580 LED (Spectrum Brands, Inc., Мелле, Германия) с белыми и красными светодиодами (8:1). Уровень интенсивности оценивали люксметром. Для культивирования *Cyanobacterium* sp. B-1200 использовали питательную среду Заррука, которую готовили в соответствии с протоколом [20]. Длительность культивирования составила 12 суток.

Определение сухой клеточной массы цианобактерий проводили гравиметрическим методом, а также с использованием градуировочного графика зависимости количества биомассы от степени поглощения при длине волны 750 нм.

Для гравиметрического анализа из пробы отбирали аликвоту в объеме 1 мл, которую взвешивали с точностью до четвертого знака после запятой. Пробирку с отобраным содержимым центрифугировали при 3900 об/мин в течение 1 мин, затем отбрасывали супернатант. К осадку приливали 1 мл дистиллированной воды, вортиксовали 1 мин и заново центрифугировали. Процедуру повторяли 1–2 раза. Полученный промытый осадок (клетки микроводорослей) высушивали в сушильном шкафу при 45 °C в течение ночи. После высушивания пробирку переносили в охлажденный штатив и взвешивали с точностью до четвертого знака после запятой. Массу клеток определяли по формуле (1):

$$m = (m_1 - m_0) \times 1000 \quad (1)$$

где m – сухая масса микроводоросли, г/л; m_1 – масса пробирки и сухих микроводорослей, г; m_0 – масса пустой пробирки, г; 1000 – коэффициент пересчета массы в г/л из г/мл.

Калибровочная кривая зависимости количества биомассы от степени поглощения при 750 нм была

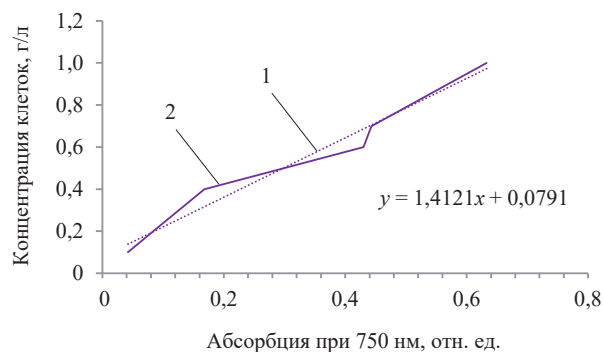


Рисунок 2. Калибровочная кривая зависимости уровня абсорбции суспензии (1) и сухой биомассы (2) штамма *Cyanobacterium* sp. B-1200

Figure 2. Effect of absorption in the suspension (1) on dry biomass (2) of the *Cyanobacterium* sp. strain B-1200, calibration curve

получена путем последовательного разведения концентрированной суспензии культуры (рис. 2). Переход культуры в экспоненциальную фазу (log) роста и завершение этой фазы определяли путем взятия логарифма всех значений поглощения и мониторинга в зависимости от времени культивирования. Удельную скорость роста (μ) культуры, количество клеточных делений в сутки и время удвоения биомассы (T_d) микроводорослей рассчитывали с использованием формул, предложенных М. J. Griffiths и др. [21]. Удельный темп роста культуры (μ) высчитывали по формуле (2):

$$\mu = \frac{m_1 - m_0}{t_1 - t_0} \quad (2)$$

где m_1 – масса культуры микроводорослей в определенный момент роста, мг/г суточной массы; m_0 – начальная масса, мг/г суточной массы; t_1 – время отбора проб в определенный момент времени, сутки; t_0 – начало роста культуры. Время удвоения биомассы (T_d) высчитывали по формуле 3:

$$T_d = (t_2 - t_1) \times \frac{\log(2)}{\log(q_2 / q_1)} \quad (3)$$

где t_1 – время начала культивирования; t_2 – время отбора проб; q_2 – масса культуры микроводорослей в определенной точке роста, мг/г массы тела; q_1 – начальная масса, мг/г массы тела.

Количество полисахаридов в культуральной жидкости изучали спектрофотометрическим методом на спектрофотометре SolidSpec-3700/3700 DUV (Shimadzu, Киото, Япония). Для этого производили отбор проб в объеме 1 мл, предварительно размешав суспензию до гомогенного состояния. От данного объема переносили в лунки 96-луночного планшета 150 мкл образца и немедленно проводили анализ, чтобы избежать оседания клеток. Контролем для из-

мерения концентрации клеток в суспензии служила соответствующая стерильная питательная среда. Измерение проводили при длине волны 750 нм для всех микроводорослей, т. к. при данной длине волны возможность интерференции по абсорбции хлорофилла минимальна. Оставшийся объем аликвоты центрифугировали при 3900 об/мин 5 мин. Надосадочную жидкость анализировали на общее содержание свободных углеводов и экзополисахаридов антрон-сернокислым методом.

Для определения уруновых кислот перед проведением реакции с карбазолом необходимо провести демеоксилирование, т. к. неодинаковая степень метоксилирования затрудняет получение достоверных результатов. Демеоксилирование проводили при комнатной температуре. Для этого к 0,5 мл раствора фракции с концентрацией 0,5 мг/мл приливали 2 мл 0,05 Н NaOH и через полчаса 0,2 мл 0,05 Н HCl. Затем в пробирки добавляли по 0,5 мл демеоксилированной суспензии микроводорослей, помещали в сосуд со льдом и по каплям приливали 3 мл раствора бората в серной кислоте. Пробирки с анализируемой пробой встряхивали в охлажденной смеси и после завершения реакции нагревали 6 мин на кипящей водяной бане. После кипячения пробирки снова охлаждали в сосуде с водой и льдом. В две пробирки с экстрактом фракции микроводорослей и одну с водой добавляли 0,1 мл 0,2 % раствора карбазола в абсолютном этаноле, затем их вновь помещали в кипящую водяную баню на 10 мин. Препарат карбазола перекристаллизован из бензола и очищен возгонкой. По разнице пошедшего на реакцию карбазола определяли количество уруновых кислот.

Количество нейтральных сахаров определяли согласно методике [22]. Для этого исследуемый образец в объеме 50 мкл смешивали с антроновым реактивом в соотношении 1:3. Суспензию доводили до гомогенного состояния и нагревали до 70 °С в течение 5 мин. Затем образцы охлаждали до комнатной температуры и измеряли уровень абсорбции при 620 нм на планшетном ридере на спектрофотометре SolidSpec-3700/3700 DUV (Shimadzu, Киото, Япония). Контролем служила соответствующая питательная среда. Полученные значения абсорбции конвертировали в массовые значения (г/л) с помощью калибровочной кривой. Калибровочная кривая зависимости оптической плотности от концентрации была получена с использованием разведенных растворов стандартного образца сахарозы.

