

Техника и технология пищевых производств

Food Processing: Techniques and Technology



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;

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

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

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

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

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

А.Г. Храпцов, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, 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. Кирыкова

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 27.03.23

Усл. п. л. 25,34. 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. Ganieeva, 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, Timiryazev Russian State Agrarian University, Moscow Agricultural Academy, Moscow, Russia;

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Olga A. Frolova, Nizhni Novgorod 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;

Andrey G. Khramtsov, North-Caucasian Federal University, Stavropol, 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 March 27, 2023
Printed sheet 25,34 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 редактора
<https://fptt.ru>

Пищевая и перерабатывающая промышленность России является стратегически важной отраслью экономики, обеспечивающей национальную продовольственную и экономическую безопасность. Производство напитков является важным сегментом пищевой промышленности во всем мире. Российский сегмент напитков состоит на 57 % (при расчете в литрах) из безалкогольной продукции и на 43 % из алкогольной.

В России производители безалкогольных напитков предлагают широкий ассортимент продукции (чай, кофе, минеральная вода, сладкие газированные напитки, соки и сокодержавные напитки, энергетики). Объем выпускаемой продукции позволяет обеспечить российский рынок и осуществить экспортные поставки.

Сектор алкогольной промышленности занимает одно из лидирующих мест по инвестиционной привлекательности в нашей стране. В его структуре преобладают пиво и пивные напитки (81 % от суммарного выпуска алкоголя в стране), на втором месте – водка и ликероводочные изделия (10 %), на третьем месте – вина (5 %). В период 2017–2021 гг. более 91 % алкоголя, предложенного к продаже в России, производилось отечественными производителями.

В 2022 г. в результате антироссийских санкций сегмент напитков столкнулся с серьезными проблемами: осложнились закупки и поставки порошковых ингредиентов и концентратов зарубежных производителей, а также кардинально изменился рынок как алкогольной, так и безалкогольной продукции.

По данным Росалкогольрегулирования, несмотря на сложившуюся ситуацию, производство алкогольных напитков всех видов в России в 2022 г. выросло на 2,24 % в сравнении с 2021-м годом. По оценке правительства, в стране 55 % рынка вина приходится на отечественное вино, а также фиксируется рост производства винодельческой продукции более чем на 9 % по отношению к 2021 г. Производители отмечают соответствие качества отечественного выдержанного вина мировому уровню. География российского виноградарства и виноделия постоянно расширяется. Рынок безалкогольных напитков активно осваивают отечественные производители с многолетней историей.

Импортозамещение является одним из приоритетов отечественного производства всех видов напитков. Для этого необходимы не только ресурсы

агропромышленного комплекса и государственная поддержка, но и научный подход. В российских научных организациях и университетах продолжается активная работа по решению проблем производства напитков и внедрению в отрасль результатов научных исследований и разработок.

Известным российским ученым винодельческой, пивоваренной и безалкогольной отраслей является академик РАН, доктор технических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ Лев Арсенович Оганесянц. Его научные исследования посвящены проблемам качества и безопасности винодельческой и пивоваренной продукции, минеральных вод и безалкогольных напитков и созданию функциональных напитков для различных регионов и возрастных групп населения страны, а также новых технологий и технологических приемов.

Л. А. Оганесянц ведет большую общественную, научную и педагогическую работу. Научная школа, сформированная Львом Арсеновичем, широко известна в России и за рубежом. Научные результаты, полученные академиком РАН Л. А. Оганесянцем и его учениками, вносят неоценимый вклад в развитие отечественных напитков.

Под руководством Л. А. Оганесянца проводятся научные исследования в рамках международных проектов в сотрудничестве с учеными и специалистами из других стран. Он проводит серьезную работу по развитию научных и профессиональных связей с международной организацией виноградарства и виноделия и рядом стран, входящих в ее состав.

Научная новизна и практическая значимость многолетних исследований Л. А. Оганесянца представлены в многочисленных публикациях, авторских свидетельствах и патентах, которые внедрены на предприятиях России и за рубежом.

Вклад Льва Арсеновича в развитие винодельческой, пивоваренной и безалкогольной отраслей оценен множеством государственных и международных наград.

29 марта академик РАН Л. А. Оганесянц отмечает свой 75-летний юбилей. Редакция журнала «Техника и технология пищевых производств» присоединяется к поздравлениям и желает Льву Арсеновичу крепкого здоровья и благополучия, неиссякаемой энергии для реализации новых замыслов и проектов, поддержки близких, коллег и учеников!

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

А. Ю. Просеков 

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2410>
<https://elibrary.ru/AUQCPD>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние технологических факторов на воздушную фазу взбитых кисломолочных десертов



И. А. Гурский*^{ID}, А. А. Творогова^{ID}

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

Поступила в редакцию: 14.04.2022
Принята после рецензирования: 16.05.2022
Принята к публикации: 07.06.2022

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

© И. А. Гурский, А. А. Творогова, 2023



Аннотация.

Производство взбитых кисломолочных десертов, в том числе потребляемых в размороженном виде, способствует расширению ассортимента функциональных продуктов питания. Формоустойчивость взбитого десерта определяется дисперсностью воздушной фазы. Цель работы заключалась в изучении влияния состава и способа производства взбитого кисломолочного десерта, потребляемого в размороженном виде, на дисперсность и стабильность воздушной фазы в процессе его хранения и размораживания.

Объектами исследования являлись взбитые кисломолочные десерты с желатином и пектином (№ 1 и 2), с различным содержанием ферментированной основы (№ 1 и 3) и желатина (№ 3 и 5) и с концентратом сывороточных белков (№ 4). Для контроля динамической вязкости использовали методы ротационной вискозиметрии, для изучения дисперсности структурных элементов – микроструктурные методы.

Установлено, что смеси для десертов с содержанием 1,3 % пектина характеризуются более высокими значениями динамической вязкости (в 3,8 раза), чем с 1,3 % желатина. Дополнительное введение 3 % концентрата сывороточных белков способствовало повышению вязкости смеси в 4,4 раза и взбитости десерта в 1,4 раза, а также стабильности воздушной фазы при размораживании. В десерте с желатином, произведенным путем ферментации молочной основы (№ 3), через 24 ч хранения при температуре 4 ± 2 °C отметили воздушные пузырьки с меньшим средним диаметром (на 21 мкм) в сравнении с десертом с 30 % йогурта. Увеличение количества желатина до 2 % не привело к повышению динамической вязкости смеси, но в 1,3 раза повысило взбитость десерта и отрицательно сказалось на дисперсности воздушной фазы. Воздушная фаза взбитых кисломолочных десертов была менее стабильна при введении пектина.

В результате проведенного исследования установлено влияние гелеобразователей, концентратов сывороточных белков и ферментированной основы на дисперсность и стабильность воздушной фазы кисломолочных десертов. Установлено отрицательное влияние пектина на дисперсность воздушной фазы размороженных десертов. Увеличение содержания ферментированной основы и желатина, а также использование концентратов сывороточных белков повышает стабильность воздушной фазы в течение 24 ч хранения при температуре 4 ± 2 °C. Результаты исследования могут быть использованы при разработке технологий производства взбитых кисломолочных десертов и их хранения в размороженном состоянии.

Ключевые слова. Кисломолочные продукты, замороженные продукты, дисперсность, стабилизатор, гелеобразователь, концентрат сывороточных белков, размораживание, хранение

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

Для цитирования: Гурский И. А., Творогова А. А. Влияние технологических факторов на воздушную фазу взбитых кисломолочных десертов // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 1–12. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2410>

The Impact of Technological Factors on the Air Phase of Defrosted Fermented-Milk Desserts



Igor A. Gurskiy*^{ORCID}, Antonina A. Tvorogova^{ORCID}

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

Received: 14.04.2022

Revised: 16.05.2022

Accepted: 07.06.2022

*Igor A. Gurskiy: iixrug@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-8177-3472>

Antonina A. Tvorogova: <https://orcid.org/0000-0001-7293-9162>

© I.A. Gurskiy, A.A. Tvorogova, 2023



Abstract.

Whipped desserts made of fermented milk are very popular. They also make it possible to expand the range of functional products. The consumer properties of defrosted desserts depend on the air phase. This research featured the impact of different formulations and methods on the dispersion of the air phase in the process of defrosting fermented-milk desserts.

The study featured several samples of whipped fermented desserts. Sample 1 contained gelatin; Sample 2 contained pectin. Samples 1 and 3 had different contents of fermented foundation while Samples 3 and 5 differed in the amount of gelatin stabilizer. Sample 4 contained a whey protein concentrate. The dispersion of structural elements was measured using microstructural methods.

The experiments included the quality parameters of mixes, as well as the dispersion of air phase in the frozen state and after 24 h of storage at $4 \pm 2^\circ\text{C}$. The viscosity of the sample with pectin exceeded that with gelatin by 3.8 times. Extra whey protein increased the viscosity by 4.4 times and the overrun – by 1.4 times. In the whey protein sample, the average diameter of air bubbles was $36 \mu\text{m}$ after 24 h of storage at $4 \pm 2^\circ\text{C}$ and $50 \mu\text{m}$ after 12 months, while in the sample without protein it was 48 and $86 \mu\text{m}$, respectively. Sample 3, which had a greater fermentation, demonstrated a smaller average diameter of air bubbles (by $21 \mu\text{m}$) after 24 h of storage than the sample with yogurt. The sample with extra gelatin increased the overrun by 1.3 times and negatively affected the dispersion of the air phase. After 24 h of storage, the average diameter of the air bubbles in the sample with an increased content of stabilizer was higher by $27 \mu\text{m}$. The air phase was less stable in the sample with pectin.

The research established the effect of gelling agents, whey protein concentrates, and fermented foundation on the dispersion and stability of the air phase in fermented-milk desserts. Pectin appeared to have a negative effect on the air phase during defrosting and caused excessive condensation and drainage. The increasing amount of fermented base and gelatin, as well as the use of whey protein concentrates, increased the stability of the air phase during 24 h of storage at $4 \pm 2^\circ\text{C}$. The research results could be used to develop new production technologies of overrun fermented desserts and their preservation in the defrosted state.

Keywords. Dairy products, frozen products, dispersion, stabilizer, gelling agent, whey protein concentrate, defrosting, storage

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

For citation: Gurskiy IA, Tvorogova AA. The Impact of Technological Factors on the Air Phase of Defrosted Fermented-Milk Desserts. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):1–12. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2410>

Введение

За последнее время увеличилось потребление взбитых продуктов, характеризующихся кремообразной консистенцией. Расширить ассортимент такой продукции можно за счет кисломолочных десертов, изготавливаемых по технологии мороженого и потребляемых в размороженном виде. Кисломолочные десерты, как и мороженое, являются сложными структурированными продуктами, в плазме которых распределены кристаллы льда, пузырьки воздуха

и жировые глобулы [1, 2]. Органолептический показатель «кремообразная консистенция» и термоустойчивость десертов зависят от состояния воздушной фазы и ее стабильности [3].

Формирование воздушной фазы происходит в процессе фризирования смеси. Одновременно с насыщением смеси воздухом происходит ее охлаждение, замораживание и образование кристаллов льда, в результате чего нарастает вязкость [4]. Изменение вязкости влияет на размер образующихся

воздушных пузырьков [5]. Помимо вязкости, к факторам, влияющим на состояние пузырьков воздуха, относятся способы производства взбитых продуктов и их композиционный состав (качественный и количественный состав стабилизаторов, эмульгаторов, жиров и белков) [6–12].

Производство кисломолочных десертов возможно двумя способами: внесение кисломолочных продуктов (сметаны, ряженки, кефира, йогурта) в смесь на молочной основе или смешивание ферментированной молочной основы с сиропом из сахаров. В процессе ферментации происходят коагуляция белка, образование структуры в виде матрицы, удерживающей воду, и нарастание вязкости [13]. От количества ферментированной основы зависит прочность матрицы. В работе [14] было рассмотрено влияние разного количества внесенного йогурта на дисперсность воздушной фазы, но не изучено влияние различных компонентов на ее стабильность в процессе размораживания.

Основными механизмами изменения пузырьков воздуха являются коалесценция, диспропорционирование (созревание Оствальда) и дренаж [15–17]. Для производства размороженных десертов используют стабилизаторы-гелеобразователи. Благодаря вязкости, создаваемой стабилизатором, можно избежать дренажа за счет увеличения прочности матрицы, удерживающей фазы десерта. Такими стабилизаторами-гелеобразователями могут быть различные виды желатина и пектина, применяемые в производстве кондитерских изделий [18]. При технологически необходимом высоком содержании стабилизатора-гелеобразователя смесь десерта приобретает высокую вязкость и подается во фризере при температуре около 20 °С [14]. Высокая изначальная температура обуславливает длительное нахождение смеси во фризере, что способствует снижению среднего размера пузырьков воздуха [19]. Белки также выполняют роль загустителя за счет влагоудерживающей способности и оказывают влияние на стабильность воздушной фазы, повышая способность к насыщению воздухом и изменяя поверхностное натяжение между фазами [20, 21]. На этапе формирования пузырьков воздуха во фризере происходит их дополнительная стабилизация агломерированным жиром из-за деэмульгирующей способности эмульгаторов. Ранее было установлено влияние белков на поверхностное натяжение на границе раздела фаз, что приводило к увеличению содержания воздуха во взбитом продукте [22, 23]. Процесс размораживания оказывает влияние на дисперсность воздушной фазы [14]. При увеличении температуры структурно-механические показатели быстро трансформируются, воздушная фаза при размораживании взбитых десертов будет изменяться значительно быстрее, чем в период хранения при отрицательных температурах [24].

Учитывая недостаточное количество данных о состоянии воздушной фазы в размороженных десертах, целью данной работы являлось изучение влияния различных технологических факторов на дисперсность воздушной фазы в процессе хранения и размораживания.

Объекты и методы исследования

Материалы. В настоящем исследовании в качестве материалов выступили желатин 180 bloom (Ewald, Германия), низкоэтерифицированный цитрусовый пектин (AndrePectin, Китай), инулин (CosucraGroupeWarcoing S.A., Бельгия), фруктоза (НоваПродукт АГ, Россия), мальтодекстрин (OMNIA NISASTA SAN. TIC. A.S., Турция), молоко сухое обезжиренное (Evolution Food, Россия), концентрат сывороточного белка (Mlekovita, Польша), эмульгатор E471 (Мир добавок, Китай), йогурт с массовыми долями жира 1,5 % и сухого обезжиренного молочного остатка 9,1 %, крестьянское масло с массовой долей жира 72,5 % и молоко цельное 3,2 % жира, приобретенные в местных магазинах (Россия).

Объекты. В данной работе объектом исследования являлись взбитые кисломолочные десерты в замороженном и размороженном состояниях, нутриентный состав которых представлен в таблице 1. При приготовлении образцов № 1 и 2 в молочную основу вносили 30 % йогурта, образцы № 3–5 изготавливали с использованием заквасочных микроорганизмов и фруктозного сиропа.

Производство десерта. Процесс производства кисломолочного десерта состоял из следующих основных операций: смешивание сырьевых компонентов по рецептуре, подогрев смеси до 45 °С и ее фильтрование, пастеризация смеси при температуре 85 °С с выдержкой 3 мин и ее гомогенизация при температуре 75 °С и давлении на 1 ступени 19,0–21,0 МПа, на второй ступени – 3,0–5,0 МПа. При изготовлении образцов № 1 и 2 молочную основу охлаждали до 20 °С и смешивали с йогуртом в соотношении 7:3. Смеси образцов № 3–5 охлаждали до 40 °С, вносили закваску, состоящую из *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, сквашивали при 40 °С до титруемой кислотности 100 °Т, охлаждали до 20 °С и смешивали с фруктозным сиропом, приготовленным из фруктозы и воды в соотношении 1:1. Охлажденные смеси фризеровали до температуры десерта –5 °С. Затем десерт фасовали в тару из полистирола объемом 150 мл и выдерживали с целью закаливания при температуре –30 °С 3 дня. Готовый десерт хранили при температуре –18 °С.

Методы. Исследование динамической вязкости смесей для мороженого проводили с использованием реовискозиметра DV2+Pro с программным обеспечением Rheocalc V3 1-1 (BrookField, США) в соответствии с [14].

Таблица 1. Нутриентный состав исследуемых образцов десерта

Table 1. Nutrient composition of the dessert samples

Название нутриента	Содержание нутриентов, %				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Молочный жир	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Сухой обезжиренный молочный остаток	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0
Фруктоза	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Желатин	1,3	–	1,3	1,3	2,0
Пектин	–	1,3	–	–	–
Эмульгатор	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Концентрат сывороточного белка	–	–	–	3,0	–
Инулин	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Мальтодекстрин	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Сухие вещества (всего)	33,1	33,1	33,1	36,1	33,8
Вода	66,9	66,9	66,9	63,9	66,2
Итоговое количество ферментированной части, %	30,0	30,0	80,0	80,0	80,0

Взбитость (%) определяли весовым методом на основе массы одного и того же объема смеси и мороженого согласно [2] по формуле (1):

$$\text{Взбитость} = \frac{M_1 - M_2}{M_2} \times 100 \quad (1)$$

где M_1 – масса смеси, г; M_2 – масса мороженого, г; 100 – коэффициент пересчета отношения в проценты, %.

Оценку стабильности воздушной фазы проводили с использованием микроскопа CX41RF (OLYMPUS, Япония) со встроенной фотокамерой и программным обеспечением ImageScore M (СМА, Россия). Для исследования воздушной фазы небольшое количество подготовленного образца наносили на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и устанавливали на предметный столик микроскопа. Исследования проводили при увеличении в 100 раз. Для каждого образца проводили 8–10 фотоснимков и определяли диаметр не менее 500 пузырьков воздуха. Рассчитывали средний диаметр пузырьков воздуха (D_{cp}), а также их количественную долю до 50 мкм, от 50 до 100 мкм и свыше 100 мкм. Кривые распределения строили в Mathcad (версия 14; РТС, Массачусетс, США) в соответствии с уравнением (2):

$$F(D) = (b \times D)^a \times e^{-b \times D} \quad (2)$$

Статистическая обработка. Статистическая обработка проводилась с использованием программы Past (версия 4.03; OyvindHammer, Норвегия). Использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA) (= 95 %) и применяли тест Tukey для попарного сравнения образцов.