В качестве водонерастворимого спирта для двухфазной экстракции экзополисахаридов использовали бутанол. Образцы культуральной среды с клетками микроводорослей центрифугировали при 3900 об/мин в течение 20 мин в центрифуге 1701 Hettich ROTINA 380 (DV-expert, Москва, Россия), собирали надосадочную жидкость и фильтровали через бумажный фильтр с размером пор 2–3 мкм (Millab,

Москва, Россия). Фильтрат смешивали с различными спиртами (этанол, бутанол, изопропанол) в соотношениях 1:1, 1:2, 1:3 и оставляли на 12 ч при различных температурах (от –30 до +30 °С с шагом 10 °С). После осаждения растворы центрифугировали при 3900 об/мин в центрифуге, надосадочную жидкость отбрасывали, а осадок высушивали в лиофильной сушилке Inei-6 (Институт биологического приборостроения Российской академии наук, Пушкино, Россия) в течение 12 ч при –20 °С и давлении 0,350 мбар. После сушки выход выделенных полисахаридов определяли гравиметрически. Затем выделенную массу полисахарида пересчитывали на сухую биомассу (мг/г сухой биомассы) по формуле (4):

$$m = \frac{m_{\text{od480}}}{m_{\text{d.w.}}} \quad (4)$$

Для разрушения клеточных стенок использовали метод ультразвукового диспергирования. Осадок культуральной жидкости растворяли в дистиллированной воде и подбирали параметры ультразвукового диспергирования в ультразвуковой установке УП200Ст (АнтиС, Санкт-Петербург, Россия) с различной мощностью (20, 40 и 60 Вт) и продолжительностью обработки (0,5, 1, 2, 3 и 4 мин) [23]. Затем массу полисахаридов пересчитывали антрон-сульфатным методом на сухую биомассу (мг/г с.в.) по формуле (1).

Каждый эксперимент проводили в трехкратной повторности, а данные представляли как среднее значение ± стандартное отклонение. Полученные данные обрабатывали стандартными статистическими методами. Данные подвергали дисперсионному анализу (ANOVA) с использованием пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc., 2007, США). Апостериорный анализ (критерий Дункана) проводился для выявления образцов, отличающихся друг от друга. Равенство дисперсий извлеченных выборок проверяли с помощью теста Левена. Различия между средними значениями считались значимыми, если доверительный интервал был меньше 5 % ($p < 0,05$). Построение графиков проводили с помощью пакета Excel (Microsoft Corporation, 15,0, 2016, Редмонд, Вашингтон, США).

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследования была проведена оптимизация состава питательных сред с целью максимального накопления полисахаридов клетками *Cyanobacterium* sp. B-1200. Ограничение поступления питательных веществ является широко используемой стратегией для увеличения накопления полисахаридов микроводорослями [12–15, 22].

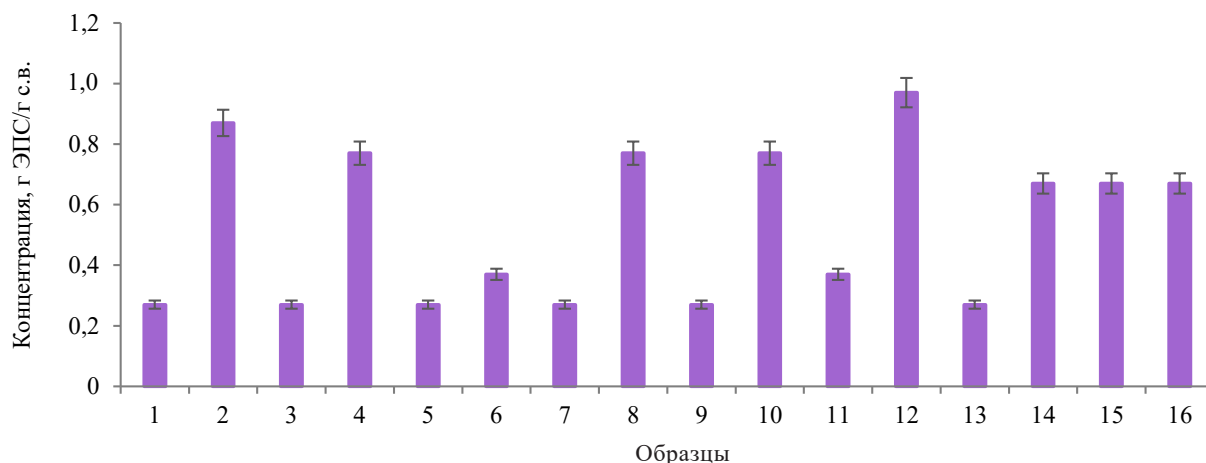
В качестве факторов, которые варьировали в процессе оптимизации питательной среды, были выбраны соли NaNO_3 , $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 и NaCl . Остальные компоненты присутствовали в стандарт-

ной концентрации. Наибольший выход полисахаридов был зафиксирован при удалении из среды гидрокарбоната натрия: в этом случае концентрация экзополисахаридов (ЭПС) составила 0,97 г ЭПС/г с.в. (рис. 3).

Провели исследование по определению такой концентрации солей, при которой продукция экзополисахаридов была бы максимальной. Для этого варьировали концентрации компонентов среды, которые были приняты в качестве исследуемых факторов

(NaNO_3 , $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 и NaCl). При варьировании использовали исходную концентрацию (0 %), а также увеличенные на 200, 250 и 300 % от исходной (рис. 4).

Эмпирические данные на рисунке 4 показывают, что при увеличении в среде нитрата натрия на 300 %, по сравнению с исходной концентрацией (2,5 г/л), наблюдается максимальный выход экзополисахаридов – 4 г ЭПС/г с.в. Оптимальной концентрацией фосфата калия является исходное значение (1,0 г/л).



Факторы	Образцы															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
X_1	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+
X_2	–	–	+	+	–	–	+	+	–	–	+	+	–	–	+	+
X_3	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–	+	+	+	+
X_4	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+

X_1 – NaNO_3 , X_2 – $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, X_3 – NaHCO_3 , X_4 – NaCl ; «–» – нижний уровень фактора, «+» – верхний уровень фактора.

Рисунок 3. Влияние состава питательной среды на выработку экзополисахаридов штаммом *Cyanobacterium* sp. B-1200

Figure 3. Effect of nutrient medium composition on the production of exopolysaccharides by *Cyanobacterium* sp. B-1200

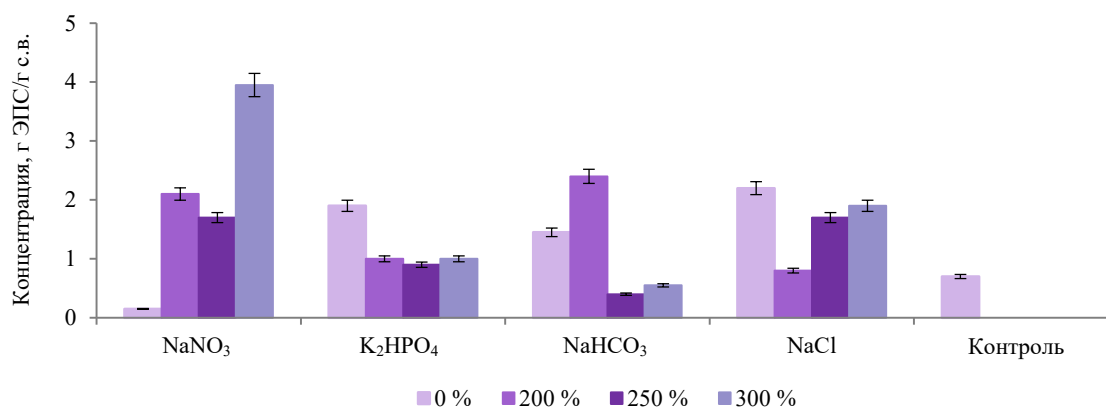
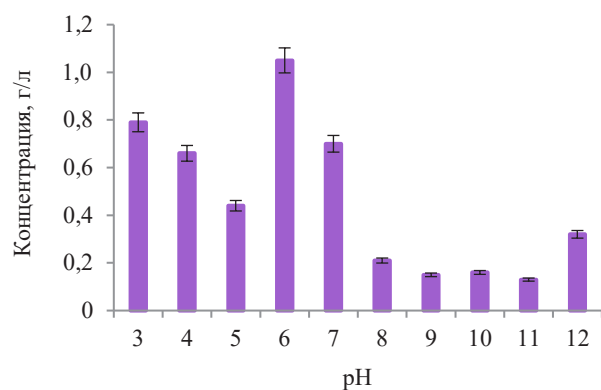
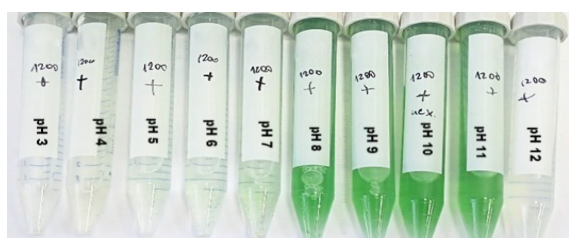


Рисунок 4. Влияние варьирования состава питательной среды на выработку экзополисахаридов штаммом *Cyanobacterium* sp. B-1200

Figure 4. Effect of various nutrient media on the production of exopolysaccharides by *Cyanobacterium* sp. B-1200



a



b

Рисунок 5. Влияние исходного значения pH на морфологию и продукцию экзополисахаридов штаммом *Cyanobacterium* sp. B-1200: а – концентрация экзополисахаридов; б – внешний вид культуральной жидкости

Figure 5. Effect of initial pH on morphology and exopolysaccharide production from *Cyanobacterium* sp. B-1200: а – concentration of exopolysaccharides; б – culture liquid

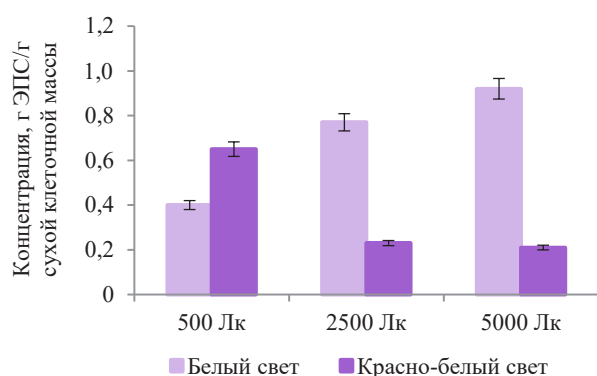


Рисунок 7. Продукция экзополисахаридов и морфология клеток в условиях различного освещения для штамма *Cyanobacterium* sp. B-1200

Figure 7. Exopolysaccharide production and cell morphology under different lighting conditions for *Cyanobacterium* sp. B-1200

При увеличении концентрации карбоната натрия (200 % от исходной) наблюдается повышение концентрации экзополисахаридов почти до 2,5 ЭПС/г с.в., что выше исходного уровня этой соли (16,8 г/л).

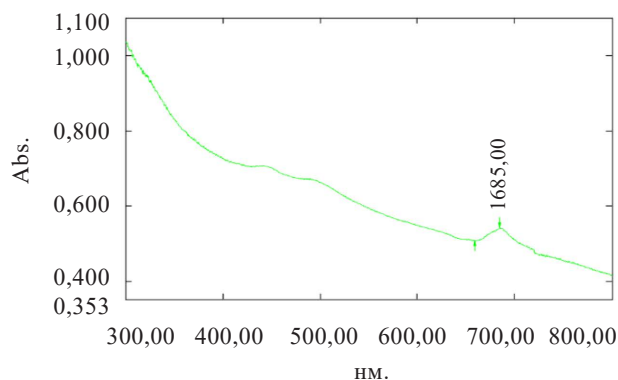


Рисунок 6. Оптический спектр поглощения света суспензией *Cyanobacterium* sp. B-1200

Figure 6. Optical spectrum of light absorption by *Cyanobacterium* sp. B-1200

В случае с хлоридом натрия оптимальной концентрацией этого компонента является исходное значение – 1 г/л. При данной концентрации выход полисахаридов составил примерно 2,1 г ЭПС/г с.в. (рис. 4).

Провели варьирование активной кислотности (значение pH) от 3,0 до 12,0 ед. в процессе культивирования с целью определения продуктивности накопления биомассы и полисахаридов микроводорослей и цианобактерий. Диапазон исследуемых значений активной кислотности выбран согласно аналогичным исследованиям [24]. Применяли водные растворы 1 М гидроксида натрия и 1 М соляной кислоты для регулировки значений pH (рис. 5).

Значения pH > 7 действуют угнетающе на продукцию полисахаридов (рис. 5а). Максимальный выход полисахаридов отмечен при значении pH 6 и составляет 1,05 г/л. При значении pH 3 выход полисахаридов составил 0,79 г/л. При значениях pH 8–11 визуально наблюдали увеличение концентрации клеток (рис. 5б).

Подбор освещения осуществляли в соответствии с полученным спектром поглощения света суспензией цианобактерий (рис. 6). Пигментный состав данного штамма представлен хлорофиллом а, пик которого соответствует значению длины волны 680 нм, а отклики в диапазоне 400–550 нм могут соответствовать каротиноидам [25].

В ходе эксперимента выявлено, что свет влияет на синтез экзополисахаридов. Результаты эмпирических данных (рис. 7) подтверждают, что при интенсивном белом освещении (5000 Лк) наблюдается максимальный выход экзополисахаридов в культуральную жидкость у штамма цианобактерий *Cyanobacterium* sp. B-1200 – 0,92 г ЭПС/г сухой клеточной массы. Также наблюдается линейное снижение выхода полисахаридов при снижении интенсивности белого освещения: при освещении интенсивностью 500 Лк выход полисахаридов составил

0,41 г ЭПС/г сухой клеточной массы. При красно-белом освещении наблюдается обратная зависимость: при максимальном освещении (5000 Лк) наблюдается самый низкий выход экзополисахаридов – 0,22 г ЭПС/г сухой клеточной массы. Однако при снижении интенсивности красно-белого освещения наблюдается увеличение выхода экзополисахаридов, которое составило 0,65 г ЭПС/г сухой клеточной массы (рис. 7).

Отметили изменение морфологии клеток в разных условиях: при освещении красно-белой лампы культура клеток теряет характерное изумрудное окрашивание (рис. 8a) в сравнении с белым освещением (рис. 8b).

Штамм *Cyanobacterium* sp. B-1200 продуцировал максимальное количество биомассы при температуре 25 °С. Концентрация клеток в культуральной жидкости при культивировании этих штаммов составила 0,59 г/л. Однако максимальное количество полисахаридов (2 г/л) получено при температуре окружающей среды 35 °С (рис. 9).