Результаты и их обсуждение

В качестве технологических факторов, потенциально влияющих на показатели качества десерта, рассматривали количество ферментированной

основы (образцы № 1 и 2, № 3–5), вид гелеобразователей (образцы № 1 и 2), массовую долю гелеобразователя (образцы № 3 и 5) и дополнительное применение концентрата сывороточного белка (образцы № 3 и 4).

Показатели, влияющие на состояние воздушной фазы в десертах. На первой стадии исследования определяли показатели, оказывающие прямое влияние на состояние воздушной фазы десертов в замороженном и размороженном состояниях: динамическую вязкость смеси и взбитость продукта. При оценке показателя «динамическая вязкость» установлено, что при прочих равных условиях вид гелеобразователя оказывает влияние на этот показатель. Вязкость смеси при использовании пектина в 3,7 раза больше, чем при использовании желатина (образцы № 1 и 2). Это обусловлено способностью пектина в присутствии сахаров формировать вязкие гели. Влияние на динамическую вязкость оказало дополнительное введение концентрата сывороточного белка. Динамическая вязкость образцов № 3 и 4 отличалась в 4,5 раза (табл. 2).

На показателе «взбитость» десертов сказалось присутствие белков как в составе стабилизационной системы, так и в виде дополнительно вносимого концентрата сывороточного белка. Наименьшая способность к насыщению смеси воздухом установлена при использовании гелеобразователя, не являющегося белком (образец № 2), и полисахарида пектина (взбитость 44 %), наибольшая – в образце № 4 при использовании концентрата сывороточного белка (92 %). Массовая доля желатина (белка) также сказалась на способности смеси к насыщению смеси воздухом. Образцы № 3 и 5 с массовыми долями стабилизатора 1 и 1,7 % соответственно отличались по взбитости в 1,3 раза (табл. 2).

Таблица 2. Показатели вязкости и взбитости образцов десерта

Table 2. Indicators of viscosity and overrun in the dessert samples

Показатель	Образец				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Динамическая вязкость смеси, Па·с	5,2 ± 0,2	19,6 ± 0,3	5,1 ± 0,1	23,0 ± 0,1	5,2 ± 0,2
Взбитость десерта, %	65,5 ± 6,6	44,5 ± 4,5	65,8 ± 6,7	92,0 ± 9,3	86,3 ± 8,7

Таблица 3. Показатели дисперсности воздушных пузырьков в десертах при температуре 4 ± 2 °C после закаливанияTable 3. Indicators of dispersion of air bubbles in the desserts at 4 ± 2 °C after hardening

Образец	Время выдержки, ч	D_{cp} , мкм	Доля воздушных пузырьков, %		
			до 50 мкм	от 50 до 100 мкм	более 100 мкм
№ 1	0	33,97 ± 1,14	80,6	19,0	0,4
	4	36,36 ± 1,49	77,5	19,7	2,8
	8	40,20 ± 1,85	75,7	20,6	3,7
	16	46,47 ± 3,56	66,4	22,7	10,9
	24	69,93 ± 5,49	35,2	43,1	21,7
№ 2	0	28,93 ± 1,21	88,3	10,8	0,9
	4	30,28 ± 1,19	84,8	14,7	0,5
	8	31,35 ± 1,91	84,3	11,6	4,1
	16	30,37 ± 2,39	85,6	10,6	3,8
	24	32,62 ± 4,72	82,4	10,2	7,4
№ 3	0	37,47 ± 1,33	74,6	23,8	1,6
	4	39,86 ± 1,88	71,8	24,4	3,8
	8	42,93 ± 2,47	73,0	19,5	7,5
	16	54,56 ± 5,07	58,9	25,0	16,1
	24	48,69 ± 4,97	69,2	17,6	13,2
№ 4	0	38,72 ± 1,52	73,9	24,1	2,0
	4	42,81 ± 1,89	65,9	30,3	3,8
	8	33,90 ± 1,55	82,4	14,1	3,5
	16	38,74 ± 2,44	74,0	19,2	6,8
	24	36,23 ± 2,89	81,6	8,9	9,5
№ 5	0	35,43 ± 1,21	79,8	18,6	1,6
	4	36,29 ± 1,45	76,7	21,5	1,8
	8	38,60 ± 1,72	75,4	20,1	4,5
	16	67,68 ± 4,11	37,4	40,7	21,9
	24	44,64 ± 3,31	69,1	20,4	10,5

Состояние воздушных пузырьков в десертах при температуре 4 ± 2 °C. Воздушную фазу образцов десерта изучали в замороженном состоянии и при выдерживании при температуре 4 ± 2 °C в течение 4, 8, 16 и 24 ч после закаливания и через 3 месяца хранения в замороженном состоянии. Результаты определения средних размеров воздушных пузырьков и их количественных долей до 50 мкм, от 50 до 100 мкм и более 100 мкм представлены в таблицах 3 и 4.

Данные по влиянию времени выдерживания образцов десертов при температуре 4 ± 2 °C на средний диаметр пузырьков воздуха, приведенные в таблице 3, позволили установить динамику дисперсности воздушных пузырьков при размораживании десерта. В

образце № 1 было установлено значимое ($p < 0,05$) изменение среднего диаметра через 8 ч с начала хранения при температуре 4 ± 2 °C.

Размораживание не оказало значимого влияния на средний размер пузырьков воздуха образца № 2 ($p > 0,05$). Количество пузырьков воздуха до 50 мкм снизилось за 24 ч на 6 %, а свыше 100 мкм увеличилось на 6 %. При оценке стабильности воздушных пузырьков в данном образце установлено, что высокое содержание мелких пузырьков воздуха в размороженном десерте не гарантирует высокую стабильность структуры десерта в этом состоянии. Общее содержание воздушной фазы в этом десерте оценено как невысокое. Причиной может быть процесс переcondенсации крупных пузырьков в результате дренажа из-за слабой структуры геля пектина.

Таблица 4. Показатели дисперсности воздушных пузырьков в десертах при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ через 3 месяца хранения в замороженном видеTable 4. Indicators of dispersion of air bubbles in the desserts at $4 \pm 2^\circ\text{C}$ after 3 months of frozen storage

Образец	Время выдержки, ч	$D_{\text{ср}}$, мкм	Доля до 50 мкм, %	Доля от 50 до 100 мкм, %	Доля более 100 мкм, %
№ 1	0	$40,60 \pm 2,03$	74,2	23,2	2,6
	8	$43,34 \pm 2,34$	71,3	23,5	5,2
	24	$73,26 \pm 7,09$	33,2	45,8	21,0
№ 2	0	$37,86 \pm 1,65$	77,8	21,3	0,9
	8	$29,72 \pm 1,35$	88,8	10,6	0,6
	24	$23,66 \pm 3,75$	92,2	3,9	3,9
№ 3	0	$38,80 \pm 1,84$	74,3	22,9	2,8
	8	$35,80 \pm 2,07$	79,6	17,2	3,2
	24	$49,29 \pm 6,33$	70,6	14,6	14,8
№ 4	0	$40,22 \pm 1,92$	70,5	27,1	2,4
	8	$31,47 \pm 1,68$	84,3	13,2	2,5
	24	$56,32 \pm 6,96$	63,1	16,3	20,6
№ 5	0	$40,63 \pm 1,87$	73,0	24,1	2,9
	8	$47,08 \pm 3,05$	68,3	21,9	9,8
	24	$76,79 \pm 6,92$	31,1	39,9	29,0

Установлено увеличение среднего диаметра и доли пузырьков воздуха с размером выше 100 мкм в процессе размораживания в образцах № 3 и 5.

Наиболее стабильна при размораживании воздушная фаза у образца № 4. Разница между наименьшим и наибольшим средним диаметром в процессе размораживания составила 6,5 мкм, между количественными долями до 50 мкм, от 50 до 100 мкм и свыше 100 мкм – 19,5, 21,4 и 7,5 % соответственно.

Провели анализ дисперсности воздушной фазы десертов через 3 месяца хранения с последующим выдерживанием при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 ч (табл. 4). При сравнении дисперсности воздушной фазы десертов после закаливания (табл. 3) и через 3 месяца хранения до выдерживания при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ установлено, что увеличился диаметр воздушных пузырьков в образцах № 1 на 19,5 %, № 2 – на 30 %, № 5 – на 14,6 %.

При размораживании через 3 месяца хранения образец № 2 имел наименьший средний размер пузырьков воздуха. Размеры пузырьков воздуха образцов № 1 и 3–5 в процессе размораживания увеличивались. Микрофотографии, свидетельствующие об этом, представлены на рисунках 1 и 2.

Как следует из данных, приведенных в таблицах 3 и 4 и на рисунке 2, в процессе хранения десертов при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ средний диаметр воздушных пузырьков как уменьшался, так и увеличивался. Это связано с увеличением подвижности размороженной плазмы мороженого и протеканием ранее отмеченных в образце с пектином процессов перекоденсации и дренажа воздушных пузырьков. В связи с этим целесообразно провести сравнительный анализ влияния на дисперсность воздушной фазы кисломолочных десертов

при хранении при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ после замораживания сопоставимых факторов: количества ферментированной основы, дополнительного введения сывороточных белков, разновидности стабилизатора-гелеобразователя и количества стабилизатора белкового происхождения.

Анализ влияния количества ферментированной основы на дисперсность воздушной фазы десертов.

Анализ воздушной фазы образцов № 1 и 3 с массовой долей ферментированной основы 30 и 80 % соответственно одного и того же нутриентного состава позволил установить значимость ее влияния на дисперсность воздушной фазы. В процессе размораживания образцов после закаливания были установлены значимые различия ($p < 0,05$) средних диаметров на протяжении всего процесса размораживания. Установлено, что средний диаметр воздушных пузырьков в этих образцах после закаливания заметно не отличался (разница 3,5 мкм). Различия в значении этого показателя через 24 ч выдерживания при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ составили 21 мкм. Различия среднего диаметра при температуре хранения $4 \pm 2^\circ\text{C}$ также подтверждаются через 3 месяца хранения десертов в замороженном состоянии. Хотя в замороженном виде через 3 месяца хранения не было установлено значимых различий ($p > 0,05$) среднего диаметра воздушных пузырьков, через 8 и 24 ч этот показатель в образцах № 1 и 3 существенно отличался ($p < 0,05$). Образец № 1 характеризовался значительно не отличающимися размерами средних диаметров воздушных пузырьков через 8 и 24 ч хранения при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ после закаливания и через 3 месяца хранения в замороженном состоянии. Различия в дисперсности

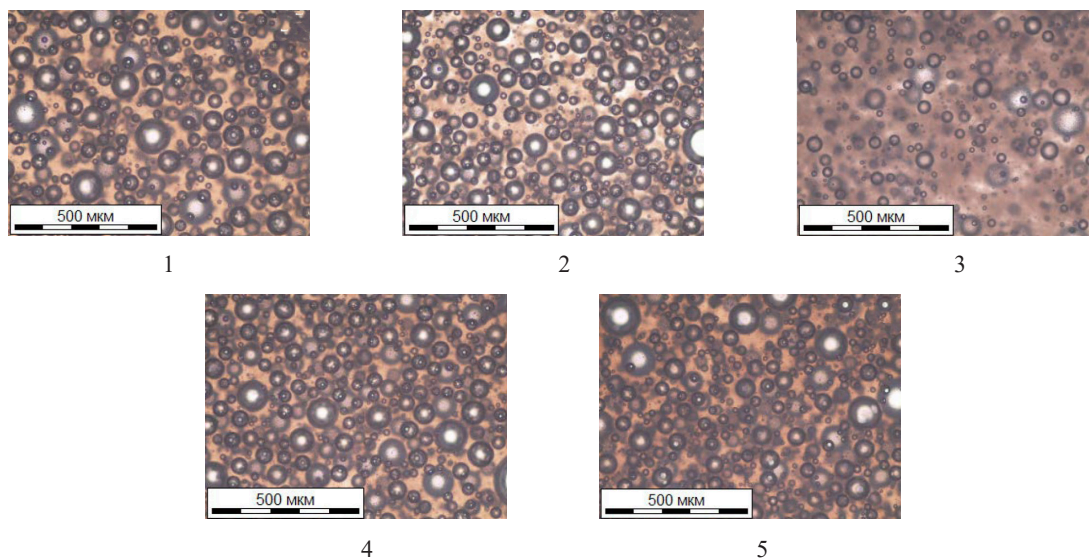


Рисунок 1. Микрофотографии пузырьков воздуха образцов десертов до размораживания через 3 месяца хранения: 1 – с внесением 30 % йогурта с желатином; 2 – с внесением 30 % йогурта с пектином; 3 – заквашенного с желатином; 4 – заквашенного с концентратом сывороточного белка; 5 – заквашенного с увеличенным количеством желатина

Figure 1. Air bubbles before defrosting after 3 months of storage: 1 – with extra 30% yogurt with gelatin; 2 – with extra 30% yogurt with pectin; 3 – fermented with gelatin; 4 – fermented with whey protein concentrate; 5 – fermented with extra gelatin

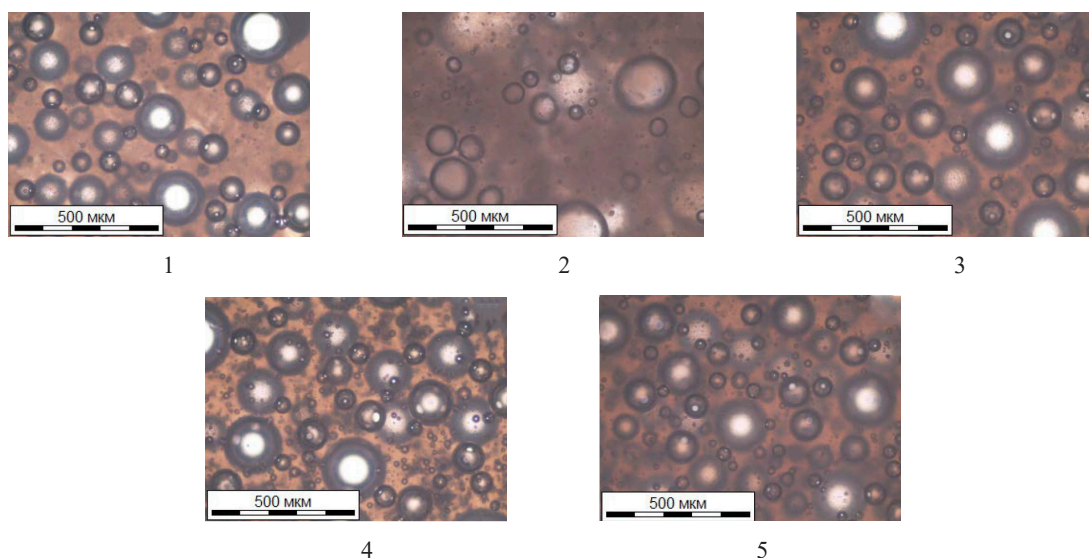


Рисунок 2. Микрофотографии пузырьков воздуха образцов десерта через 24 ч размораживания после 3 месяца хранения: 1 – с внесением 30 % йогурта с желатином; 2 – с внесением 30 % йогурта с пектином; 3 – заквашенного с желатином; 4 – заквашенного с концентратом сывороточного белка; 5 – заквашенного с увеличенным количеством желатина

Figure 2. Air bubbles after 24 h of defrosting after 3 months of storage: 1 – with extra 30% yogurt with gelatin; 2 – with extra 30% yogurt with pectin; 3 – fermented with gelatin; 4 – fermented with a whey protein concentrate; 5 – fermented with extra gelatin

воздушной фазы по показателю «средний размер воздушных пузырьков» могут быть обусловлены влиянием структуры, образуемой белковыми молекулами в присутствии разного количества молочной кислоты в ферментированных основах.

При ферментации всей смеси образующаяся сетка из белков формирует более прочную структуру, чем при внесении 30 % кисломолочного продукта. Это способствует более прочному удерживанию воздушных пузырьков в структуре.

Наибольшая стабильность воздушной фазы в десертах с более высоким содержанием ферментированной основы отмечена при определении распределения воздушных пузырьков по размерам по показателю «плотность распределения числа воздушных пузырьков». Количественная доля пузырьков воздуха до 50 мкм в образце № 3 до размораживания после закаливания была выше на 6 %, по сравнению с образцом № 1, через 24 ч различие составило 34 %. Несмотря на то что через 3 месяца хранения доля пузырьков воздуха в образцах № 1 и 3 до начала размораживания не отличалась, через 24 ч хранения при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ разница составила 37 %. Это подтверждает положительное влияние массовой доли ферментированной основы на стабильность воздушной фазы (рис. 3).

Анализ влияния дополнительного внесения белка на дисперсность воздушной фазы десертов. Установлено, что внесенный концентрат сывороточного белка в образце № 4 не оказал положительного влияния на дисперсность пузырьков воздуха в процессе их формирования. Значимые отличия в среднем диаметре воздушных пузырьков в образцах № 3 и 4 в процессе хранения при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ выявлены после закаливания на всех интервалах. На рисунке 4 представлены сравнительные данные по распределению пузырьков воздуха по размерам образцов с и без концентрата сывороточного белка в замороженном десерте и через 24 ч хранения при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$. При размораживании через 3 месяца хране-

ния через 8 ч были установлены значимые различия между образцами. Средний диаметр пузырька воздуха был ниже на 12 мкм в образце № 4.

Наиболее заметно влияние концентрата сывороточного белка на дисперсность воздушной фазы размороженных десертов выявлено через 12 месяцев хранения. В образцах № 3 и 4 определено существенное различие средних диаметров, а также долей пузырьков воздуха до 50 мкм (табл. 5). Полученные результаты позволяют говорить о положительном влиянии концентрата сывороточного белка на стабильность воздушной фазы размороженного взбитого десерта при его длительном хранении.