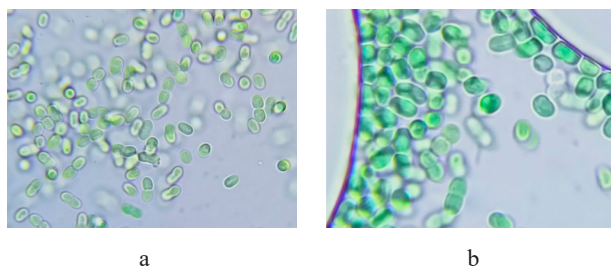
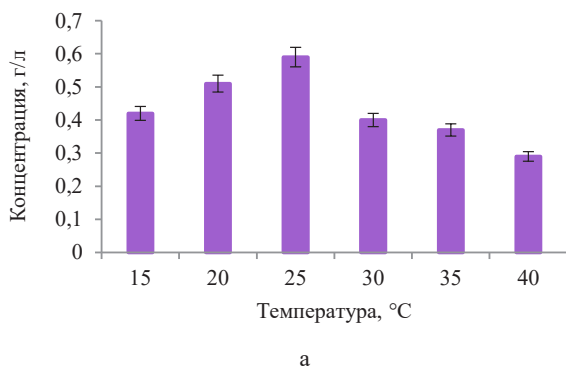


Рисунок 8. Морфология клеток в условиях различного освещения для штамма *Cyanobacterium* sp. B-1200: а – красно-белое освещение; б – белое освещение; 100× иммерсия

Figure 8. Cell morphology under different lighting conditions for *Cyanobacterium* sp. B-1200: а – red and white lighting; б – white lighting; ×100 immersion



При экстракции экзополисахаридов из культуральной жидкости микроводоросли *Cyanobacterium* sp. B-1200 96 % этиловым спиртом при модуле экстракции 1:3 и температуре 5 °С наблюдался наибольший для данного экстрагента выход экзополисахаридов – 1323,08 мг/г. Наименьший выход экзополисахаридов при модуле 1:1 и температуре 25 °С составил 107,69 мг/г. При использовании в качестве экстрагента 99 % изопропилового спирта, модуля экстракции 1:3 и температуры 5 °С выделение экзополисахаридов из микроводоросли *Cyanobacterium* sp. B-1200 было максимальным – 4030,77 мг/г, минимальный выход экзополисахаридов (423,08 мг/г) наблюдали при модуле экстракции 1:1 и температуре 25 °С. Экстракция экзополисахаридов проводилась изопропиловым спиртом. Наиболее однородные результаты по выходу экзополисахаридов показала экстракция 99 % изопропиловым спиртом при модуле экстракции 1:2 и различных температурах: для –25 °С – 2423,08 мг/г, для –15 °С – 2415,38 мг/г, для 5 °С – 2661,54 мг/г, для 15 °С – 2476,92 мг/г, для 25 °С – 2446,15 мг/г. При использовании в качестве экстрагента 99 % бутилового спирта при модуле экстракции 1:1 и температуре 5 °С наблюдался наибольший для данного модуля экстракции выход экзополисахаридов из микроводоросли *Cyanobacterium* sp. B-1200 – 246,15 мг/г, при модуле экстракции 1:2 и температуре 25 °С наибольший выход экзополисахаридов составил 492,31 мг/г. Экстракция 99 % бутиловым спиртом при модуле экстракции 1:3 и температуре 15 °С привела к выделению из культуральной жидкости микроводоросли *Cyanobacterium* sp. B-1200 592,31 мг/г экзополисахаридов (рис. 10).

Рассматривали метод ультразвуковой обработки культуральной жидкости с последующим спиртовым осаждением экзополисахаридов по выбранным оптимальным условиям. Ультразвуковая экстракция – это эффективный метод экстракции различных типов полисахаридов. Акустическая кавитация

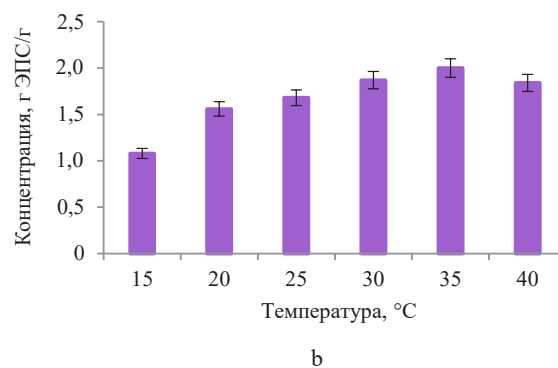


Рисунок 9. Выход полисахаридов *Cyanobacterium* sp. B-1200 при варьировании температуры: а – биомасса; б – экзополисахариды

Figure 9. Effect of temperature on polysaccharide yield from *Cyanobacterium* sp. B-1200: а – biomass; б – exopolysaccharides

в методе ультразвуковой экстракции может разрушать клеточные стенки, уменьшать размеры частиц и улучшать контакт между растворителями и целевыми соединениями [26]. Поскольку ультразвуковая экстракция характеризуется более низким энергопотреблением, меньшим потреблением растворителей, более высокой эффективностью экстракции и более высоким уровнем автоматизации, то этот способ экстракции полисахаридов предпочтительнее, чем экстракция химическими растворителями [27]. Рабочие параметры, включая мощность и частоту ультразвука, продолжительность экстракции и температуру, влияют на выходы экстракции полисахаридов [28].

Наибольший выход полисахаридов наблюдается в результате ультразвуковой обработки мощностью 20 Вт в течение 5 мин и составляет 107,56 мг/г сухой

массы. Однако мощность ультразвуковой обработки 20 Вт также дает высокий выход полисахаридов, независимо от времени обработки (рис. 11).

С целью обезвоживания полисахаридов, выделенных из образцов микроводорослей и цианобактерий, методом лиофилизации (сублимации) для каждого образца индивидуально подбирали температурный режим (в диапазоне -15 до -35 °C) и продолжительность процесса сублимации (общую длительность цикла сушки варьировали в пределах 8–24 ч). Общую длительность процесса и продолжительность этапа сублимации фиксировали по изменению температуры в слое концентрата полисахаридов. Наибольший выход экзополисахаридов наблюдался при продолжительности сублимационной сушки 8 ч и температуре сушки -15 °C. Максимальный выход эндополисахаридов зафиксировали

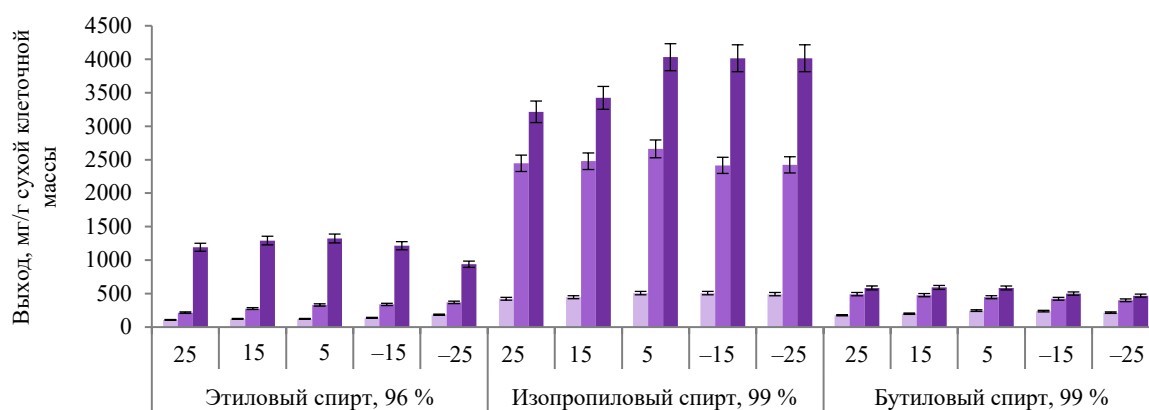


Рисунок 10. Подбор параметров экстракции экзополисахаридов из культуральной жидкости *Cyanobacterium* sp. B-1200: 1 – модуль экстракции (образец:спирт) 1:1; 2 – модуль экстракции 1:2; 3 – модуль экстракции 1:3