Анализ влияния вида гелеобразователей на дисперсность воздушной фазы десертов. При температуре хранения $4 \pm 2^\circ\text{C}$ образцов № 1 (с желатином) и 2 (с пектином) после закаливания были установлены значимые различия ($p < 0,05$) между средними размерами пузырьков воздуха на каждом этапе исследования. Изначально в образце с пектином отмечен меньший средний размер пузырьков воздуха. На этапе закаливания между образцами разница в среднем диаметре составила 5 и 37 мкм через 24 ч при температуре хранения $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (рис. 5). Значимые различия в значении среднего диаметра воздушных пузырьков в образцах в процессе размораживания установлены через 3 месяца. В замороженном виде этот показатель в образце № 1 был выше на 2,7 мкм, а через 24 ч разница средних размеров составляла уже 49 мкм.

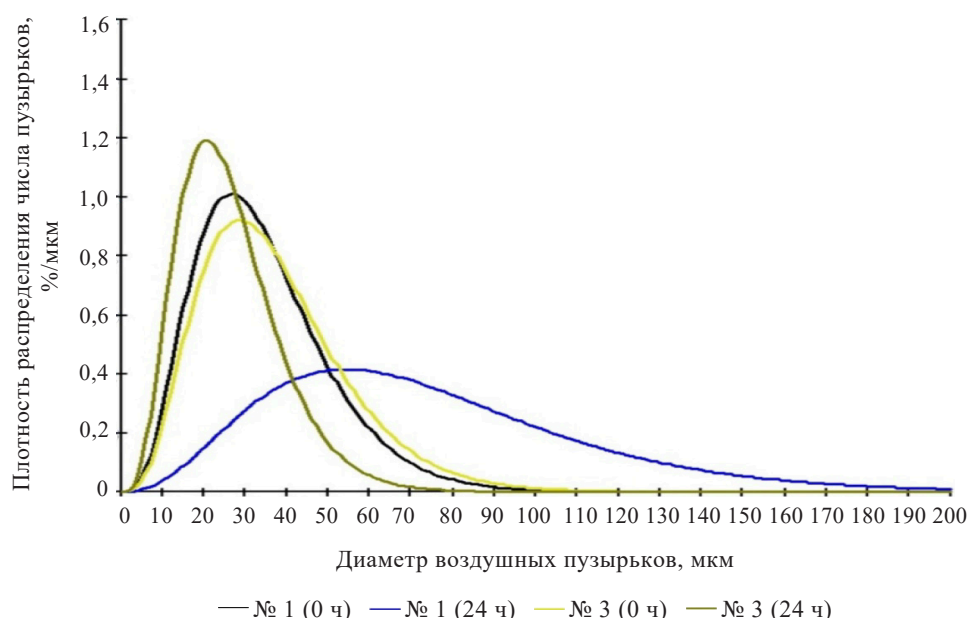


Рисунок 3. Распределение пузырьков воздуха образцов десерта до и после размораживания образцов № 1 и 3 после закаливания

Figure 3. Dispersion of air bubbles before and after defrosting: Sample 1 with extra 30% yogurt with gelatin and Sample 3 fermented with gelatin, after hardening

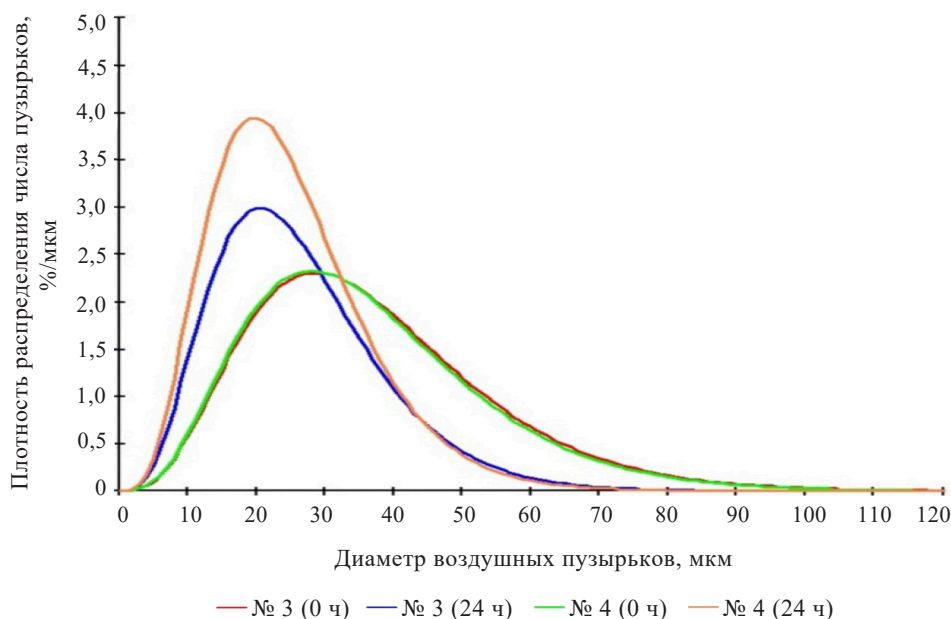


Рисунок 4. Распределение пузырьков воздуха образцов десерта до и после размораживания образцов № 3 и 4 после закаливания

Figure 4. Dispersion of air bubbles before and after defrosting: Sample 3 fermented with gelatin and Sample 4 fermented with a whey protein concentrate, after hardening

Таблица 5. Показатели дисперсности воздушных пузырьков в размороженных десертах при температуре 4 ± 2 °C через 12 месяцев хранения в замороженном виде

Table 5. Dispersion of air bubbles in defrosted desserts at 4 ± 2 °C after 12 months of frozen storage

Образец	Время выдержки, ч	D_{cp} , мкм	Доля до 50 мкм, %	Доля от 50 до 100 мкм, %	Доля более 100 мкм, %
№ 3	0	$34,9 \pm 1,9$	80,6	17,2	2,2
	8	$49,7 \pm 3,7$	59,7	31,0	9,3
	24	$86,0 \pm 6,9$	25,6	40,3	34,1
№ 4	0	$33,6 \pm 1,7$	81,7	16,5	1,8
	8	$42,7 \pm 3,2$	70,0	22,9	7,1
	24	$50,4 \pm 4,8$	68,8	14,1	17,1

В процессе хранения за 3 месяца средний диаметр воздушных пузырьков образца № 1 увеличился на 6 мкм, а образца № 2 на 9 мкм.

Дисперсионный анализ показал, что при температуре 4 ± 2 °C в течение 8 и 24 ч в образцах десертов после закаливания и через 3 месяца хранения значимых различий в распределении воздушных пузырьков по размерам нет ($p > 0,05$). Несмотря на то что образец № 2 характеризовался меньшим средним диаметром, чем образец № 1 при размораживании, это не свидетельствует о большей стабильности воздушной фазы данного образца из-за протекающего процесса пере конденсации. Это объясняет увеличение количества более мелких пузырьков воздуха и смещение графика распределения. Доля пузырьков воздуха до 50 мкм не изменялась при размораживании и составляла в среднем 85 %, а через 3 месяца увеличилась до 92 %. В образце с желатином доля

воздушных пузырьков до 50 мкм снизилась через 24 ч размораживания до 35 % после закаливания и до 33 % через 3 месяца хранения.

Анализ влияния количества стабилизатора на дисперсность воздушной фазы десертов. В образцах № 3 и 5 были установлены значимые различия среднего размера пузырьков воздуха при размораживании после закаливания с 4 до 16 ч. Закаленные образцы и через 24 ч размораживания не имели значимых различий по этому показателю ($p > 0,05$) (рис. 6). Было установлено значимое различие образцов десерта при размораживании через 3 месяца хранения через 8 и 24 ч. Средний размер пузырьков воздуха в образце № 5 на 12 мкм выше через 8 ч размораживания и на 27 мкм выше через 24 ч размораживания по сравнению с образцом № 3. Были установлены значимые различия между значениями среднего диаметра в процессе раз-

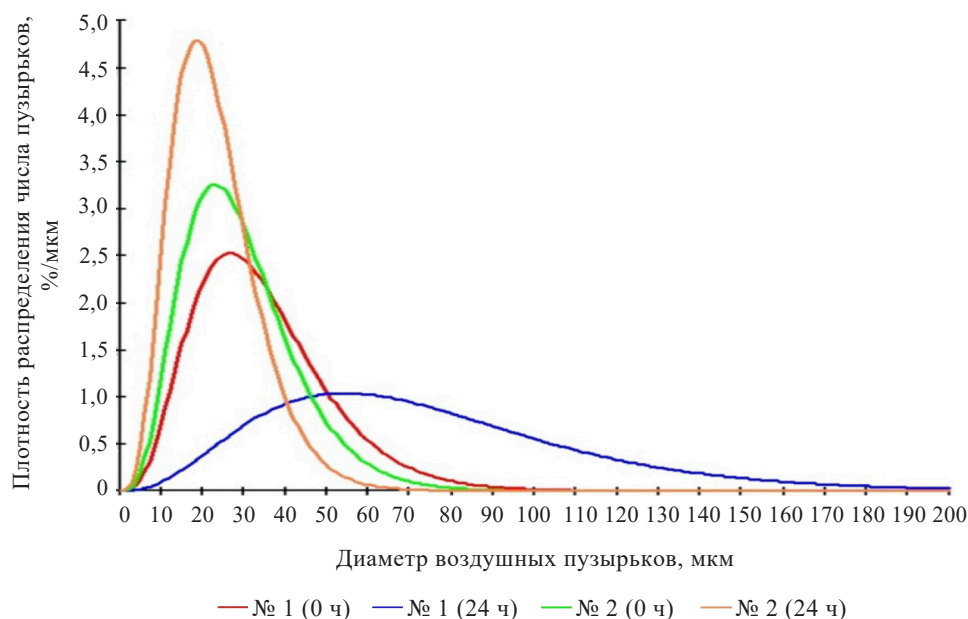


Рисунок 5. Распределение пузырьков воздуха образцов десерта до и после размораживания образцов № 1 и 2 после закаливания

Figure 5. Dispersion of air bubbles before and after defrosting: Sample 1 with extra 30% yogurt with gelatin and Sample 2 with extra 30% yogurt with pectin, after hardening

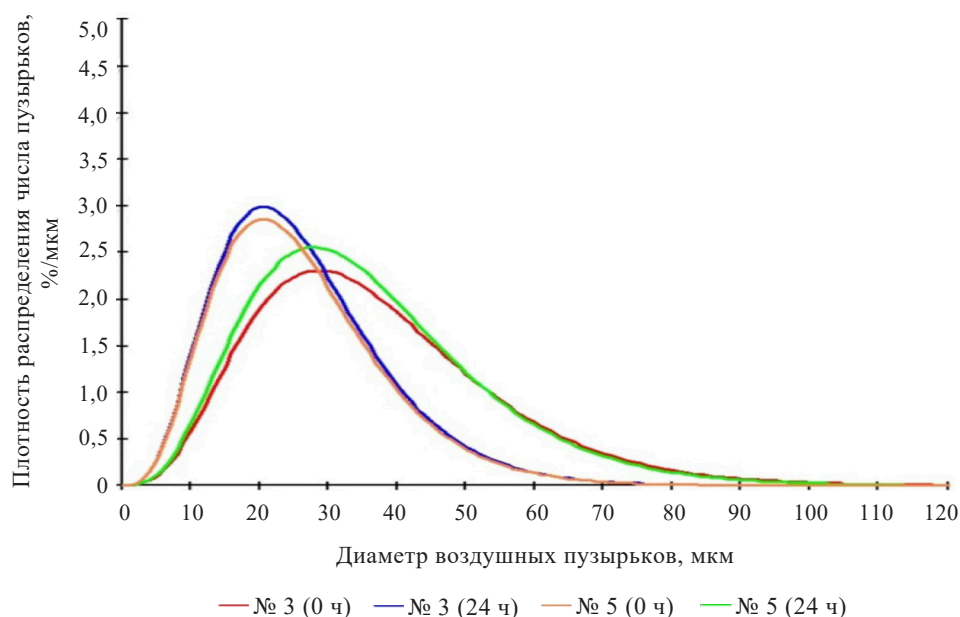


Рисунок 6. Распределение пузырьков воздуха образцов десерта до и после размораживания образцов № 3 и 5 после закаливания

Figure 6. Dispersion of air bubbles before and after defrosting: Sample 3 fermented with gelatin and Sample 5 fermented with extra gelatin, after hardening

морозивания между закаливанием и 3 месяцами хранения. Количественные доли пузырьков воздуха до 50 мкм после закаливания при размораживании были схожи между образцами № 3 и 5. При размораживании через 3 месяца их доля на 40 % ниже в образце № 5 в сравнении с образцом № 3.

Это свидетельствует об отрицательном влиянии на дисперсность воздушной фазы повышенной доли желатина. Смещение графиков распределения через 24 ч хранения обусловлено увеличением количества пузырьков воздуха в диапазоне размеров от 10–30 мкм, вызванное эффектом переконденсации.

Выводы

Исследованы показатели качества смесей для кисломолочных взбитых десертов и дисперсность их воздушной фазы в замороженном состоянии и в процессе хранения при температуре 4 ± 2 °С в течение 24 ч. Установлено, что наибольшее влияние на величину динамической вязкости оказывает гелеобразователь пектин. Дополнительно вводимый белок в составе стабилизатора или концентрат сывороточных белков положительно сказывается на вязкости и способности смеси к насыщению воздухом. Установлено положительное влияние на дисперсность и стабильность воздушной фазы кисломолочных десертов в процессе хранения при температуре 4 ± 2 °С в течение 24 ч повышенного содержания ферментированной основы и стабилизатора-гелеобразователя белкового происхождения, а также концентратов сывороточных белков.

Критерии авторства

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

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

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Warren MM, Hartel RW. Effects of emulsifier, overrun and dasher speed on ice cream microstructure and melting properties. *Journal of Food Science*. 2018;83(3):639–647. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13983>
2. 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>
3. Goff HD, Hartel RW. *Ice cream*. New York: Springer; 2013. 462 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6096-1>
4. De la Cruz Martínez A, Delgado-Portales RE, Pérez-Martínez JD, González Ramírez JE, Villalobos Lara AD, Borrás-Enriquez AJ, *et al.* Estimation of ice cream mixture viscosity during batch crystallization in a scraped surface heat exchanger. *Processes*. 2020;8(2). <http://doi.org/10.3390/pr8020167>
5. Hernández-Parra OD, 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>
6. Pimentel TC, Gomes de Oliveira LI, de Souza RC, Magnani M. Probiotic ice cream: A literature overview of the technological and sensory aspects and health properties. *International Journal of Dairy Technology*. 2021;75(1):59–76. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12821>
7. Hartel RW, Rankin SA, Bradley RL. *A 100-Year Review: Milestones in the development of frozen desserts*. *Journal of Dairy Science*. 2017;100(12):10014–10025. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13278>
8. Bogdanova EV, Ponomarev AN, Melnikova EI, Samoilenko AV. Isomaltulose in the technology of ice cream form fermented milk. *Journal of International Academy of Refrigeration*. 2017;(4):24–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.21047/1606-4313-2017-16-4-24-29>
9. Syed QA, Anwar S, Shukat R, Zahoor T. Effects of different ingredients on texture of ice cream. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*. 2018;8(6):422–435. <https://doi.org/10.15406/jnhfe.2018.08.00305>
10. El-Zeini HM, Moneir E-AM, Mostafa AZ, Yasser El-Ghany FH. Effect of incorporating whey protein concentrate on chemical, rheological and textural properties of ice cream. *Journal of Food Processing and Technology*. 2016;7(2). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000546>
11. Syed QA, Shah MSU. Impact of stabilizers on ice cream quality characteristics. *MOJ Food Processing and Technology*. 2016;3(1):246–252. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2016.03.00063>
12. Rahim NA, Sarbon NM. *Acacia* honey lime ice cream: Physicochemical and sensory characterization as effected by different hydrocolloids. *International Food Research Journal*. 2019;26(3):883–891.
13. Bierzuńska P, Cais-Sokolińska D, Yiğit A. Storage stability of texture and sensory properties of yogurt with the addition of polymerized whey proteins. *Foods*. 2019;8(1). <https://doi.org/10.3390/foods8110548>
14. Gurskiy IA. Effect of fermented base amount on dispersion of air phase of thawed desserts. *Food Systems*. 2021;4(3S):67–70. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-67-70>

15. Sawano M, Masuda H, Iyota H, Shimoyamada M. Melting characteristics of ice cream prepared with various agitation speeds in batch freezer. *Chemical Engineering Transactions*. 2021;87:337–342. <https://doi.org/10.3303/CET2187057>
16. VanWees SR, Rankin SA, Hartel RW. Shrinkage in frozen desserts. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;21(3):780–808. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12888>
17. Koxholt MMR, Eisenmann B, Hinrichs J. Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *Journal of Dairy Science*. 2001;84(1):31–37. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(01\)74448-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(01)74448-7)
18. Šeremet D, Mandura A, Cebin AV, Martinić A, Galić K, Komes D. Challenges in confectionery industry: Development and storage stability of innovative white tea-based candies. *Journal of Food Science*. 2020;85(7):2060–2068. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15306>
19. 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)
20. Loffredi E, Moriano ME, Masseroni L, Alamprese C. Effects of different emulsifier substitutes on artisanal ice cream quality. *LWT*. 2020;137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110499>
21. Awad RA, Hassan ZMR, Wafaa MS. Surface tension and foaming properties as a simple index in relation to buffalo milk adulteration. *International Journal of Dairy Science*. 2014;9(4):106–115. <https://doi.org/10.3923/ijds.2014.106.115>
22. Rinaldi M, Dall'Asta C, Paciulli M, Guizzetti S, Barbanti D, Chiavaro E. Innovation in the Italian ice cream production: effect of different phospholipid emulsifiers. *Dairy Science and Technology*. 2014;94:33–49. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0146-1>
23. Rusoke-Dierich O. *Diving medicine*. Cham: Springer; 2018. 440 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-73836-9>
24. E X, Pei ZJ, Schmidt KA. Ice cream: Foam formation and stabilization – A review. *Food Reviews International*. 2010;26(2):122–137. <https://doi.org/10.1080/87559120903564472>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2411>
<https://elibrary.ru/BXVINP>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Сонохимическое микроструктурирование альгината натрия для повышения его эффективности в технологии хлебобулочных изделий



А. В. Паймулина^{1,*}, И. Ю. Потороко²,
Н. В. Науменко², О. К. Мотовилов¹

¹ Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Краснообск, Россия

² Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

Поступила в редакцию: 14.04.2022

Принята после рецензирования: 01.06.2022

Принята к публикации: 04.07.2022

*А. В. Паймулина: aaaminaaa@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4981-717X>

И. Ю. Потороко: <https://orcid.org/0000-0002-3059-8061>

Н. В. Науменко: <https://orcid.org/0000-0002-9520-3251>

О. К. Мотовилов: <https://orcid.org/0000-0003-2298-3549>

© А. В. Паймулина, И. Ю. Потороко,
Н. В. Науменко, О. К. Мотовилов, 2023



Аннотация.

Использование в пищевом производстве биологически активных соединений, в том числе экстрагированных из водорослей, позволяет повышать функциональность продуктов питания. Комплексом доказанных биологически активных свойств обладает альгинат натрия. В пищевой промышленности он используется в качестве загустителя, стабилизатора, гелеобразователя и водоудерживающего агента. Биологическая активность альгината натрия и его влияние на технологические свойства пищевых систем зависят от молекулярной массы и однородности размера частиц данного полисахарида. Целью работы являлось исследование возможности применения метода сонохимического микроструктурирования альгината натрия для повышения его биологической активности и эффективности в составе хлебобулочных изделий.

Объектами исследования являлись альгинатные гели, дрожжевые суспензии на основе *Saccharomyces cerevisiae* и хлеб из пшеничной муки первого сорта. Для микроструктурирования альгината натрия применяли низкочастотную ультразвуковую обработку мощностью 240, 435 и 630 Вт/л при температуре 50 °С в течение 20, 25 и 30 мин. Проводились исследования свойств альгинатных гелей: морфология частиц в сопоставлении с распределением в дисперсной среде их гидродинамического диаметра, антиоксидантная активность, вязкость, биоактивность *in vitro* и биодоступность на *Paramecium caudatum* и *S. cerevisiae*. Исследовали качество хлебобулочных изделий по ГОСТ Р 58233-2018.

Сонохимическое микроструктурирование привело к деполимеризации крупных частиц альгината натрия на более короткие (5670 нм – 30,6 %, 502 нм – 53,4 %, 56,1 нм – 16 %). Отметим увеличение антиоксидантной активности в 7 раз и потенциальной биоактивности на 3,9 %. Использование микроструктурированного альгината натрия способствовало увеличению бродильной активности *S. cerevisiae* и приросту биомассы дрожжей на 8 %. Образцы хлеба с использованием микроструктурированного альгината натрия отличались повышенной пористостью (на 5,9 %) и функциональностью (увеличение антиоксидантной активности в 3,7 раз).

Предлагаемый подход сонохимического микроструктурирования позволяет снизить размер частиц альгината натрия, а также повысить его биологическую активность. Сонохимически микроструктурированный альгинат натрия обладает большим потенциалом в технологии пищевых систем, в том числе хлебобулочных изделий.

Ключевые слова. Бурые водоросли, микроструктурирование, ультразвук, антиоксидантная активность, биоактивность, биодоступность, дрожжи, хлебобулочные изделия

Финансирование. Работа была выполнена на базе Южно-Уральского государственного университета (национальный исследовательский университет) (ЮУрГУ (НИУ)) в научно-исследовательских лабораториях кафедры пищевых и биотехнологий, НОЦ «Нанотехнологии» и Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН) в рамках соглашения № 16/1 от 16.11.2021, заключенного между ЮУрГУ (НИУ) и СФНЦА РАН. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (РНФ) в рамках проекта 22-26-00079.

Для цитирования: Сонохимическое микроструктурирование альгината натрия для повышения его эффективности в технологии хлебобулочных изделий / А. В. Паймулина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 13–24. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2411>

Sonochemical Microstructuring of Sodium Alginate to Increase its Effectiveness in Bakery



Anastasia V. Paymulina^{1,*}, Irina Yu. Potoroko²,
Natalia V. Naumenko², Oleg K. Motovilov¹

¹ Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia

² South Ural State University (national research university), Chelyabinsk, Russia

Received: 14.04.2022
Revised: 01.06.2022
Accepted: 04.07.2022

*Anastasia V. Paymulina: aaaminaa@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-4981-717X>
Irina Yu. Potoroko: <https://orcid.org/0000-0002-3059-8061>
Natalia V. Naumenko: <https://orcid.org/0000-0002-9520-3251>
Oleg K. Motovilov: <https://orcid.org/0000-0003-2298-3549>

© A.V. Paymulina, I.Yu. Potoroko,
N.V. Naumenko, O.K. Motovilov, 2023



Abstract.

Algae are a source of many biologically active compounds that can be used in food production to expand the range of functional products. For instance, sodium alginate possesses a complex of scientifically proven biologically active properties. In the food industry, it usually serves as a thickener, stabilizer, gelation agent, and water-retaining agent. The biological activity of this polysaccharide and its effect on the technological properties of food systems depend on the molecular weight and particle size uniformity. The present research objective was to study the method of sonochemical microstructuring of sodium alginate to increase its biological activity and efficiency as part of various bakery formulations.

The research featured alginate gels, yeast suspensions of *Saccharomyces cerevisiae*, and bakery products. The sonochemical microstructuring of sodium alginate involved a low-frequency ultrasonic treatment at 240, 435, and 630 W/L and 50°C for 20, 25, and 30 min. The effect of the treatment included the following indicators: particle morphology vs. distribution of the hydrodynamic particle diameter in a dispersed medium, antioxidant activity, dynamic viscosity, *in vitro* bioactivity, and bioavailability against *Paramecium caudatum* and *S. cerevisiae*. The quality assessment of bakery products followed State Standard 58233-2018.

The process of sonochemical microstructuring depolymerized large particles of sodium alginate into shorter ones: 5670 nm – 30.6%, 502 nm – 53.4%, 56.1 nm – 16%. It increased the antioxidant activity by 7 times and the potential *in vitro* bioactivity by 3.9%. The microstructured sodium alginate improved the fermentation activity of *S. cerevisiae* and reduced the yeast biomass by 8%. The resulting bakery products had a greater porosity by 5.9% and antioxidant activity by 3.7 times.

The sonochemical microstructuring reduced the particle size of sodium alginate, as well as increased its biological activity. The sonochemically microstructured sodium alginate demonstrated a great potential for baked foods.

Keywords. Brown algae, microstructuring, ultrasound, antioxidant activity, bioactivity, bioavailability, yeast, bakery products

Funding. The research was carried out on the premises of the South Ural State University (national research university) (SUSU (NRU)) in the laboratories of the Department of Food and Biotechnology, the Research and Academic Center of Nanotechnology, and the Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS) under agreement No. 16/1 of November 16, 2021, between the SUSU (NRU) and the SFSCA RAS. The study was supported by the Russian Science Foundation (RSF) as part of project No. 22-26-00079.

For citation: 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>

Введение

Увеличение продолжительности активной жизни человека является глобальной задачей для общества. Создание инструмента для профилактики нарушений здоровья за счет функциональных компонентов в

пищевой матрице определяет актуальность данной работы. Согласно Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 г., утвержденной Правительством РФ от 29 июня 2016 г. № 1364-п, одним из приоритетных

направлений является развитие научных исследований в области создания пищевой продукции нового поколения. В связи с этим социально значимые продукты, например, хлебобулочные изделия, могут выступать в качестве модельной пищевой системы для обогащения биологически активными веществами направленного действия.

Разработка пищевой продукции, обогащенной функциональными пищевыми ингредиентами, может быть сопряжена с рядом проблем. Часто созданные многокомпонентные пищевые продукты не обладают заявленными функциональными свойствами. Это связано с низкой биосовместимостью обогащающего ингредиента как с основными нутриентами матрицы пищевой системы, так и с организмом человека. В связи с этим возникает необходимость определения технологических процессов и операций, направленных на повышение биологической доступности функциональных пищевых ингредиентов в составе пищевой матрицы продукта.

Одними из наиболее перспективных пищевых ингредиентов являются биологически активные вещества морских и океанических бурых водорослей. Альгиновая кислота и ее соли являются основными структурными полисахаридами бурых морских и океанических водорослей, составляющих до 40 % от их сухого веса [1]. Альгинаты представляют собой полианионный сополимер из 1–4 связанных остатков D-маннуриновой (М) и L-гулуриновой (G) кислот. Остатки М и G могут объединяться с образованием блоков MM, GG и MG, которые влияют на функционально-технологические и биоактивные свойства альгинатов. Наиболее часто используемым в пищевой промышленности является альгинат натрия (E401), который выступает в качестве загустителя, стабилизатора, гелеобразователя и водоудерживающего агента. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США FDA признало альгинаты веществами, классифицированными как GRAS (общепризнанные как безопасные), а Европейское управление по безопасности пищевых продуктов EFSA разрешило использование альгината и родственных ему солей в определенных дозах [2, 3].

В многочисленных исследованиях отечественных и зарубежных ученых показано, что альгинат натрия обладает целым комплексом доказанных биологически активных свойств, включая антиоксидантные, иммуномодулирующие, антимикробные, антитоксические и антирадиационные [4–6]. Величина биологической активности зависит от природы мономерных звеньев, соотношения маннуриновой и гулуриновой кислот и структуры основной цепи полисахарида (длина, степень разветвления), а также от молекулярной массы и размера молекул полисахарида. Альгинаты натрия с высокой молекулярной массой и неравномерным

распределением размера частиц в системе проявляют более низкую биологическую активность по сравнению с низкомолекулярными фракциями однородного размера.

Альгинат натрия может рассматриваться для возможного применения в качестве стабилизатора устойчивых в хранении и стабильных физически и химически эмульсий Пикеринга. Эмульсионные гели Пикеринга используются в качестве заменителей жира в продуктах с его пониженным содержанием, а также для создания новых текстурных свойств. Разнородность частиц по размеру может являться ограничительным фактором для оказания эффекта стабильности. Для этих целей могут применяться только однородные частицы с диаметром до 1 мкм [7, 8].

В связи с этим актуальным направлением современных исследований является поиск способа снижения размера частиц альгината натрия с целью повышения его биологической активности и эффективности в технологии пищевых производств.

Одним из возможных путей решения поставленной задачи по увеличению биологической активности альгината натрия может стать снижение размера частиц методом сонохимического микроstructuring, которое заключается в обработке низкочастотным ультразвуковым воздействием [9–13]. В качестве действующего начала ультразвукового воздействия выступает акустическая кавитация. Ее эффекты сопряжены с образованием мельчайших газовых пузырьков, которые после нарастания схлопываются с высвобождением энергии. В результате этого происходят трансформация структуры среды и соответствующие изменения ее физико-химических свойств [14–16].

Целью работы являлось исследование возможности применения метода сонохимического микроstructuring альгината натрия для повышения его биологической активности и эффективности в составе пищевой матрицы хлебобулочных изделий.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования применялись:

1) 1 %-ные альгинатные гели:

- Alg-Na – контрольный образец, полученный путем растворения альгината натрия пищевого бурых водорослей *Laminaria digitata* и *Laminaria saccharina* (ТУ 15-544-83, TOPSPICE, Россия) в дистиллированной воде с температурой 50 °C;
- Alg-Na* – альгинат натрия, модифицированный методом сонохимического микроstructuring.

Модифицированные формы альгината натрия (Alg-Na*) получали путем обработки нативной формы (Alg-Na) низкочастотным ультразвуковым воздействием в дистиллированной воде на ультразвуковом аппарате ВОЛНА УЗТА-0,63/22-ОМ при

частоте колебаний $22 \pm 1,65$ кГц и интенсивности излучения не менее 10 Вт/см^2 (ООО «Центр ультразвуковых технологий», Россия). Для определения рациональных режимов сонохимического микроstructuring на основании рекогносцировочных исследований были определены вариации параметров низкочастотного ультразвукового воздействия при контроле температурного режима на уровне 50°C (с использованием охлаждающей рубашки):

- мощность низкочастотного ультразвукового воздействия – 240, 435 и 630 Вт/л;
- длительность экспозиции – 20, 25 и 30 мин.

2) дрожжевые суспензии на основе дрожжей хлебопекарных прессованных вида *Saccharomyces cerevisiae* (ГОСТ Р 54731-2011, ООО «САФ-НЕВА», г. Воронеж) и биостимуляторов: нативного и микроstructuringированного альгината натрия.

Регидратацию дрожжей *S. cerevisiae* проводили в течение 10 мин при разведении дрожжевой культуры в дистиллированной воде (гидромодуль 1:10) температурой $30\text{--}40^\circ\text{C}$. Регидратированную дрожжевую культуру инкубировали на питательной среде или в растворах биостимуляторов Alg-Na и Alg-Na* в соотношении 1:10 при температуре 30°C в течение 15 мин:

- образец № 1 (контроль) – в питательной среде УР, состоящей из 16 % раствора пептона и 16 % раствора дрожжевого экстракта;
- образец № 2 – в 1 %-м растворе нативного альгината натрия Alg-Na;
- образец № 3 – в 1 %-м растворе сонохимически микроstructuringированного альгината натрия Alg-Na*.

3) лабораторные образцы хлебобулочных изделий:

- образец № 1 (контроль) – хлеб из пшеничной муки первого сорта, произведенный по традиционной рецептуре и технологии безопасным способом;
- образец № 2 – хлеб из пшеничной муки первого сорта, обогащенный нативной формой Alg-Na и произведенный безопасным способом;
- образец № 3 – хлеб из пшеничной муки первого сорта, обогащенный сонохимически микроstructuringированной формой Alg-Na* и произведенный безопасным способом.

Органолептические показатели альгината натрия определяли согласно требованиям ТУ 15-544-83.

Изображения микроstructures частиц нативного и модифицированного альгината натрия были получены с применением метода сканирующей электронной микроскопии (растровый электронный микроскоп высокого разрешения Jeol JSM-7001F, Япония). Предварительно образцы в виде 1 %-ных водных растворов высушивали методом сублимационной сушки в лиофильной сушилке ИНЕЙ-4. Затем высушенные порошки закрепляли на планшете на двустороннем проводящем скотче (углеродном),

проводили напыление на образцы золота в течение 30 с на вакуумной напылительной установке (Jeol JES 3000FC, Япония) и микроскопировали.

Распределение в дисперсной среде гидродинамического диаметра частиц альгината натрия исследовали методом динамического рассеяния света на лазерных анализаторах размера частиц серии Nanotrac 253 Ultra (Microtrac Inc., США). Измерения проводили в 1 %-ных водных растворах альгината натрия Alg-Na и Alg-Na*.

Исследование вязкости альгинатных гелей проводилось посредством определения камертонной вязкости (измерение произведения динамической вязкости на плотность образца) на вискозиметре серии SV-10 (A&D, Япония).

Общую антиоксидантную активность нативного и модифицированного альгината натрия и образцов хлебобулочных изделий оценивали путем определения поглощающей способности свободного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила спектрофотометрически при 515 нм с использованием метанольного раствора DPPH (по модификации X. Sui и др.) [17].

Оценку безопасности и токсичности нативного и модифицированного альгината натрия проводили по методу оценки токсичности продовольственного сырья на тест-организмах *Paramecium caudatum* (утв. РАСХН и ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии, 2009 г.) с применением автоматизированного приборно-вычислительного комплекса БиоЛат («Европолитест», Россия).

Потенциальную биоактивность нативного и модифицированного альгината натрия исследовали *in vitro* с использованием модели процесса переваривания (по методике M. J. Rodríguez-Roque и др.) [18]. Эксперимент проходил в две фазы. Первой фазой выступала модель процесса переваривания в желудке, которую готовили путем разведения фермента свиного сывроточного пепсина и соляной кислоты в дистиллированной воде до pH 2,5. Затем исследуемый образец альгината натрия термостатировали в этой смеси в течение 2 ч при 37°C . Вторую фазу (модель процесса переваривания в тонком кишечнике) готовили путем разведения смеси ферментов панкреатина и липазы в дистиллированной воде до pH 6,5–7,0. Полученную после первой фазы смесь выдерживали во второй фазе в течение 2 ч при 37°C . Затем смесь подвергали центрифугированию в течение 10 мин при факторе разделения 6584g (частота обращения ротора 8000 об/мин) для осаждения нерастворившихся частиц (центрифуга ОПН-8, Россия) и фильтровали через мембранный ацетат-целлюлозный фильтр (размер пор 0,45 мкм). В полученном фильтрате измеряли общую антиоксидантную активность спектрофотометрически с

использованием метанольного раствора DPPH [17]. Индекс биоактивности (ИБА, %) рассчитывали по формуле (1):

$$\text{ИБА} = \frac{\text{АОА}_{\text{конц}}}{\text{АОА}_{\text{исх}}} \times 100 \quad (1)$$

где $\text{АОА}_{\text{конц}}$ – общая антиоксидантная активность нативного Alg-Na и модифицированного Alg-Na* по окончании процесса переваривания *in vitro*; $\text{АОА}_{\text{исх}}$ – общая антиоксидантная активность нативного Alg-Na и модифицированного Alg-Na* до процесса переваривания *in vitro*.

Бродильную активность дрожжевых суспензий устанавливали путем определения интенсивности выделения двуокси углерода манометрическим способом с помощью аппарата Варбурга. Прирост биомассы дрожжей определяли гравиметрическим методом в аэробных условиях.

Оценку органолептических и физико-химических показателей образцов хлебобулочных изделий осуществляли стандартными методами согласно ГОСТ Р 58233-2018.

Все измерения в ходе экспериментов проводили в трехкратной параллельной повторности. Статистическая обработка результатов осуществлялась при вероятности 0,95.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследования было изучено влияние сонохимического микроструктурирования на структурные характеристики, биоактивность и биодоступность альгината натрия.

Образец альгината натрия представлял собой однородный мелкодисперсный порошок белого цвета со слабовыраженным вкусом и запахом водорослей (рис. 1).

Для сонохимического микроструктурирования макромолекул полисахаридов было применено низкочастотное ультразвуковое воздействие. Механизм сонохимического микроструктурирования обусловлен формированием кавитационных пузырьков, возникающих в водной системе растворов, при схлопывании которых может возникать интенсивный локальный нагрев (до 1500 °C) и высокое давление (около 1000 атмосфер). В результате коллапса таких пузырьков высвобождается энергия, достаточная для разрыва химических связей в любых полимерных материалах. При этом происходят изменения микроструктуры и морфологии частиц, а также снижение молекулярной массы и размера молекулы полисахарида за счет разрыва полимерных цепей [19, 20].