Figure 10. Parameters for exopolysaccharides extraction from *Cyanobacterium* sp. B-1200: 1 – extraction module (sample:alcohol) 1:1; 2 – extraction module 1:2; 3 – extraction module 1:3

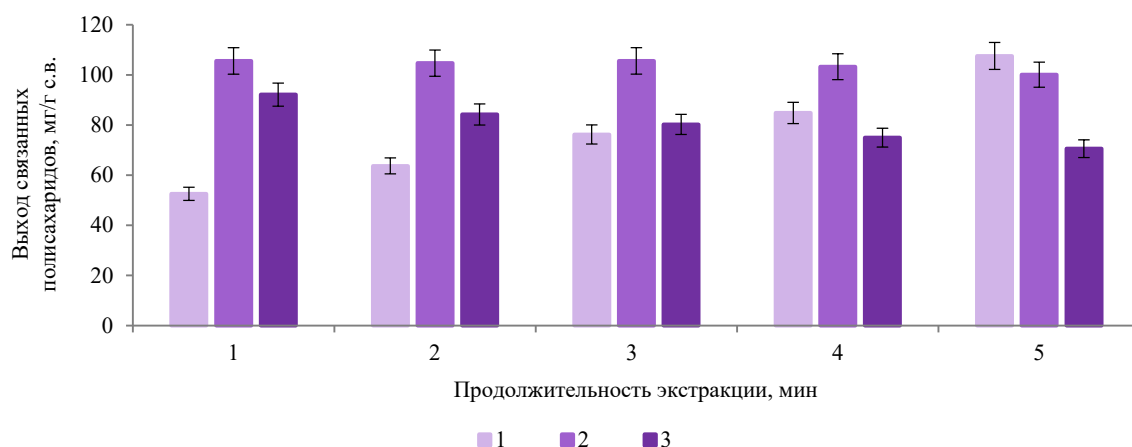


Рисунок 11. Выход связанных полисахаридов *Cyanobacterium* sp. B-1200 в зависимости от мощности обработки ультразвуком: 1 – 20 Вт; 2 – 40 Вт; 3 – 60 Вт

Figure 11. Yield of bound polysaccharides from *Cyanobacterium* sp. B-1200 depending on ultrasonic power: 1 – 20 W; 2 – 40 W; 3 – 60 W

Таблица 1. Выход полисахаридов, выделенных из *Cyanobacterium* sp. B-1200, в зависимости от продолжительности и температуры сушки

Table 1. Effect of drying time and temperature on polysaccharide yield from *Cyanobacterium* sp. B-1200

Продолжительность сушки, ч	Экзополисахариды			Эндополисахариды		
	Температура сушки, °C					
	–15	–25	–35	–15	–25	–35
8	9,2 ± 0,3 ^{a/a}	6,4 ± 0,1 ^{a/a}	7,2 ± 0,2 ^{a/a}	6,8 ± 0,2 ^{a/a}	6,1 ± 0,2 ^{a/a}	5,7 ± 0,1 ^{a/a}
12	8,7 ± 0,2 ^{a/a}	5,9 ± 0,1 ^{ab/a}	7,1 ± 0,2 ^{a/a}	6,3 ± 0,1 ^{a/a}	5,6 ± 0,1 ^{a/a}	5,8 ± 0,2 ^{a/a}
16	8,7 ± 0,2 ^{a/a}	5,1 ± 0,1 ^{b/a}	7,1 ± 0,2 ^{a/a}	5,4 ± 0,1 ^{a/a}	4,9 ± 0,1 ^{a/a}	4,4 ± 0,2 ^{a/a}
24	8,7 ± 0,2 ^{a/a}	5,1 ± 0,1 ^{ab/a}	7,1 ± 0,2 ^{a/a}	5,6 ± 0,2 ^{a/a}	5,1 ± 0,2 ^{a/a}	4,8 ± 0,1 ^{a/a}

Значения в столбцах/строках, за которыми следует одна и та же буква, достоверно не отличаются ($p > 0,05$). Оценено с помощью post-hoc теста (критерий Дункана).

Values in columns/rows marked by the same letter are not significantly different ($p > 0.05$): a post-hoc Duncan test.

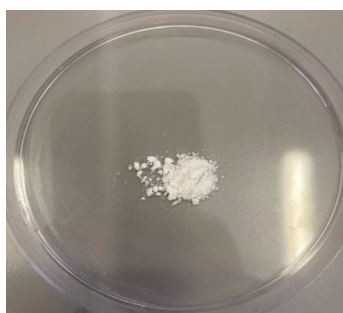


Рисунок 12. Образец полисахаридов из *Cyanobacterium* sp. B-1200, высушенный методом сублимации

Figure 12. Freeze-dried polysaccharides from *Cyanobacterium* sp. B-1200

в аналогичных условиях сушки (табл. 1). Внешний вид полисахаридов представлен на рисунке 12.

Содержание уоновых кислот в микроводорослях и цианобактериях изучали в связи с тем, что в состав полисахаридов микроводорослей входят не растворимые в воде кислые полисахариды (полиурониды), состоящие из уоновых кислот. Именно они проявляют биологически активные свойства. Нейтральные сахара – важнейший класс соединений, входящих в водорастворимые полисахариды микроводорослей и цианобактерий, который, наравне с кислыми сахарами (уроновыми кислотами), отвечает за биологически активные свойства полисахаридов и определяет эффективность их использования в различных областях науки и техники.

Концентрация нейтральных сахаров в культуральной жидкости составила 0,751 мг/г, содержание уроновых кислот – 0,163 мг/г.

Выводы

Были подобраны рациональные условия культивирования и экстракции штамма цианобактерии *Cyanobacterium* sp. B-1200 для максимизации выхода

полисахаридов как ценных биологически активных соединений. Наибольший выход полисахаридов зафиксировали при удалении из среды гидрокарбоната натрия. При увеличении концентрации этого компонента на 300 %, по сравнению с исходной концентрацией, наблюдалась интенсификация синтеза экзополисахаридов. Значения $pH > 7$ действовали угнетающе на продукцию полисахаридов; оптимальное значение $pH = 6$. Температура также влияла на выход биомассы и полисахаридов: максимальное количество биомассы наблюдалось при температуре 25 °C; максимальное количество полисахаридов – при температуре окружающей среды 35 °C, что может являться адаптацией клеток к высокой температуре. В ходе эксперимента выявлено, что свет также влиял на синтез экзополисахаридов: при интенсивном освещении белым светом (5000 Лк) наблюдался максимальный выход экзополисахаридов в культуральную жидкость. Показано изменение морфологии клеток при красно-белом освещении. Установлено, что влияние оказывают концентрация и температура экстрагента при спиртовой экстракции. Среди выбранных спиртов наибольший выход экзополисахаридов наблюдался при использовании изопропанола, наименьший – при использовании бутанола. При экстракции изопропанолом наибольший выход экзополисахаридов происходил при температуре осадка –15 и –25 °C. Для ультразвуковой обработки рекомендовано использовать мощность 20 Вт и время обработки 5 мин, для сублимационной сушки – продолжительность 8 ч и температура –15 °C.