При визуальной оценке 1 %-ных водных растворов альгината натрия было выявлено, что Alg-Na очень медленно растворялся в воде (около 2 ч до полного растворения), образуя



Рисунок 1. Внешний вид порошка альгината натрия (ТУ 15-544-83, TOPSPICE, Россия)

Figure 1. Sodium alginate powder, Technical Specifications 15-544-83 (TOPSPICE, Russia)

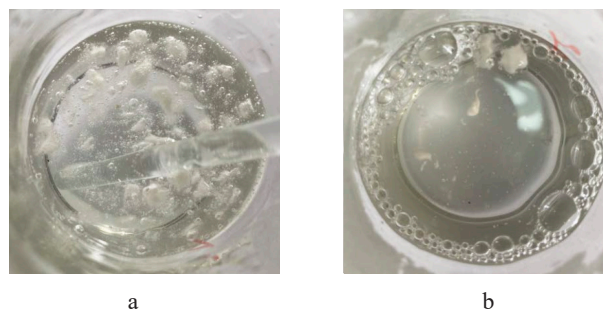


Рисунок 2. Внешний вид растворов альгинатов натрия по истечении 20 мин выдержки: а – Alg-Na; б – Alg-Na*

Figure 2. Sodium alginate solutions after 20 min exposure: a – Alg-Na; b – Alg-Na*

вязкий и устойчивый в хранении прозрачный гель. После обработки ультразвуком система водного раствора Alg-Na* однородна и представляет собой гели разной вязкости (рис. 2). Процесс растворения интенсифицировался и составил 20 мин.

После сонохимического микроструктурирования в режиме невысокой мощности и непродолжительного времени экспозиции значение показателя вязкости сначала увеличивалось (до 16 % при обработке низкочастотным ультразвуковым воздействием мощностью 435 Вт/л в течение 20 мин).

Это связано с разрывом водородных связей в молекуле полисахарида, образованием свободных функциональных групп и их взаимодействием с гидроксильными группами воды, подвергшейся процессам кавитации. При увеличении мощности низкочастотного ультразвукового воздействия и длительности экспозиции происходило резкое снижение показателя вязкости (на 87 % при обработке мощностью 630 Вт/л в течение 20 мин), сопровождающееся разжижением растворов. Эти изменения могут свидетельствовать о деструкции исходной формы альгината натрия, перегруппировке функциональных групп и изменении макромолекулярных свойств (рис. 3).

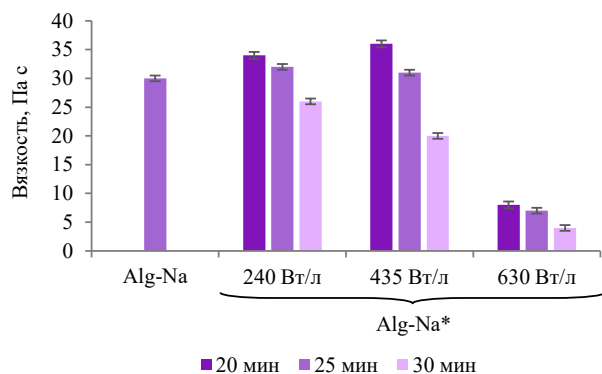


Рисунок 3. Вязкость растворов альгината натрия до и после сонохимического микроструктурирования ($P = 0,95$)

Figure 3. Viscosity of sodium alginate solutions before and after sonochemical microstructuring, $P = 0.95$

Структурные характеристики биополимеров тесно связаны с проявлением их биологической активности [21]. Гели, полученные из альгинатов с более низким молекулярным весом, обладали более высокой антиоксидантной активностью. Результаты исследования влияния сонохимического микроструктурирования на общую антиоксидантную активность альгината натрия представлены на рисунке 4.

Анализ результатов определения общей антиоксидантной активности альгината натрия после сонохимического микроструктурирования показал, что с увеличением мощности низкочастотного ультразвукового воздействия происходит наращивание данного показателя: в 7 раз при обработке мощностью 630 Вт/л в течение 20 мин. С увеличением продолжительности времени обработки растворов альгината натрия низкочастотным ультразвуковым воздействием значение общей антиоксидантной активности уменьшается. Обработка ультразвуком мощностью менее 240 и более 630 Вт/л не представлялась возможной из-за технических возможностей прибора. Однако, варьируя время экспозиции, при воздействии минимальной мощности ультразвука (240 Вт/л) менее 20 мин изменений в значении антиоксидантной активности отмечено не было. При низкочастотном ультразвуковом воздействии на растворы альгината натрия максимально возможной мощностью 630 Вт/л продолжительностью более 30 мин наращивание значения общей антиоксидантной активности прекращается.

Увеличение общей антиоксидантной активности сонохимически микроструктурированного альгината натрия (Alg-Na*) может быть связано с более высокой степенью растворимости и умень-

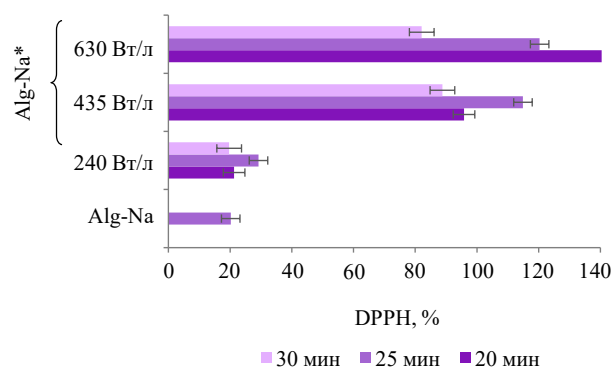


Рисунок 4. Усредненная оценка влияния разных режимов сонохимического микроструктурирования на общую антиоксидантную активность альгината натрия ($P = 0,95$)

Figure 4. Effect of different modes of sonochemical microstructuring on the total antioxidant activity of sodium alginate, $P = 0.95$: averaged assessment

шением размера частиц полисахарида. При этом увеличивается удельная поверхность, что обеспечивает достаточное количество активных центров для реакции со свободными радикалами и подавления окислительных реакций. Снижение общей антиоксидантной активности при увеличении времени экспозиции воздействия ультразвуком может быть обусловлено перегруппировкой и изменением соотношения гиалуроновой и маннуроновой кислот. Полученные результаты согласуются с литературными данными исследований антиоксидантной активности низкомолекулярных полисахаридов [22].

На основании полученных результатов была разработана математическая модель процесса сонохимического микроструктурирования альгината натрия. На основе двухфакторного анализа (X_1 – мощность низкочастотного ультразвукового воздействия, Вт/л; X_2 – длительность экспозиции, мин) и в результате решения задачи оптимизации и статистической обработки данных эксперимента получена поверхность отклика и уравнение регрессии, описывающие влияние разных режимов сонохимического микроструктурирования на общую антиоксидантную активность растворов альгината натрия – Y_1 (рис. 5). Оценивая адекватность полученной математической модели исследуемого процесса, которая позволяет найти оптимальные параметры сонохимического микроструктурирования альгината натрия, использовали критерий Фишера.

Учитывая физический смысл величин и технические характеристики используемого ультразвукового аппарата, для снижения размера частиц альгината натрия методом сонохимического микроструктурирования были определены

$$Y_1 = -7,749 \times 10^{-4} \times X_1^2 - 0,477 \times X_2^2 - 0,017 \times X_1 \times X_2 + 1,337 \times X_1 + 28,647 \times X_2 - 561,89$$

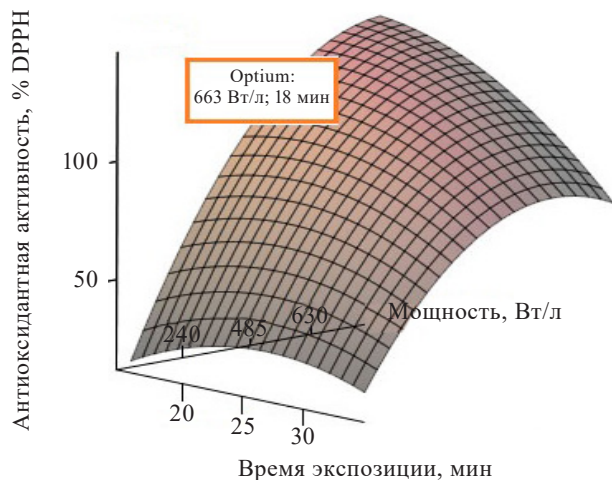


Рисунок 5. Результаты моделирования процесса сонохимического микроструктурирования альгината натрия

Figure 5. Sonochemical microstructuring of sodium alginate: simulation results

рациональные параметры низкочастотного ультразвукового воздействия: мощность – 630 Вт/л, длительность экспозиции – 18 мин, контроль температурного режима – на уровне 50 °С. Данный режим использовался в последующих исследованиях для сонохимического микроструктурирования альгината натрия

Проведено изучение влияния сонохимического микроструктурирования на морфологию и размер частиц альгината натрия с помощью сканирующей электронной микроскопии и метода динамического рассеяния света соответственно. Полученные снимки микроструктуры частиц в сопоставлении с результатами оценки распределения в дисперсной среде гидродинамического диаметра частиц альгината натрия (рис. 6) до и после ультразвукового воздействия позволяют описать изменения, происходящие в процессе сонохимического микроструктурирования альгината натрия.

Анализ изображений сканирующей электронной микроскопии образцов альгината натрия показал, что после ультразвуковой обработки отмечено наличие структурных изменений. Альгинат натрия в нативной форме представляет собой частицы нитевидной иррациональной формы с гладкой структурой

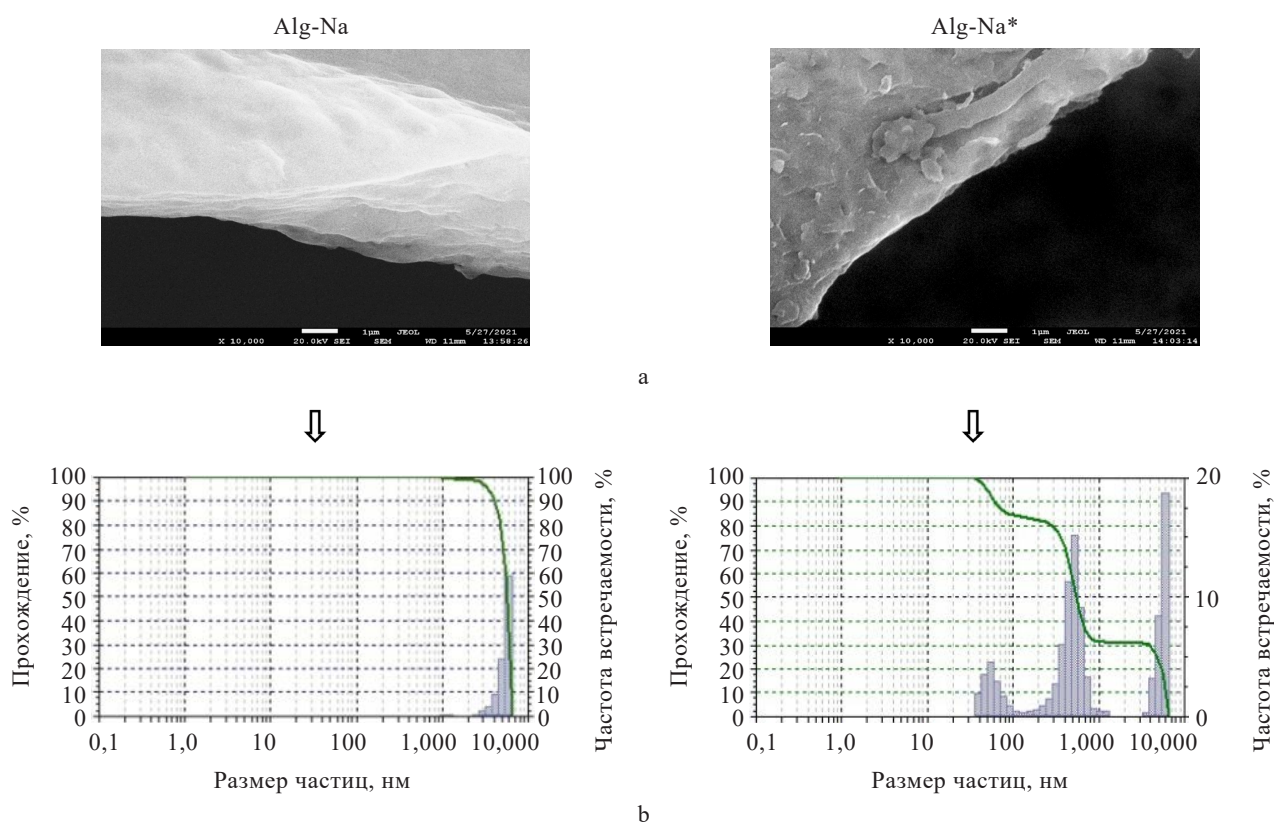


Рисунок 6. Сопоставление результатов исследования микроструктуры частиц альгината натрия (a) и их распределения в дисперсной среде гидродинамического диаметра (b)

Figure 6. Microstructure of sodium alginate particles (a) vs. their hydrodynamic diameter distribution in a dispersed medium (b)

поверхности (размером преимущественно 5650 нм). После сонохимического микроstructuring наблюдается деполимеризация крупных конгломератов на более короткие элементы (размером 5670 нм – 30,6 %, 502 нм – 53,4 %, 56,1 нм – 16 %). На поверхности частиц отмечено наличие ячеистости и надрывов.

Для прогнозирования потенциальной полезности микроstructuring формы альгината натрия была исследована *in vitro* потенциальная биоактивность с использованием модели процесса переваривания. Результаты определения индекса биоактивности представлены на рисунке 7.

Провели биотестирование микроstructuring формы и нативной формы альгината натрия на тест-организмах *Paramecium caudatum*. Исследование проводили путем подсчета количества простейших в исследуемых растворах нативного и сонохимически микроstructuring альгината натрия сразу после разведения и через 2 ч. Выживаемость *P. caudatum* зависит от многих факторов, в том числе от количества питательных веществ в экстрактах исследуемых объектов.

На рисунке 7 представлены данные прироста тест-организмов *P. caudatum* в исследуемых растворах альгината натрия до и после сонохимического микроstructuring.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что после процесса переваривания *in vitro* происходит снижение общей антиоксидантной активности в обоих образцах альгината натрия в среднем на 60 % в связи с происходящими в системе физико-химическими превращениями, в том числе блокировкой активных гидроксильных групп и образованием малоактивных радикалов.

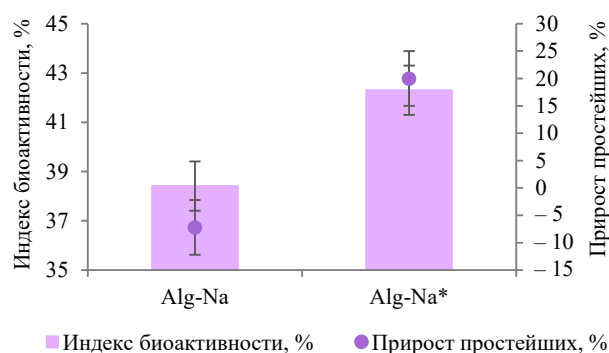


Рисунок 7. Индекс биоактивности и прирост *Paramecium caudatum* в питательной среде с использованием нативного и микроstructuring альгината натрия ($P = 0,95$)

Figure 7. Bioactivity index and *Paramecium caudatum* growth in a nutrient medium using native and microstructured sodium alginate, $P = 0.95$

Потенциальная биоактивность сонохимически микроstructuring формы альгината натрия на 3,9 % превышала контрольный образец.

Процесс сонохимического микроstructuring альгината натрия не оказывает токсичного действия на простейших вида *P. caudatum*. При этом происходит количественный прирост инфузорий на 27,2 % по сравнению с контрольным образцом. Данные наблюдения могут косвенно свидетельствовать об увеличении биодоступности и усвояемости микроstructuring формы альгината натрия клеточными структурами.

На хлебопекарных предприятиях в качестве заквасочной культуры широко применяются в нативном и сублимированном виде дрожжи хлебопекарные вида *Saccharomyces cerevisiae*. Получение порошков микроорганизмов сопряжено с рисками утраты их активности при восстановлении в результате обезвоживания. Одним из эффективных способов повышения биоактивности *S. cerevisiae* является обогащение питательной среды веществами, доступными для проникновения в клетки. Применение полисахаридов бурых водорослей в качестве биостимуляторов микроорганизмов может являться одним из способов восстановления и улучшения активации заквасочных микроорганизмов. В связи с этим было изучено влияние альгината натрия в нативной и сонохимически микроstructuring формах на активность дрожжей хлебопекарных вида *S. cerevisiae* (рис. 8).

На основании полученных данных о бродильной активности хлебопекарных дрожжей *S. cerevisiae* установлено, что в присутствии биостимуляторов – нативной и сонохимически микроstructuring формы альгината натрия – происходит интенсификация процесса накопления двуокси углерода в результате обогащения среды дополнительными питательными веществами углеводной природы (в частности моносахаридом альгината натрия – маннозой) и активного спиртового брожения. Бродильная активность в образцах с нативным и сонохимически микроstructuring альгинатом натрия одинаковая и составляет 4 %.

Определение прироста биомассы дрожжей показало корреляцию с бродильной активностью. Включение в состав питательной среды альгината натрия оказывает влияние на прирост биомассы дрожжей (увеличение на 8 % для нативной формы, на 10 % для микроstructuring формы). Таким образом, использование низкочастотного ультразвукового воздействия для сонохимического микроstructuring альгината натрия целесообразно и позволит обеспечить клеточную доступность для *S. cerevisiae*.

Для подтверждения эффективности сонохимического микроstructuring альгината натрия в составе пищевой матрицы было проведено

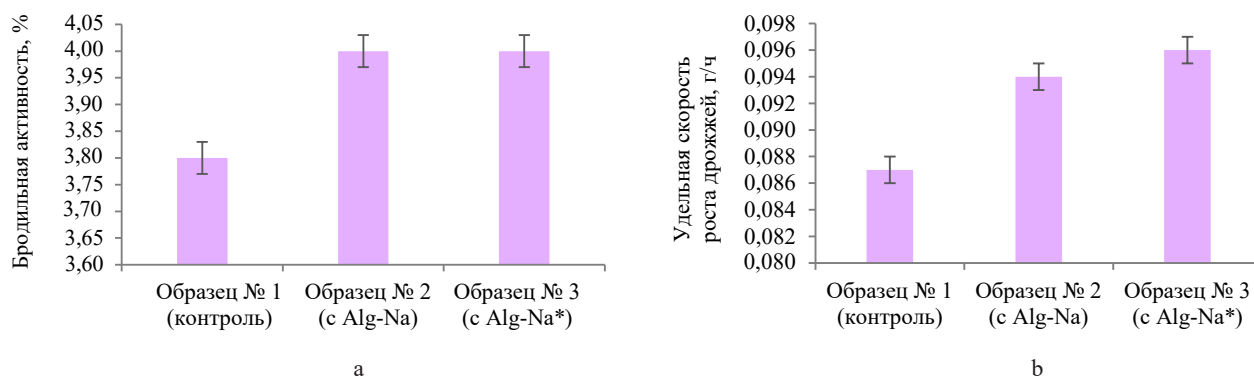


Рисунок 8. Биотехнологические свойства *Saccharomyces cerevisiae* при их регидратации в питательных средах разного состава: а – бродильная активность; б – прирост биомассы

Figure 8. Biotechnological properties of *Saccharomyces cerevisiae* during rehydration in different nutrient media: a – fermentative activity; b – biomass growth

Таблица 1. Рецептуры хлеба из пшеничной муки первого сорта

Table 1. Bread formulations with first-grade wheat flour

Наименование образцов	Расход сырья, г				
	Мука пшеничная 1-го сорта	Дрожжи хлебопекарные прессованные	Соль пищевая	Альгинат натрия нативный (Alg-Na)	Альгинат натрия микроструктурированный (Alg-Na*)
Образец № 1 (контроль)	1000	13	15	–	–
Образец № 2 (с внесением Alg-Na)	1000	13	15	10	–
Образец № 3 (с внесением Alg-Na*)	1000	13	15	–	10

исследование влияния данного функционального пищевого ингредиента на качество хлебобулочных изделий. Хлеб был выбран в качестве наиболее приемлемой модельной пищевой системы для обогащения, т. к. является продуктом массового спроса.

Альгинат натрия используется в хлебопечении в качестве загустителя, его дозировка обычно составляет от 0,3 до 2 %. На основании рекогносцировочных исследований была определена дозировка внесения микроструктурированного альгината натрия, которая составила 1 % от массы муки. Альгинат натрия вносился в виде водного раствора в нативной или микроструктурированной форме на этапе замешивания теста (влажность теста $36,8 \pm 1,0$ %). Хлеб готовили безопасным способом согласно классической технологии. Рецептуры хлеба из пшеничной муки первого сорта представлены в таблице 1.

Оценку органолептических и физико-химических показателей образцов хлеба проводили по истечении 3 ч после выпечки. Органолептические показатели исследуемых образцов представлены в таблице 2.

При оценке органолептических показателей качества хлеба из пшеничной муки первого сорта

было определено, что все исследуемые образцы соответствовали требованиям ГОСТ Р 58233-2018. Внесение альгината натрия в нативной и микроструктурированной формах практически не влияет на изменение внешнего вида, вкуса и запаха, при этом улучшается состояние мякиша. Это подтверждается данными физико-химической оценки качества при определении показателя пористости (табл. 3).

Внесение альгината натрия в нативной и микроструктурированной формах практически не влияет на влажность и кислотность мякиша хлеба, но оказывает влияние на пористость. Образец № 3 (с внесением Alg-Na*) отличался повышенным значением пористости (на 5,9 % в сравнении с контролем), что связано с интенсификацией процесса брожения и активным накоплением диоксида углерода, формирующего поры в матрице хлебобулочного изделия.

Антиоксиданты, содержащиеся в полисахаридах бурых водорослей, имеют водорастворимый характер и являются не термостабильными, поэтому важно было проследить сохранение антиоксидантной активности при встраивании микроструктурированной формы альгината натрия в пищевую матрицу хлеба.

Таблица 2. Органолептические показатели качества образцов хлеба из пшеничной муки первого сорта

Table 2. Sensory evaluation of bread samples with first-grade wheat flour

Наименование образцов	Наименование показателя			
	Внешний вид	Состояние мякиша	Вкус	Запах
Образец № 1 (контроль)	Формовой хлеб с несколько выпуклой верхней коркой. Поверхность корки шероховатая, без трещин. Имеются небольшие подрывы шириной менее 1 см. Цвет корки – коричневый, окраска равномерная	Пропеченный, не влажный на ощупь, средней эластичности, с крупной неравномерной толстостенной пористостью, белого цвета с сероватым оттенком, при разжевывании комкуется	Свойственный хлебу из пшеничной муки первого сорта, без посторонних привкусов	Свойственный хлебу из пшеничной муки первого сорта, приятный, выраженный, без посторонних запахов
				
Образец № 2 (с внесением Alg-Na)	Формовой хлеб с несколько выпуклой верхней коркой, повышенного объема. Поверхность корки шероховатая, без трещин и надрывов. Цвет корки – коричневый, окраска равномерная	Пропеченный, не влажный на ощупь, эластичный, со средней равномерной тонкостенной пористостью, белого цвета с сероватым оттенком	Свойственный хлебу из пшеничной муки первого сорта, без посторонних привкусов, в том числе водородолевого	Свойственный хлебу из пшеничной муки первого сорта, приятный, выраженный, без посторонних запахов, в том числе водородолевого
				
Образец № 3 (с внесением Alg-Na*)	Формовой хлеб с выпуклой верхней коркой, повышенного объема. Поверхность корки шероховатая, без трещин и надрывов. Цвет корки – коричневый, окраска равномерная	Пропеченный, не влажный на ощупь, эластичный, с хорошо развитой равномерной тонкостенной пористостью, белого цвета с сероватым оттенком	Свойственный хлебу из пшеничной муки первого сорта, без посторонних привкусов, в том числе водородолевого	Свойственный хлебу из пшеничной муки первого сорта, приятный, выраженный, без посторонних запахов, в том числе водородолевого
				

Таблица 3. Физико-химические показатели качества контрольного и опытных образцов хлеба

Table 3. Physical and chemical properties: experimental bread samples vs. control

Наименование образцов	Наименование показателя		
	Влажность мякиша, %	Кислотность мякиша, град.	Пористость мякиша, %
Образец № 1 (контроль)	39,9 ± 0,2	2,4 ± 0,2	75,9 ± 0,1
Образец № 2 (с внесением Alg-Na)	40,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	79,4 ± 0,5
Образец № 3 (с внесением Alg-Na*)	40,4 ± 0,2	2,5 ± 0,1	81,8 ± 0,3

Результаты определения общей антиоксидантной активности и ее потери после выпечки хлеба представлены на рисунке 9.

Несмотря на общую тенденцию снижения антиоксидантной активности после выпечки более чем на 50 % в результате температурного фактора, использование в технологии хлеба микроструктурированного альгината натрия привело к повышению общей антиоксидантной активности (в 3,7 раз по сравнению с контрольным образцом хлеба).

Выводы

Результаты проведенного исследования послужили доказательной базой при оценке применимости сонохимического микроструктурирования альгината натрия с целью повышения его эффективности в технологии хлебобулочных изделий. Данный подход обеспечивает деполимеризацию крупных конгломератов частиц альгината натрия на более короткие элементы размером 5670 нм – 30,6 %, 502 нм – 53,4 %, 56,1 нм – 16 %; увеличение

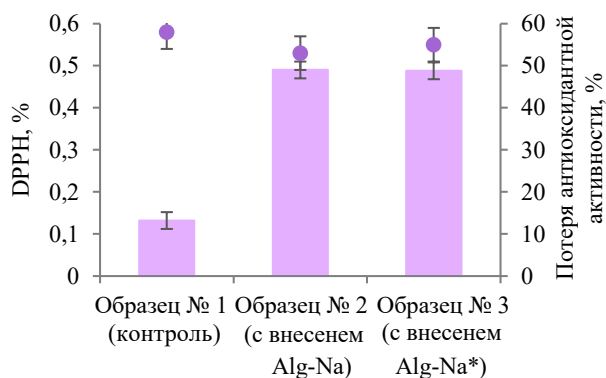


Рисунок 9. Общая антиоксидантная активность и ее потери после выпечки контрольного и опытных образцов хлеба

Figure 9. Total antioxidant activity and its loss after baking: experimental bread samples vs. control

антиоксидантной активности в 7 раз; увеличение потенциальной биоактивности *in vitro* на 3,9 %. Использование микроструктурированного альгината натрия в качестве биостимулятора для дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* приводит к увеличению бродильной активности и приросту биомассы дрожжей на 8 %. Использование сонохимически микроструктурированного альгината натрия в технологии хлебобулочных изделий оказывает положительное влияние на их качество (отмечено увеличение показателя «пористость» на

5,9 %) и функциональные свойства (увеличение антиоксидантной активности в 3,7 раз).

Предлагаемый в работе подход сонохимического микроструктурирования позволяет снизить размер частиц альгината натрия, а также повысить его биологическую активность и эффективность в технологии пищевых производств. Проведенное исследование послужило основой для будущих, которые будут направлены на разработку нового класса составных пищевых матриц на основе устойчивых эмульсий Пикеринга, стабилизированных сонохимически микроструктурированными частицами полисахаридов (альгинат натрия, фукоидан, микрокристаллическая целлюлоза).

Критерии авторства

И. Ю. Потороко руководила работой. Все авторы принимали участие в исследованиях и обработке данных, написании текстов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

I.Yu. Potoroko supervised the research. All the authors participated in the research, data processing, and manuscript writing.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Usov AI, Smirnova GP, Klochkova NG. Polysaccharides of algae: 55. Polysaccharide composition of several brown algae from Kamchatka. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2001;27(6):444–448. (In Russ.). [Усов А. И., Смирнова Г. П., Клочкова Н. Г. Полисахариды водорослей. 55. Полисахаридный состав некоторых бурых водорослей Камчатки // Биоорганическая химия. 2001. Т. 27. № 6. С. 444–448.].
2. Houghton D, Wilcox MD, Brownlee IA, Chater PI, Seal CJ, Pearson JP. Acceptability of alginate enriched bread and its effect on fat digestion in humans. Food Hydrocolloids. 2019;93:395–401. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.027>
3. Houghton D, Wilcox MD, Brownlee IA, Chater P, Seal CJ, Pearson JP. Method for quantifying alginate and determining release from a food vehicle in gastrointestinal digesta. Food Chemistry. 2014;151:352–357. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.070>
4. Feng L, Cao Y, Xu D, Wang S, Zhang J. Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry. 2017;34:609–615. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.038>
5. Yakush EV, Koneva EL, Aminina NM, Zhuravleva OV, Mamyarkin GD. New aspects of application of the alginate-containing biogel from brown algae in probiotic technology. Russian Journal of Marine Biology. 2017;190:204–211. (In Russ.). [Новые аспекты применения альгинатсодержащего биогеля из бурых водорослей в технологии пробиотиков / Е. В. Якуш [и др.] // Известия ТИНРО. 2017. Т. 190. С. 204–211.].
6. Suo H, Xu L, Xu C, Qiu X, Huang H, Hu Y. Enhanced catalytic performance of lipase covalently bonded on ionic liquids modified magnetic alginate composites. Journal of Colloid and Interface Science. 2019;553:494–502. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.06.049>
7. Geng S, Jiang Z, Ma H, Pu P, Liu B, Liang G. Fabrication and characterization of novel edible Pickering emulsion gels stabilized by dihydromyricetin. Food Chemistry. 2021;343. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128486>

8. Fang X, Zhao X, Yu G, Zhang L, Feng Y, Zhou Y, *et al*. Effect of molecular weight and pH on the self-assembly microstructural and emulsification of amphiphilic sodium alginate colloid particles. *Food Hydrocolloids*. 2020;103. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105593>
9. Khmelev VN, Kuzovnikov YuM, Khmelev MV. Ultrasonic devices for scientific researches. *South-Siberian Scientific Bulletin*. 2017;17(1):5–13. (In Russ.). [Хмелев В. Н., Кузовников Ю. М., Хмелев М. В. Ультразвуковые аппараты для научных исследований // Южно-сибирский научный вестник. 2017. Т. 17. № 1. С. 5–13.].
10. Krasulya ON, Bogush VI, Khmelev SS, Potoroko IYu, Tsiulnichenko LA, Kanina KA, *et al*. The sonochemical impact on food emulsions. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology*. 2017;5(2):38–48. (In Russ.). <https://doi.org/10.14529/food170206>
11. Pollet BG, Ashokkumar M. *Introduction to ultrasound, sonochemistry and sonoelectrochemistry*. Cham: Springer; 2019. 39 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-25862-7>
12. Price GJ, Bone J, Cochintoiu K, Courtenay J, James R, Matthews L, *et al*. Sonochemical production and activation of responsive polymer microspheres. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2019;56:397–409. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.04.030>
13. Grieser F, Choi P-K, Enomoto N, Harada H, Okitsu K, Yasui K. *Sonochemistry and the acoustic bubble*. Elsevier; 2015. 298 p. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-18886-1>
14. Cui R, Zhu F. Ultrasound modified polysaccharides: A review of structure, physicochemical properties, biological activities and food applications. *Trends in Food Science and Technology*. 2021;107:491–508. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.018>
15. Chen T-T, Zhang Z-H, Wang Z-W, Chen Z-L, Ma H, Yan J-K. Effects of ultrasound modification at different frequency modes on physicochemical, structural, functional, and biological properties of citrus pectin. *Food Hydrocolloids*. 2021;113. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106484>
16. Dou Z, Chen C, Fu X. The effect of ultrasound irradiation on the physicochemical properties and α -glucosidase inhibitory effect of blackberry fruit polysaccharide. *Food Hydrocolloids*. 2019;96:568–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.06.002>
17. Sui X, Bary S, Zhou W. Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. *Food Chemistry*. 2016;192:516–524. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.021>
18. Rodríguez-Roque MJ, de Ancos B, Sánchez-Moreno C, Cano MP, Elez-Martínez P, Martín-Belloso O. Impact of food matrix and processing on the *in vitro* bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *Journal of Functional Foods*. 2015;14:33–43. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.020>
19. Wang X, Majzoobi M, Farahnaky A. Ultrasound-assisted modification of functional properties and biological activity of biopolymers: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2020;65. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105057>
20. Bhargava N, Mor RS, Kumar K, Sharanagat VS. Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2021;70. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105293>
21. Feng L, Cao Y, Xu D, Wang S, Zhang J. Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2017;34:609–615. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.038>
22. Sen M. Effects of molecular weight and ratio of guluronic acid to mannuronic acid on the antioxidant properties of sodium alginate fractions prepared by radiation-induced degradation. *Applied Radiation and Isotopes*. 2011;69(1):126–129. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2010.08.017>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2412>
<https://elibrary.ru/APJYYJ>

Оригинальная статья
<https://fppt.ru>

Пути поступления микроэлементов в организм обыкновенного павлина *Pavo cristatus*



А. П. Каледин¹, М. В. Степанова^{2,*}, В. А. Остапенко³

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

² Российский биотехнологический университет^{ROR}, Москва, Россия

³ Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии –
МВА имени К. И. Скрябина^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 10.09.2022

Принята после рецензирования: 10.10.2022

Принята к публикации: 08.11.2022

М. В. Степанова: stepanova-marina@bk.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-0041-1091>

А. П. Каледин: <https://orcid.org/0000-0002-1769-5043>

© А. П. Каледин, М. В. Степанова, В. А. Остапенко, 2023



Аннотация.

Урбанизация и антропогенное воздействие на окружающую среду приводит к загрязнению экосистем, в том числе городских, химическими элементами. В биомониторинговых исследованиях окружающей среды птицы являются наиболее подходящим индикатором загрязнения поллютантами. Цель исследования заключалась в изучении путей поступления микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, в организм обыкновенного павлина *Pavo cristatus*.

Исследование проводилось с 2018 по 2022 гг. на микропопуляциях физиологически здоровых особей обыкновенного павлина, содержащихся в трех зоопарках (г. Москва, г. Иваново, г. Ярославль). Объектами исследования являлись перья павлина (n = 33), компоненты рациона питания (n = 303), питьевая вода (n = 94), почва (n = 123) и снег (n = 204). Исследования по определению микроэлементов проводили на атомно-абсорбционном спектрометре КВАНТ-2АТ.

Вариабельность концентрации микроэлементов в исследуемой выборке особей составила, %: Zn – 73,9, Cu – 94,3, Fe – 111,6, Pb – 150,0, Cd – 136,88 и As – 203,87. Средние уровни накопления элементов в биосредах убывают в ряду Fe > Zn > Cu > Pb > Cd > As. Анализ рационов питания павлинов, организованных на базе зоологических учреждений Москвы, Иваново и Ярославля, показал, что Zn поступает 11,35, 6,60 и 2,50 мг; Cu – 2,29, 0,75 и 0,41 мг; Fe – 55,83, 30,54 и 6,78 мг; Pb – 0,14, 0,18 и 0,01 мг; Cd – 0,02, 0,01 и 0,005 мг; As – 0,04, 0,02 и 0,002 мг соответственно. Если особь полностью съедает весь выданный корм, то ориентировочное общее суточное поступление Zn от дневной нормы потребления элемента составляет 16,7–75,7 %, Cu – от 13,7 до 76,3 %, Fe – от 48,4 до 398,79 %. Pb, Cd и As поступают с рационами в пределах суточной нормы. Основной путь поступления Zn, Cu, Fe в Ярославле и Cd – пероральный, Fe в Москве и Иваново, As и Pb в Москве – ингаляционный.