Критерии авторства

Фактический вклад каждого автора: С. А. Сухих – 20 %, Е. А. Буденкова – 25 %, Ю.-Д. С. Бойченко – 15 %, В. Д. Анохова – 15 %, В. Ф. Долганюк – 10 %, Е. В. Каширских – 15 %.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

S.A. Sukhikh – 20%, E.A. Budenkova – 25%,
Yu.-D.S. Boychenko – 15%, V.D. Anokhova – 15%,
V.F. Dolganyuk – 10%, E.V. Kashirskikh – 15%.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. El-Ghonemy DH. Antioxidant and antimicrobial activities of exopolysaccharides produced by a novel *Aspergillus* sp. DHE6 under optimized submerged fermentation conditions. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2021;36. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102150>
2. Ramos J, Villacrés NA, Cavaleiro ÉTG, Alarcón HA, Valderrama AC. Preparation of sodium alginate films incorporated with hydroalcoholic extract of *Macrocystis pyrifera* L. Foods and Raw Materials. 2023;11(1):64–71. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-553>
3. Moreira JB, Kuntzler SG, Bezerra PQM, Aguiar Cassuriaga AP, Zaparoli M, da Silva JLV, et al. Recent advances of microalgae exopolysaccharides for application as bioflocculants. Polysaccharides. 2022;3(1):264–276. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010015>
4. Potnis AA, Raghavan PS, Rajaram H. Overview on cyanobacterial exopolysaccharides and biofilms: Role in bio-remediation. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. 2021;20:781–794. <https://doi.org/10.1007/s11157-021-09586-w>
5. Zuniga EG, Boateng KKA, Bui NU, Kurnfuli S, Muthana SM, Risser DD. Identification of a hormogonium polysaccharide-specific gene set conserved in filamentous cyanobacteria. Molecular Microbiology. 2020;114(4):597–608. <https://doi.org/10.1111/mmi.14566>
6. de Philippis R, Vincenzini M. Exocellular polysaccharides from Cyanobacteria and their possible applications. FEMS Microbiology Reviews. 1998;22(3):151–175. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1998.tb00365.x>
7. Bhatnagar M, Bhatnagar A. Diversity of polysaccharides in cyanobacteria. In: Satyanarayana T, Johri BN, Das SK, editors. Microbial diversity in ecosystem sustainability and biotechnological applications. Volume 1. Microbial diversity in normal & extreme environments. Singapore: Springer; 2019. pp. 447–496. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8315-1_15
8. Morone J, Alfeus A, Vasconcelos V, Martins R. Revealing the potential of cyanobacteria in cosmetics and cosmeceuticals – A new bioactive approach. Algal Research. 2019;41. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101541>
9. Tseng C-C, Yeh H-Y, Liao Z-H, Hung S-W, Chen B, Lee P-T, et al. An *in vitro* study shows the potential of *Nostoc commune* (Cyanobacteria) polysaccharides extract for wound-healing and anti-allergic use in the cosmetics industry. Journal of Functional Foods. 2021;87. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104754>
10. Okeyoshi K, Okajima MK, Kaneko T. The cyanobacterial polysaccharide sacran: Characteristics, structures, and preparation of LC gels. Polymer Journal. 2021;53:81–91. <https://doi.org/10.1038/s41428-020-00426-2>
11. Borah D, Gopalakrishnan S, Nooruddin T. Carbohydrate biolubricants from algae and cyanobacteria. Journal of Polymers and the Environment. 2021;29:3444–3458. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02144-z>
12. Kumar D, Křídlová J, Kaštánek P, Lukavský J. The green alga *Dictyosphaerium chlorelloides* biomass and polysaccharides production determined using cultivation in crossed gradients of temperature and light. Engineering in Life Sciences. 2017;17:1030–1038. <https://doi.org/10.1002/elsc.201700014>
13. Moreno J, Angeles Vargas M, Olivares H, Rivas J, Guerrero MG. Exopolysaccharide production by the cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047 in batch and continuous culture. Journal of Biotechnology. 1998;60(3):175–182. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(98\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(98)00003-0)
14. Singh SP, Singh P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2015;50:431–444. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.024>
15. Zhao T, Han X, Cao H. Effect of temperature on biological macromolecules of three microalgae and application of FT-IR for evaluating microalgal lipid characterization. ACS omega. 2020;5(51):33262–33268. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04961>
16. Moreira JB, da Silva Vaz B, Cardias BB, Cruz CG, de Almeida ACA, Costa JAV, et al. Microalgae polysaccharides: An alternative source for food production and sustainable agriculture. Polysaccharides. 2022;3(2):441–457. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3020027>
17. Chen Z, Li T, Yang B, Jin X, Wu H, Wu J, et al. Isolation of a novel strain of *Cyanobacterium* sp. with good adaptation to extreme alkalinity and high polysaccharide yield. Journal of Oceanology and Limnology. 2021;39:1131–1142. <https://doi.org/10.1007/s00343-020-0113-7>
18. Komárek J, Kaštovský J, Mareš J, Johansen JR. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. Preslia. 2014;86:295–335.

19. Sarsekeyeva FK, Ussebaeva AA, Zayadan BK, Mironov KS, Sidorov RA, Kozlova AY, *et al.* Isolation and characterization of a new cyanobacterial strain with a unique fatty acid composition. *Advances in Microbiology*. 2014;4(15):1033–1043. <https://doi.org/10.4236/aim.2014.415114>
20. Zarrouk, C. Contribution a l'étude d'une cyanobacterie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima* (Setchell et Gardner) Geitler. France: University of Paris; 1966. (In French).
21. Griffiths MJ, Garcin C, van Hille RP, Harrison STL. Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *Journal of Microbiological Methods*. 2011;85(2):119–123. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.02.005>
22. Babich O, Budenkova E, Kashirskikh E, Dolganyuk V, Ivanova S, Prosekov A, *et al.* Study of the polysaccharide production by the microalga *Vischeria punctata* in relation to cultivation conditions. *Life*. 2022;12(10). <https://doi.org/10.3390/life12101614>
23. Gerde JA, Montalbo-Lomboy M, Yao L, Grewell D, Wang T. Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. *Bioresource Technology*. 2012;125:175–181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.110>
24. Yang D, Yang H. The temperature dependent extraction of polysaccharides from *eucheuma* and the rheological synergistic effect in their mixtures with kappa carrageenan. *LWT*. 2020;129. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109515>
25. Chernyshev DN, Klochkova VS, Lelekov AS. Separation of the absorption spectrum of *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross. in the red area. *Issues of Modern Algology*. 2022;28(1):25–34. (In Russ.). [https://doi.org/10.33624/2311-0147-2022-1\(28\)-25-34](https://doi.org/10.33624/2311-0147-2022-1(28)-25-34)
26. Zhang D-Y, Wan Y, Xu J-Y, Wu G-H, Li L, Yao X-H. Ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry leaves and their effect on enhancing antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*. 2016;137:473–479. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.016>
27. Ying Z, Han X, Li J. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*. 2011;127(3):1273–1279. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.083>
28. Cui F-J, Qian L-S, Sun W-J, Zhang J-S, Yang Y, Li N, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Volvariella volvacea*: Process optimization and structural characterization. *Molecules*. 2018;23(7). <https://doi.org/10.3390/molecules23071706>
29. Mishra A, Jha B. Isolation and characterization of extracellular polymeric substances from micro-algae *Dunaliella salina* under salt stress. *Bioresource Technology*. 2009;100(13):3382–3386. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.006>
30. Markou G, Chatzipavlidis I, Georgakakis D. Carbohydrates production and bio-flocculation characteristics in cultures of *Arthrospira (Spirulina) platensis*: Improvements through phosphorus limitation process. *BioEnergy Research*. 2012;5:915–925. <https://doi.org/10.1007/s12155-012-9205-3>
31. Costa JAV, Lucas BF, Alvarenga AGP, Moreira JB, de Moraes MG. Microalgae polysaccharides: an overview of production, characterization, and potential applications. *Polysaccharides*. 2021;2(4):759–772. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2040046>
32. Wu Y, Cui SW, Tang J, Gu X. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited *sterculia* seeds by response surface methodology. *Food Chemistry*. 2007;105(4):1599–1605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.066>
33. Chaouch MA, Hafsa J, Rihouey C, Le Cerf D, Majdoub H. Effect of pH during extraction on the antioxidant and antiglycated activities of polysaccharides from *Opuntia Ficus indica*. *Journal of Food Biochemistry*. 2016;40(3):316–325. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12220>
34. Lu J, You L, Lin Z, Zhao M, Cui C. The antioxidant capacity of polysaccharide from *Laminaria japonica* by citric acid extraction. *International Journal of Food Science and Technology*. 2013;48(7):1352–1358. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12072>
35. Ye J, Hua X, Wang M, Zhang W, Yang R. Effect of extraction pH on the yield and physicochemical properties of polysaccharides extracts from peanut sediment of aqueous extraction process. *LWT*. 2019;106:137–144. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.049>
36. Taghavijeloudar M, Kebria DY, Yaqoubnejad P. Simultaneous harvesting and extracellular polymeric substances extrusion of microalgae using surfactant: Promoting surfactant-assisted flocculation through pH adjustment. *Bioresource Technology*. 2021;319. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124224>
37. Xing P, Hahnke RL, Unfried F, Markert S, Huang S, Barbeyron T, *et al.* Niches of two polysaccharide-degrading *Polaribacter* isolates from the North Sea during a spring diatom bloom. *ISME Journal*. 2015;9:1410–1422. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.225>