В ходе анализа многомаршрутной и многосредовой экспозиции микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, при поступлении в организм птиц было установлено, что уровень концентрации эссенциальных микроэлементов в биосредах определяется их поступлением с пищей. Накопление организмом птиц Fe (в Москве и Иваново) и As (на всех территориях исследования) связано с их поступлением из почвенного покрова, т. к. в депонирующей среде обнаружен высокий уровень содержания данных эссенциальных микроэлементов. Наибольшее воздействие на организм птиц оказывает валовое содержание Pb в почве Москвы и питьевой воде Ярославля и Иваново. Снежный покров оказывал наименьшее воздействие на элементный статус биосред павлинов.

Ключевые слова. Биосреды, микроэлементы, тяжелые металлы, мышьяк, миграция, депонирующие среды, продукты, загрязнение

Финансирование. Работа выполнена на базе кафедры биоэкологии и биологической безопасности Российского биотехнологического университета (РОСБИОТЕХ)^{ROR}.

Для цитирования: Каледин А. П., Степанова М. В., Остапенко В. А. Пути поступления микроэлементов в организм обыкновенного павлина *Pavo cristatus* // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 25–37. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2412>

Trace Elements in Indian Peafowl (*Pavo cristatus*): Exposure Routes



Anatoly P. Kaledin¹, Marina V. Stepanova^{2,*},
Vladimir A. Ostapenko³

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

² Russian Biotechnological University^{ROR}, Moscow, Russia

³ Moscow state Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K.I. Skryabin^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 10.09.2022

Revised: 10.10.2022

Accepted: 08.11.2022

*Marina V. Stepanova: stepanova-marina@bk.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-0041-1091>

Anatoly P. Kaledin: <https://orcid.org/0000-0002-1769-5043>

© A.P. Kaledin, M.V. Stepanova, V.A. Ostapenko, 2023



Abstract.

Urbanization leads to chemical pollution. Contaminants accumulate in feed and enter animal body through digestive tract. Numerous studies have established that the level of mineral content in the environment reflects the technogenic load on the territory and is transmitted in the system through products of plant and animal origin, which can be used to prevent and correct elementoses.

This research featured feathers of Indian peafowls *Pavo cristatus* (n = 33), diet components (n = 303), their drinking water (n = 94), soil (n = 123), and snow (n = 204). The micro-elemental profile was defined using an atomic absorption spectrometer. The samples were obtained from zoological institutions of Moscow, Ivanovo, and Yaroslavl.

As for the feathers, the average Zn accumulation level was 122.74 ± 9.64 mg/kg, Cu – 5.36 ± 0.05 mg/kg, Fe – 508.06 ± 56.84 mg/kg, Pb – 6.75 ± 1.13 mg/kg, Cd – 1.65 ± 0.26 mg/kg, and As – 0.61 ± 0.23 mg/kg. The variability of the concentration of microelements in the sample was as follows, %: Zn – 73.9, Cu – 94.3, Fe – 111.6, Pb – 150.0, Cd – 136.88, and As – 203.87. The average levels of accumulation of elements in the biological media decreased in the following order: Fe > Zn > Cu > Pb > Cd > As. The share of Zn in the total of all determined elements was 0.7–48.0%, Cu – 0.04–2.8%, Fe – 46.2–92.8%, Pb – 0–2.5%, Cd – 0–2.5%, and As – 0–4.6%. The diet analyses showed the following results for Moscow, Ivanovo, and Yaroslavl, respectively: Zn – 11.35, 6.60, and 2.50 mg; Cu – 2.29, 0.75, and 0.41 mg; Fe – 55.83, 30.54, and 6.78 mg; Pb – 0.14, 0.18, and 0.01 mg; Cd – 0.02, 0.01, and 0.005 mg; As – 0.04, 0.02, and 0.002 mg. If the birds consumed all the food they received, the approximate total daily intake of the selected essential microelements Zn was 16.7–75.7% of the recommended daily intake, Cu – 13.7–76.3%, and Fe – 48.4–398.79%. Pb, Cd and As stayed within the daily norm. The oral route of intake was registered for Zn, Cu, and Fe in Yaroslavl and for Cd in all samples. Inhalation was registered as the main route of intake for Fe in Moscow and Ivanovo, as well as for As and Pb in Moscow. The highest intake of Pb was registered in Ivanovo and Yaroslavl.

The analysis revealed the multi-route and multi-environment exposure of urban birds to microelements, including heavy metals. The level of concentration of essential microelements in the biological media depended on the diet. Fe in Moscow and Ivanovo and As in all the samples came from the soil cover, which had a high content of these elements. The gross content of Pb in the soil samples from Moscow and the drinking water from Yaroslavl and Ivanovo demonstrated the greatest impact on the avian organism. The snow samples had the least effect on the elemental status of the bioenvironments.

Keywords. Biological media, trace elements, heavy metals, arsenic, migration, deposit media, products, pollution

Funding. The research was performed on the premises of the Department of Bioecology and Biological Safety of the Russian Biotechnological University (BIOTECH University)^{ROR}.

For citation: Kaledin AP, Stepanova MV, Ostapenko VA. Trace Elements in Indian Peafowl (*Pavo cristatus*): Exposure Routes. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):25–37. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2412>

Введение

В результате антропогенного воздействия в окружающую среду постоянно попадают поллютанты, поэтому глобальное загрязнение экосистем вызывает беспокойство мирового сообщества [1–8]. Исследования элементного состава проводятся в депонирующих средах, объектах окружающей среды и продуктах питания [9–13]. Из-за постоянного увеличения урбанизации и связанных с ней промышленных процессов загрязнение химическими элементами может стать основной экологической проблемой в городской среде [4, 9, 14–16].

В последние десятилетия птицы и млекопитающие стали успешно применяться в качестве биоиндикаторов загрязнения окружающей среды поллютантами из-за их широкого распространения и часто высокого трофического уровня [9, 15]. Поэтому определение концентраций микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, в различных тканях и продукции разных видов птиц (например, в крови, перьях, печени, почках, мышцах, яйцах, фекалиях и т. д.) широко применяется в биомониторинговых исследованиях [17–20].

Кумуляция контаминантов в кормах оказывает влияние на уровень содержания веществ в организме животных, т. к. основная доля элементов поступает в организм алиментарным путем [21, 22]. Многочисленными исследованиями установлено, что уровень содержания минеральных веществ в окружающей среде отражает техногенную нагрузку на территорию и передается в системе через продукцию растительного и животного происхождения, которую можно применять для профилактики и коррекции элементозов [23, 24]. Однако недостаточно уделять внимание только полиэлементному составу компонентов рациона питания. Необходимо проводить исследования комплексного характера загрязнений с учетом взаимного влияния тяжелых металлов, определения их миграции и негативного влияния повышенных концентраций в природе. Помимо уровня содержания токсичных элементов, необходимо контролировать содержание эссенциальных элементов, т. к. они играют роль в обеспечении жизнедеятельности организмов [24–27].

Цель данного исследования – изучение путей поступления микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, в организм обыкновенного павлина *Pavo cristatus*.

Объекты и методы исследования

Исследование проведено в 2018–2022 гг. на представителях семейства фазановые (*Phasianidae*), содержащихся в Московском зоологическом парке, располагающемся около Садового кольца между улицами Красная Пресня, Большая Грузинская и

Зоологическая, в Ивановском зоопарке, находящемся на улице Рабфаковская Фрунзенского района г. Иваново – областного центра с удовлетворительной экологической ситуацией и развитой текстильной промышленностью, но плохим экологическим состоянием естественных водных объектов, и в Ярославском зоопарке, расположенном в Заволжском районе г. Ярославля – крупного промышленного и транспортного центра, который характеризуется высокой антропогенной нагрузкой на атмосферный воздух, поверхностные водные объекты и почвенный покров, с развитым нефтеперерабатывающим, химическим, машиностроительным и теплоэнергетическим комплексом (в районе располагается мусоросжигающий завод).

Исследования выполнены на атомно-абсорбционном спектрометре КВАНТ-2АТ на микропопуляциях физиологически здоровых животных вида обыкновенный павлин *Pavo cristatus*. Все животные находились в половозрелом возрасте. Отбор образцов перьев всех типов осуществлялся со всего тела массой пробы не менее 10 г. Пробы очищались и обезжиривались ацетоном и бидистиллированной водой в течение двух суток. Производилось мокрое кислотное озоление на электроплитке, а затем в муфельной печи с постепенным повышением температуры от 250 до 450 °С с получасовой выдержкой. Всего было отобрано 33 пробы и выполнено 198 измерений химических элементов. В пробах проводилась оценка уровня содержания микроэлементов и тяжелых металлов – цинка, меди, железа, кадмия, свинца и мышьяка.

Кроме этого, проводилось исследование уровня содержания исследуемых микроэлементов в объектах окружающей среды и рационах питания. Отбор питьевой воды осуществляли в районах постоянного содержания животных в соответствии с требованиями ГОСТ Р 56237-2014 (ИСО 5667-5:2006). Качество питьевой воды оценивалось в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51232-98 и СанПиН 2.1.4.1074-01. Для исследования воды на предмет содержания в ней микроэлементов необходимо наличие 1 л пробы воды после 15 мин спуска при полном открытии крана. Срок хранения проб 72 ч. Проанализировано 94 пробы.

Отбор и хранение проб компонентов рациона питания животных проводили в соответствии с МосМР 2.3.2.006-03. Проанализировано 303 пробы.

Снег отбирался в период максимального снеготаяния конвертным способом на площадке 1×1 м в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05-85 (208 проб, 1044 измерений). Снег топили при комнатной температуре. Подготовленные пробы к испытанию воды, снега (объемом 100 см³) и почвы переносили в выпарительную чашку, добавив 1–2 см³ концентрированной азотной кислоты. Содержимое

чашки упаривали до влажных солей. Если остаток был темным, то кислотную обработку повторяли до его осветления.

Отбор объединенных проб почв массой не менее 1 кг осуществляли на территории зоологических учреждений два раза в год – весной и осенью. Отбор проб из пяти точек осуществлялся на однородном почвенном покрове с территорий основных экспозиций в количестве не менее одной с поверхностного горизонта на глубине 0–5 см площадки 10×10 м. Транспортировка и хранение проб почв осуществлялись в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01-2017, ГОСТ 17.4.4.02-2017 и ГОСТ 58595-2019. Всего за время исследования было изучено 123 пробы.

В ходе выполнения работы были произведены расчеты среднесуточных доз поступления микро-элементов из почвы зоологических учреждений в организм животных, которые учитывают внешнее воздействие химических элементов при пероральном (заглатывание частиц почвы) и ингаляционном поступлении при эмиссии пылевых частиц из почвенного покрова в атмосферный воздух, а также при попадании тяжелых металлов и As в организм при накожной экспозиции почвы; среднесуточных доз перорального, ингаляторного и накожного поступления микроэлементов из питьевой воды и с продуктами питания в организм птиц и млекопитающих по адаптированным для животных формулам расчета доз при оценке риска многосредового воздействия химических веществ.

Механизм воздействия отражает путь поступления химических элементов от источника загрязнения окружающей среды до организма птицы. Элементами маршрута воздействия являются источники поступления загрязнения в объекты окружающей среды, воспринимающая (первично загрязненная) среда, транспортирующие и трансформирующие среды, точка воздействия на организм (рецепторную точку), воздействующие среды и пути поступления веществ в организм птиц (пероральное и ингаляторное поступление, кожная абсорбция). Все

вышперечисленные элементы составляют полный маршрут воздействия химических элементов. Маршрут исследования по многосредовому сценарию воздействия приведен в таблице 1.

Расчет поступления исследуемых веществ проводился по следующим формулам:

1. Питьевая вода: пероральное поступление

$$I = \frac{C_w \times V \times EF \times ED}{BW \times AT \times 365} \quad (1)$$

где I – пероральное поступление вещества с питьевой водой, мг/кг×день; C_w – концентрация вещества в питьевой воде, мг/л; V – величина водопотребления, л/сут. (0,5 л/сут.); EF – частота воздействия, день/год (350 дней/год); ED – продолжительность воздействия, лет (20 лет); BW – масса тела, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (5 лет).

2. Питьевая вода: ингаляционное воздействие

$$I = \frac{CDI \times ED \times EF}{AT \times 365} \quad (2)$$

где I – ингаляционное поступление вещества с питьевой водой, мг/кг×день; CDI – средняя концентрация в воздухе, мг/л (рассчитывается по формуле (3)); ED – продолжительность воздействия, лет (3–20 лет); EF – частота воздействия, день/год (365 дней /год); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

$$CDI = (X_b + X_h) \times C_w \times \Theta \quad (3)$$

где X_b – вспомогательная величина, отражающая вклад водных процедур в общую ингаляционную нагрузку (рассчитывается по формуле (4)); X_h – вспомогательная величина, отражающая вклад питьевой воды (кроме водных процедур) в общую ингаляционную нагрузку (рассчитывается по формуле (5)); Θ – эффективность массопереноса вещества из воды в воздух (рассчитывается по формуле (6)).

$$X_b = \frac{0,7 \times IR_a \times T_b \times W_b}{VR_b \times 60} \quad (4)$$

Таблица 1. Сценарий многосредового воздействия химических элементов на организм *Pavo cristatus*, содержащихся в зоологических учреждениях

Table 1. Scenario of multi-environment impact of chemical elements on the organism of *Pavo cristatus* kept in urban zoological institutions

Объект воздействия	Путь поступления		
	Ингаляторно	Перорально	Накожно
Питьевая вода	+	+	+
Продукты питания	–	+	–
Почва	+	+	+
Снег	+	+	+

+ – данный путь поступления химических элементов из среды включен в расчет доз и рисков исследования.

+ – this exposure route was included in the calculation of doses and risks.

где IR_a – скорость вентиляции при активной деятельности, $\text{м}^3/\text{кг} \times \text{час}$ ($0,02 \text{ м}^3/\text{кг} \times \text{час}$); T_b – время на ежедневные водные процедуры, мин/день (30 мин/день); W_b – водопотребление для водных процедур, л/мин (8 л/мин); VR_b – скорость вентиляции в помещении, $\text{м}^3/\text{мин}$ ($0,5 \text{ м}^3/\text{мин}$).

$$X_h = \frac{0,54 \times W_h \times IR_a \times (T_h - T_r)}{\frac{VR_h}{T_t \times IR_r \times W_h}} \quad (5)$$

где W_h – общее водопотребление, л/час (30 л/час); IR_a – скорость вентиляции при активной деятельности, $\text{м}^3/\text{кг} \times \text{час}$ ($0,02 \text{ м}^3/\text{кг} \times \text{час}$); T_h – общее время пребывания в помещении, час/день (16 час/день); T_r – продолжительность сна, отдыха, час/день (8 час/день); VR_h – скорость вентиляции в помещении, $\text{м}^3/\text{мин}$ ($360 \text{ м}^3/\text{мин}$); T_t – температура в помещении, $^{\circ}\text{C}$ (25°C); IR_r – скорость вентиляции в покое, $\text{м}^3/\text{кг} \times \text{час}$ ($0,007 \text{ м}^3/\text{кг} \times \text{час}$).

$$\text{Theta} = \frac{3000000}{2,5 \sqrt{D_w}} + R \times \frac{T}{H} D_a^{1/3} \quad (6)$$

где D_w – коэффициент диффузии в воду, $\text{см}^2/\text{с}$ ($0,1 \text{ см}^2/\text{с}$); R – универсальная газовая постоянная (8,31); T – температура в помещении, $^{\circ}\text{C}$ (25°C); H – константа закона Генри, $\text{Па} \cdot \text{м}^3/\text{моль}$ (справочное значение); D_a – коэффициент диффузии в воздух, $\text{см}^2/\text{с}$ ($0,1 \text{ см}^2/\text{с}$).

3. Питательная вода: накожное воздействие

$$DAD = \frac{DAE \times EV \times ED \times EF \times SA}{BW \times AT \times 365 \times 1000} \quad (7)$$

где DAD – поглощенная доза, $\text{мг}/\text{кг} \times \text{день}$; DAE – абсорбированная доза за одно событие на экспонируемую площадь кожи (рассчитывается по формуле (8)); EV – частота контакта, контакт/день (1 контакт/день); ED – продолжительность воздействия, лет (20 лет); EF – частота воздействия, день/год (350 дней/год); SA – площадь участка кожи, см^2 (2874 см^2); BW – масса тела, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

$$DAE = K_p \times C_w \times t_e \quad (8)$$

где K_p – коэффициент кожной проницаемости (рассчитывается по формуле (9)); C_w – концентрация вещества в воде, $\text{мг}/\text{л}$; t_e – продолжительность одного события, час/событие ($1,0 \text{ час}/\text{событие}$).

$$\log K_p = -2,8 + 0,67 \times K_{ow} - 0,0056 \times MW \quad (9)$$

где K_{ow} – коэффициент распределения, октанол/вода (справочное значение); MW – молекулярная масса, г/моль (справочное значение).