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 и требованиям к оформлению, проверяется оригинальность представленного текста с помощью интернет-ресурсов – www.antiplagiat.ru и www.ithenticate.com, 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 – редколлегией 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 35–40 тыс. знаков (не включая списки литературы на русском и английском языках). Объем обзорной рукописи – более 40 тыс. знаков.

Оформление текста (форматирование): поля по 20 мм, одинарный интервал без переносов, лишних пробелов и абзацных интервалов, шрифт Times New Roman, 10 кегль. Следует избегать перегрузки статей большим количеством формул, дублирования одних и тех же результатов в таблицах и графиках.

Графики, диаграммы и т. п. (желательно цветные), созданные средствами Microsoft Office и Corel Draw, должны допускать возможность редактирования и направляются в редакцию отдельными файлами в форматах tiff, jpeg, cdr, excel.

Каждая таблица, график, диаграмма и т. п. должны иметь заголовки и порядковые номера, в тексте статьи должны присутствовать ссылки на каждую из них.

Структура статьи:

1. 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 <https://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 <https://fptt.ru>.

FOR AUTHORS

Food Processing: Techniques and Technology reports pioneering research in the food industry and all branches of agricultural science. We publish scientific papers, reviews, and brief scientific reports in such spheres of food science as food systems, biotechnology, food production technology, sanitation and hygiene, ecology, biosafety, zootechnics, agro-industrial machinery, etc.

Before submitting your manuscript, please make sure you have not submitted it elsewhere. Your research topic should correspond to the profile of the Journal and be relevant for the scientific community.

First, we check if your manuscript complies with the Journal's profile and formatting. Then, we check it for unattributed borrowings from open sources (plagiarism) at www.antiplagiat.ru and www.ithenticate.com.

After that, your manuscript undergoes a double-blind peer review by specialists appointed by the Chief Editor or the Deputy Editor. The peer review can be conducted by the members of the Editorial Board or by acknowledged academic experts in the area of research who have recent publications on the related topic.

The Reviewers are notified about the manuscripts being the authors' private owner rights that cannot be subject to public disclosure. The Reviewers are not allowed to copy them. Reviewing is strictly confidential. Violation of confidentiality is impossible unless the Reviewer reports unreliability or counterfeiting.

Usually, reviewing does not exceed three months from the day the Reviewer receives the manuscript.

All reviews are disposed of five years after the publication.

Based on the results, the Reviewer produces a reasoned opinion:

- the manuscript can be recommended for publication;
- the manuscript can be recommended for publication after some improvement;
- the manuscript cannot be recommended for publication (reasons for rejection).

If the article underwent a considerable follow-on revision, it is again sent to the same Reviewer who gave the critical remarks.

We reserve the right to reject the manuscript if the Author is unable or unwilling to follow the recommendations.

In case of two negative initial reviews or one negative review on the revised variant, the manuscript is rejected without considering by other members of the Editorial Board.

The Author of the rejected article receives the reviews and a motivated refusal. The Reviewer's name may be reported to the Author provided that the former gives consent to it.

After reviewing, the Chief Editor and the Editorial Board make the final decision.

We are obliged to provide review copies to the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation upon request, but we do not retain rejected articles. Accepted manuscripts are not returned. The manuscripts with negative reviews are not published and not returned to the Author, either.

Manuscripts are usually published in the order we receive them. In exceptional cases, the Editorial Board maintains the right to change the order of publication.

All papers published in the *Food Processing: Techniques and Technology* fall under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

FORMATTING

The article body should be 35.000–40.000 characters with spaces (abstract, figures, and tables included). Reviews have an unlimited wordage.

Format instructions:

- 20 mm margins;
- single line spacing without automatic hyphenation;
- no extra interspaces between words or gaps between paragraphs;
- Times New Roman, size 10;
- editable and colored Microsoft Office or Corel Draw figures and diagrams attached separately as tiff, jpeg, cdr, or excel files.

Please, do not overload your text with unnecessary formulae; do not illustrate the same results with both a table and a graph. Give each table or figure a header and a number, which you will use in the text to introduce them.

Structure:

1. Type of manuscript (research paper/review/report)
2. Title
3. Initials and last names of the authors
4. Affiliations
5. Email of the author responsible for correspondence
6. Abstract (Introduction; Study Objects and Methods; Results and Discussion; Conclusions)
7. Keywords
8. Funding

9. Article body (Introduction; Study objects and methods; Results and discussion; Conclusions)

10. Contribution
11. Conflict of Interests
12. Acknowledgements
13. References
14. About the authors

You can submit your manuscript and all accompanying documents on our site <https://fptt.ru> or email them to fptt98@gmail.com

Documents:

We expect to receive the following documents as separate files:

1. an MSWord e-version of your article named by the first author's last name (e.g., Smith.doc);
2. a scanned PDF version of your article, the first page signed by all the authors (Smith.pdf);
3. a scanned PDF version of a cover letter to the Chief Editor from your organization with the conclusion about the relevance of the research and recommendations for its publishing. It should contain the date, reference number, and the signature of the head of the organization;
4. a standard copyright agreement.

For more information, please, visit us at <https://fptt.ru>

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Серба Е. М., Юраскина Т. В., Римарева Л. В., Таджибова П. Ю., Соколова Е. Н., Волкова Г. С.</i> Микробная биомасса – биоресурс для получения функциональных пищевых ингредиентов (обзор)	426	<i>Ожилех П. К., Окечукву К. Н.</i> Пищевая ценность традиционного напитка «зобо» с финиковым соком	546
<i>Лисовая Е. В., Викторова Е. П., Свердличенко А. В., Жане М. Р.</i> Влияние ультразвукового воздействия на эффективность процесса обезжиривания жидких лецитинов	445	<i>Грязнова М. В., Буракова И. Ю., Смирнова Ю. Д., Нестерова Е. Ю., Родионова Н. С., Попов Е. С., Сыромятников М. Ю., Попов В. Н.</i> Динамика изменения бактериального состава молочной основы в процессе ферментации	554
<i>Королев И. А.</i> Автоматизированное определение дисперсности воздушной фазы в мороженом с применением методов машинного обучения	455	<i>Асякина Л. К., Серазетдинова Ю. Р., Фролова А. С., Фотина Н. В., Неверова О. А., Петров А. Н.</i> Антагонистическая активность экстремофильных микроорганизмов в отношении фитопатогенов сельскохозяйственных культур	566
<i>Адавиа Р., Декаянти Т., Асламиа А., Уахью М., Пуспитарси Ф.</i> Качество рыбных котлет «пемпек» из змеоголова красного (<i>Channa micropeltes</i>) с тыквенным пюре	466	<i>Ладнова О. Л., Корячкина С. Я., Корячкин В. П., Большакова Л. С.</i> Разработка технологии функциональных хлебобулочных изделий	576
<i>Бычкова С. М., Жидкова Е. А., Швеиц О. В.</i> Роль дью дилидженс в формировании «портрета» контрагента в условиях цифровизации	475	<i>Турганбаева Н. К., Мусульманова М. М., Кыдыралиев Н. А.</i> Сезонные изменения биологической ценности белков молока ослиц киргизской породы	591
<i>Хишов А. С., Балагула Т. В., Лаврухина О. И., Третьяков А. В., Иванова О. Е., Козенчева Е. С.</i> Микробиологическая контаминация продовольственного сырья и готовой пищевой продукции (аналитический обзор)	486	<i>Бредихин С. А., Мартеха А. Н., Торопцев В. В., Каверина Ю. А., Короткий И. А.</i> Влияние сонохимического воздействия на свойства пшеничного крахмала	600
<i>Тарасов А. В., Заворохина Н. В., Чугунова О. В.</i> Исследование потенциально мешающих веществ при потенциометрическом определении антиоксидантной активности в пищевых системах	504	<i>Оганесянц Л. А., Панасюк А. Л., Кузьмина Е. Н., Свиридов Д. А., Ганин М. Ю., Шилкин А. А.</i> Изотопная масс-спектрометрия как инструмент идентификации томатов (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)... ..	612
<i>Стаценко Е. С., Штарберг М. А., Бородин Е. А.</i> Галеты повышенной пищевой ценности с соевым белковым продуктом	513	<i>Гуринович В. Г., Патракова И. С., Хренов В. А., Патишина М. В., Шевченко А. И.</i> Влияние сухого созревания на белки мышечной ткани говядины	621
<i>Жаркова И. М., Росляков Ю. Ф., Иванчиков Д. С.</i> Закваски спонтанного (естественного) брожения: особенности технологии и роль в современном хлебопекарном производстве ...	525	<i>Сухих С. А., Буденкова Е. А., Бойченко Ю.-Д. С., Анохова В. Д., Долганюк В. Ф., Каширских Е. В.</i> Оптимизация получения полисахаридов из <i>Cyanobacterium</i> sp. IPPAS B-1200	630

CONTENTS

<i>Serba Elena M., Yuraskina Tatyana V., Rimareva Liubov V., Tadzibova Polina Yu., Sokolova Elena N., Volkova Galina S.</i> Microbial Biomass as a Bioresource of Functional Food Ingredients: A Review	427	<i>Gryaznova Mariya V., Burakova Inna Yu., Smirnova Yuliya D., Nesterova Ekaterina Yu., Rodionova Natalia S., Popov Evgeniy S., Syromyatnikov Mikhail Yu., Popov Vasily N.</i> Bacterial Composition of Dairy Base during Fermentation	555
<i>Lisovaya Ekaterina V., Viktorova Elena P., Sverdlichenko Anastasia V., Zhane Mariet R.</i> Effect of Ultrasonic Exposure on the Efficiency of De-Oiling Fluid Lecithins	446	<i>Asyakina Lyudmila K., Serazetdinova Yuliya R., Frolova Anna S., Fotina Natalya V., Neverova Olga A., Petrov Andrey N.</i> Antagotic Activity of Extremophilic Bacteria Against Phytopathogens in Agricultural Crops	565
<i>Korolev Igor A.</i> Automated Measurement of Air Bubbles Dispersion in Ice Cream Using Machine Learning Methods	456	<i>Ladnova Olga L., Koryachkina Svetlana Ya., Koryachkin Vladimir P., Bolshakova Larisa S.</i> New Technology of Functional Bakery Products	577
<i>Adawyah Rabiatul, Dekayanti Tri, Aslamiah Ainun, Wahyu AS Muhammad, Puspitasari Findya</i> Pempek Fishcake from <i>Channa micropeltes</i> with Pumpkin Puree: Quality Assessment	465	<i>Turganbaeva Nadira K., Musulmanova Mukarama M., Kydyraliev Nurudin A.</i> Seasonal Variations in the Biological Value of Kyrgyz Donkey's Milk Proteins	592
<i>Bychkova Svetlana M., Zhidkova Elena A., Shvets Oksana V.</i> Due Diligence in Digital Profiling of a Counterparty	476	<i>Bredikhin Sergey A., Martekha Alexander N., Toroptsev Vasily V., Kaverina Yuliya E., Korotkiy Igor A.</i> Sonochemical Effects on Wheat Starch	601
<i>Khishov Andrei S., Balagula Tatiana V., Lavrukina Olga I., Tretyakov Aleksey V., Ivanova Olga E., Kozelcheva Elizaveta S.</i> Microbiological Contamination of Food Raw Materials and Ready-To-Eat Foods: Analytical Review	487	<i>Oganesyants Lev A., Panasyuk Alexander L., Kuzmina Elena I., Sviridov Dmitry A., Ganin Mikhail Yu., Schilkin Alexei A.</i> Isotope Mass Spectrometry as a Tool for Identifying Organic Tomatoes (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	613
<i>Tarasov Aleksey V., Zavorokhina Natalia V., Chugunova Olga V.</i> Potential Interfering Substances and Potentiometric Antioxidant Activity Tests in Food Systems	505	<i>Gurinovich Galina V., Patrakova Irina S., Khrenov Vladislav A., Patshina Marina V., Shevchenko Antonina I.</i> Effect of Dry Aging on Beef Muscle Proteins	622
<i>Statsenko Ekaterina S., Shtarberg Mikhail A., Borodin Eugene A.</i> Functional Biscuits with Soy Protein	514	<i>Sukhikh Stanislav A., Budenkova Ekaterina A., Boychenko Yulia-Danae S., Anokhova Veronika D., Dolganyuk Vyacheslav F., Kashirskih Egor V.</i> Optimizing the Production of Polysaccharides from <i>Cyanobacterium</i> sp. IPPAS B-1200	631
<i>Zharkova Irina M., Roslyakov Yuriy F., Ivanchikov Danil S.</i> Sourdoughs of Spontaneous (Natural) Fermentation in Modern Bakery Production	526		
<i>Ojileh Prince C., Okechukwu Queency N.</i> Value-Added Zobo Drink with Date Juice	545		