4. Снег: пероральное поступление (заглатывание)

$$I = \frac{C_w \times IR \times EF \times ED \times ET}{AT \times BW \times 365} \quad (10)$$

где I – пероральное поступление вещества, $\text{мг}/\text{кг} \times \text{день}$; C_w – концентрация вещества в снеге, $\text{мг}/\text{л}$; IR – скорость поступления, л/час ($0,05 \text{ л}/\text{час}$); EF – частота воздействия, день/год (45 дней/год); ED – продолжительность воздействия, лет (20 лет); ET – время воздействия, час/день (1 час/день); BW – масса тела, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

5. Снег: ингаляционное воздействие

$$I = \frac{CA \times IR \times EF \times ET \times ED}{AT} \quad (11)$$

где I – ингаляционное поступление вещества со снегом, $\text{мг}/\text{кг} \times \text{день}$; CA – концентрация вещества в воздухе, $\text{мг}/\text{м}^3$ (рассчитывается по формуле (12)); EF – частота воздействия, день/год (45 дней/год); ET – время воздействия, час/день (1 час/день); BW – масса тела, кг (4 кг); ED – продолжительность воздействия, лет (20 лет); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

$$CA = \frac{C_w \times V_p \times 273 \times MW}{760 \times K \times 22,4} \quad (12)$$

где C_w – концентрация вещества в снеге, $\text{мг}/\text{л}$; V_p – давление паров, мм.рт.ст. (рассчитывается по формуле (13)); MW – молекулярная масса, г/моль (справочное значение); K – температура, $^{\circ}\text{K}$ (298°K).

$$V_p = \frac{MW}{28,9} \quad (13)$$

6. Снег: накожное воздействие

$$DAD = \frac{DAE \times EV \times ED \times EF \times SA}{BW \times AT \times 3600 \times 1000} \quad (14)$$

где DAD – абсорбированная накожная доза, $\text{мг}/\text{кг} \times \text{день}$; DAE – абсорбированная доза за одно событие на экспонируемую площадь кожи (рассчитывается по формуле (8)); EV – частота контакта, событие/год (45 событий/год); ED – продолжительность воздействия, лет (20 лет); EF – частота воздействия, день/год (45 дней/год); SA – площадь участка кожи, см^2 (2874 см^2); BW – масса тела, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

7. Почва: пероральное поступление

$$I = C_s \times FI \times EF \times ET \times CF2 \times \frac{ED_c \times IR_c}{BW_c} + \frac{ED_a \times IR_a}{AT \times 365} \quad (15)$$

где I – поступление веществ с почвой, мг/кг×день; C_s – концентрация вещества в почве, мг/кг; FI – загрязненная фракция почвы, отн. ед. (1,0 отн. ед., т. е. 100 %); EF – частота воздействия, день/год (75 дней/год); ET – время воздействия, час/день (1 час/день); $CF2$ – пересчетный коэффициент, день/час ($ET/24$ дн/ч); ED_c – продолжительность воздействия, год (птицы – 3 года); IR_c – скорость поступления, мг/сут. (0,0002 мг/сут.); BW_c – масса тела молодняка, кг (2 кг); ED_a – продолжительность воздействия в зрелом возрасте, лет (20 лет); IR_a – скорость поступления молодняку, мг/сут. (0,0001 мг/сут.); BW_a – масса тела взрослых особей, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

8. Почва: ингаляционное воздействие

$$I = \frac{C_a \times IR \times ED \times EF}{BW \times AT \times 365} \quad (16)$$

где I – ингаляционное поступление, мг/кг×день; C_a – концентрация вещества в воздухе, мг/м³ (рассчитывается по формуле (17)); IR – скорость поступления, м³/сут. (10 м³/сут.); ED – продолжительность воздействия, год (3 года); EF – частота воздействия, день/год (350 дней/год); BW – масса тела, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

$$C_a = C_s \times \frac{1}{PEF} + \frac{1}{EF} \quad (17)$$

где C_s – концентрация вещества в почве, мг/кг; PEF – фактор эмиссии пылевых частиц, м³/кг (1,32×10⁹ м³/кг); EF – частота воздействия, день/год (350 дней/год).

9. Почва: накожное воздействие

$$DAD = \frac{DAE \times EF \times ED \times EV \times SA}{BW \times AT \times 365} \quad (18)$$

где DAD – абсорбированная накожная доза, мг/кг×день; DAE – абсорбированная доза за одно событие на экспонируемую площадь кожи (рассчитывается по формуле (19)); EF – частота воздействия, событие/год (350 событий/год); ED – продолжительность воздействия, год (3 года); EV – число событий в день, событие/день (1 событие/день); SA – площадь участка кожи, см² (2874 см²); BW – масса тела, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

$$DA_c = C_s \times CF \times AF \times ABS_d \quad (19)$$

где C_s – концентрация вещества в почве, мг/кг; CF – пересчетный коэффициент, кг/мг (10⁻⁶ кг/мг); AF – фактор загрязнения кожи, мг/см²×событие (0,2 мг/см²×событие); ABS_d – абсорбированная фракция, отн. ед. (неорганические вещества – 0,01).

10. Пероральное поступление с продуктами питания

$$I = \frac{CR \times C \times F \times ED \times EF}{BW \times AT \times 365} \quad (20)$$

где I – пероральное среднесуточное поступление с рационами питания, мг/день; CR – среднесуточное содержание элемента в компонентах рациона, мг/кг; C – масса компонента рациона с рационом питания на основе затребований на кормокухню и рационов питания, кг; ED – продолжительность воздействия, год (3 года); EF – частота воздействия, событие/год (365 событий/год); BW – масса тела, кг (4 кг); AT – период осреднения экспозиции, лет (канцерогены – 25 лет).

Результаты и их обсуждение

Обыкновенный павлин *Pavo cristatus* – один из самых крупных представителей отряда. Голова, шея и грудь самца синие, спина зеленая, низ тела черный. На туловище есть надхвостье из удлиненных перьев бронзово- и золотисто-зеленой окраски с металлически блестящими сине-оранжево-фиолетовыми глазками и треугольными изумрудными косицами. Самки павлинов окрашены скромнее и не имеют удлиненных перьев в надхвостье.

Средний уровень накопления Zn перьями обыкновенного павлина составил 122,74 ± 9,64 мг/кг, Cu – 5,36 ± 0,05 мг/кг, Fe – 508,06 ± 56,84 мг/кг, Pb – 6,75 ± 1,13 мг/кг, Cd – 1,65 ± 0,26 мг/кг и As – 0,61 ± 0,23 мг/кг. Вариабельность концентрации химических элементов в исследуемой выборке особей составила, %: Zn – 73,9, Cu – 94,3, Fe – 111,6, Pb – 150,0, Cd – 136,88 и As – 203,87. Средние уровни накопления элементов в биосредах убывают в ряду Fe > Zn > Cu > Pb > Cd > As, что соотносится с исследованиями ряда авторов [28].

Большой размах уровня накопления Cd и As связан с исследованиями двух разных цветовых вариаций павлинов: белой и стандартной. В ходе проведения сравнительного анализа с учетом окраски птиц установлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение концентрации Cd в 5,4 и As в 8,4 раза у стандартной вариации в сравнении с белой (табл. 2). Колебания других элементов в исследуемой выборке связано с изучением птиц, постоянно содержащихся в условиях с разной техногенной нагрузкой.

Содержание Zn для исследованного вида составляло 0,7–48,0 %, Cu – 0,04–2,8 %, Fe – 46,2–92,8 %, Pb – 0–2,5 %, Cd – 0–2,5 % и As – 0–4,6 % от суммы всех определяемых элементов. Вид проявляет чувствительность к воздействию токсичных поллютантов, которая проявляется на фоне пониженного уровня содержания в организме Zn и Cu.

Таблица 2. Элементный статус перьевого покрова цветовых вариаций особей обыкновенного павлина *Pavo cristatus*, содержащихся в искусственно созданных условияхTable 2. Elemental status of *Pavo cristatus* feather varieties obtained from urban zoological institutions

Цветовая вариация	Концентрация химических элементов, мг/кг					
	Zn	Cu	Fe	Pb	Cd	As
Белая	114,51 ± 8,40	4,75 ± 1,81	411,15 ± 39,74	4,66 ± 1,34	0,40 ± 0,72*	0*
Стандартная	126,03 ± 9,44	5,59 ± 1,80	546,82 ± 16,24	7,19 ± 1,13	2,16 ± 1,47*	0,84 ± 0,39*

* – достоверные отличия ($p < 0,05$).* – significant differences ($p < 0.05$).Таблица 3. Рацион кормления обыкновенных павлинов *Pavo cristatus* в исследуемых зоопаркахTable 3. Diets of *Pavo cristatus* in urban zoological institutions

Кормовые составы	Количество в сутки, кг на гол.		
	Московский зоопарк	Ивановский зоопарк	Ярославский зоопарк
Растительные корма			
Отруби	0,01	0,01	–
Комбикорм для кур (ПК-1)	0,1	0,1	–
Пшеница	0,15	0,15	0,08
Ячмень	0,03	0,03	0,035
Просо	0,05	0,05	–
Овсянка	0,08	0,08	–
Горох	0,05	0,05	0,03
Кукуруза	0,08	0,08	0,03
Подсолнух	0,02	0,02	0,05
Семя тыквенное	0,02	0,02	–
Фрукты разные	0,05	–	–
Ягоды разные	0,05	–	–
Морковь	0,1	0,1	0,025
Капуста	0,04	0,04	0,025
Свекла	0,02	0,02	0,005
Салат	0,05	–	–
Лук	0,02	0,02	0,01
Чеснок	0,015	–	–
Овощи разные	0,1	–	–
Масло растительное	–	–	0,003
Животные корма			
Мясо	0,015	0,015	0,015
Творог	0,015	0,015	0,03
Яйцо куриное	0,025	0,025	–
Гаммарус	0,01	–	–
Добавки			
Травяная мука	0,015	0,015	–
Костная мука	0,003	0,003	0,002

Исследуемые птицы содержались на разработанном рационе (табл. 3), сбалансированном по основным питательным показателям.

Анализ рационов питания обыкновенных павлинов, организованных на базе зоологических учреждений Москвы, Иваново и Ярославля, показал, что Zn поступает 11,35, 6,60 и 2,50 мг; Cu – 2,29, 0,75 и 0,41 мг; Fe – 55,83, 30,54 и 6,78 мг; Pb – 0,14, 0,18 и 0,01 мг; Cd – 0,02, 0,01 и 0,005 мг; As – 0,04, 0,02 и 0,002 мг соответственно. Если особь полностью

съедает весь выданный корм, то ориентировочное общее суточное поступление Zn от дневной нормы потребления элемента составляет 16,7–75,7 %, Cu – от 13,7 до 76,3 %, Fe – от 48,4 до 398,79 %. Pb, Cd и As поступают с рационами в пределах суточной нормы. Сбалансированность рационов питания по микроэлементному составу можно достичь, насыщая их продуктами, богатыми необходимыми элементами, или вводя минеральные комплексы.

В ходе анализа многомаршрутной и многосредовой экспозиции исследуемых микроэлементов на основании количественного расчета их поступления в организм было установлено превышение референтных концентраций для острого ингаляционного воздействия по Cu (0,1 мг/кг), поступающей из почвы в г. Москве, в 2,19 раза, что может привести к заболеваниям органов дыхания животных (табл. 4). Отмечено превышение референтных концентраций для хронического ингаляционного воздействия по Zn (0,0009 мг/кг), поступающему из снежного покрова и почвы, в г. Москве в 1,22 и 394,11 раза, г. Ярославле – в 1,11 и 9,78 раза соответственно, из питьевой воды в Москве – в 1,78 раза. Это способствует развитию заболеваний органов дыхания, иммунной и кровеносной систем. Выявлено превышение референтных концентраций для хронического ингаляционного воздействия Fe (0,6 мг/кг) при поступлении элемента в орга-

низм павлинов из почвенного покрова г. Москвы и Иваново – в 50,15 и 95,27 раз соответственно, что стимулирует возникновение отклонений в функционировании дыхательной системы. В г. Москве превышен в 275,8 раз уровень поступления Pb из почвы в сравнении с референтными концентрациями для хронического ингаляционного воздействия (0,0005 мг/кг). Это создает угрозу для возникновения болезней крови и развития репродуктивной и гормональной систем, почек. На всех исследуемых территориях обнаружено превышение ингаляторного уровня поступления из почвы Cd и As (референтные концентрации $2,00 \times 10^{-5}$ и $3,00 \times 10^{-5}$ мг/кг соответственно): г. Москва – в 10,0 и 790,0 раз, г. Иваново – в 15,0 и 863,33 раза, г. Ярославль – в 60,0 и 396,67 раза соответственно. Это может привести к заболеваниям почек, органов дыхания, нервной и сердечно-сосудистой систем, изменению гормонального статуса птиц,

Таблица 4. Сводная таблица для анализа многомаршрутной и многосредовой экспозиции химических элементов при поступлении в организм обыкновенного павлина *Pavo cristatus*

Table 4. Multi-route and multi-environment exposure of urban *Pavo cristatus* to chemical elements: a summary table

Путь поступления	Территория	Объекты поступления микроэлементов				
		Снег	Почва	Питьевая вода	Продукты	Сумма
Цинк, мг						
Ингаляция	№ 1	0,0011	0,3547	0,0016	—	0,3574
	№ 2	0,0002	0,0886	0,0002	—	0,0890
	№ 3	0,0010	0,0088	0,0007	—	0,0105
Перорально	№ 1	1,1749×10 ⁻⁵	0,0756	0,0133	2,8366	2,9255
	№ 2	1,6397×10 ⁻⁶	0,0189	0,0019	1,6508	1,6716
	№ 3	1,1142×10 ⁻⁵	0,0019	0,0063	0,6212	0,6294
Накожно	№ 1	0,0335	1,7838×10 ⁻⁵	0,7447	—	0,7782
	№ 2	0,0048	4,4577×10 ⁻⁶	0,1060	—	0,1108
	№ 3	0,0159	4,4432×10 ⁻⁷	0,3522	—	0,3681
Сумма	№ 1	0,0346	0,4303	0,7596	2,8366	4,0611
	№ 2	0,0050	0,1075	0,1081	1,6508	1,8714
	№ 3	0,0169	0,0107	0,3592	0,6212	1,0080
Медь, мг						
Ингаляция	№ 1	0,0001	0,2188	0,0002	—	0,2191
	№ 2	0,0002	0,0533	0,0001	—	0,0536
	№ 3	0,0002	0,0083	0,0002	—	0,0087
Перорально	№ 1	1,5041×10 ⁻⁶	0,0466	0,0057	0,5717	0,6240
	№ 2	1,6397×10 ⁻⁶	0,0114	0,0040	0,1882	0,2036
	№ 3	2,1144×10 ⁻⁶	0,0017	0,0077	0,1013	0,1107
Накожно	№ 1	0,0035	1,1×10 ⁻⁵	0,0787	—	0,0822
	№ 2	0,0048	2,6801×10 ⁻⁶	0,0560	—	0,0608
	№ 3	0,0048	4,1738×10 ⁻⁷	0,1074	—	0,1122
Сумма	№ 1	0,0036	0,2654	0,0846	0,5717	0,9253
	№ 2	0,0050	0,0647	0,0601	0,1882	0,3180
	№ 3	0,0050	0,0100	0,1153	0,1013	0,2316
Железо, мг						
Ингаляция	№ 1	0,0054	30,0977	0,0029	—	30,1060
	№ 2	0	57,1618	0,0025	—	57,1643
	№ 3	0,0028	0,7079	0,0013	—	0,7120

Окончание табл. 4.

Путь поступления	Территория	Объекты поступления микроэлементов				
		Снег	Почва	Питьевая вода	Продукты	Сумма
Железо, мг						
Перорально	№ 1	6,6736×10 ⁻⁵	6,4135	0,0962	13,9569	20,4666
	№ 2	0	12,1807	0,0839	7,6361	19,9007
	№ 3	3,4576×10 ⁻⁵	0,1508	0,0439	1,6948	1,8895
Накожно	№ 1	0,0579	0,0015	1,2874	—	1,3468
	№ 2	0,0506	0,0029	1,1237	—	1,1772
	№ 3	0,0264	3,5602×10 ⁻⁵	0,5872	—	0,6136
Сумма	№ 1	0,0633	36,5127	1,3865	13,9569	51,9194
	№ 2	0,0506	69,3454	1,2101	7,6361	78,2422
	№ 3	0,0292	0,8587	0,6324	1,6948	3,2151
Свинец, мг						
Ингаляция	№ 1	0,0003	0,1384	9,09×10 ⁻⁵	—	0,1387
	№ 2	0,0001	0	0,0001	—	0,0002
	№ 3	0,0003	0,0005	0,0002	—	0,0010
Перорально	№ 1	9,1849×10 ⁻⁷	0,0295	0,0031	0,0361	0,0687
	№ 2	4,2534×10 ⁻⁷	0	0,0047	0,0445	0,0492
	№ 3	9,4315×10 ⁻⁷	0,0001	0,0057	0,0030	0,0088
Накожно	№ 1	0,0026	3,9586×10 ⁻⁶	0,0568	—	0,0594
	№ 2	0,0039	0	0,0861	—	0,0900
	№ 3	0,0048	2,6249×10 ⁻⁸	0,1056	—	0,1104
Сумма	№ 1	0,0029	0,1679	0,0599	0,0361	0,2668
	№ 2	0,0040	0	0,0909	0,0445	0,1394
	№ 3	0,0051	0,0006	0,1115	0,0030	0,1202
Кадмий, мг						
Ингаляция	№ 1	0	0,0002	2,842×10 ⁻⁶	—	0,0002
	№ 2	0	0,0003	0	—	0,0003
	№ 3	9,9266×10 ⁻⁷	0,0012	0	—	0,0012
Перорально	№ 1	0	0,0011	9,589×10 ⁻⁵	0,0053	0,0064
	№ 2	0	5,8381×10 ⁻⁵	0	0,0031	0,0031
	№ 3	6,1644×10 ⁻⁹	0,0874	0	0,0012	0,0886
Накожно	№ 1	6,9761×10 ⁻⁵	5,5118×10 ⁻⁸	0,0016	—	0,0016
	№ 2	0	1,3779×10 ⁻⁸	0	—	1,3779×10 ⁻⁸
	№ 3	0	6,0216×10 ⁻⁸	0	—	6,0216×10 ⁻⁸
Сумма	№ 1	6,9761×10⁻⁵	0,0013	0,0016	0,0053	0,0082
	№ 2	0	0,0003	0	0,0031	0,0034
	№ 3	9,9266×10 ⁻⁷	0,0886	0	0,0012	0,0898
Мышьяк, мг						
Ингаляция	№ 1	1,1149×10 ⁻⁵	0,0237	1,1368×10 ⁻⁵	—	0,0237
	№ 2	0	0,0259	1,5631×10 ⁻⁵	—	0,0259
	№ 3	3,9352×10 ⁻⁶	0,0119	7,1048×10 ⁻⁶	—	0,0119
Перорально	№ 1	1,0479×10 ⁻⁷	0,0050	0,0004	0,0088	0,0142
	№ 2	0	0,0055	0,0005	0,0059	0,0119
	№ 3	3,6986×10 ⁻⁸	0,0026	0,0002	0,0004	0,0032
Накожно	№ 1	0,0003	1,1919×10 ⁻⁶	0,0056	—	0,0059
	№ 2	0	1,3022×10 ⁻⁶	0,0077	—	0,0077
	№ 3	0,0002	6,0333×10 ⁻⁷	0,0035	—	0,0037
Сумма	№ 1	0,0003	0,0287	0,0060	0,0088	0,0438
	№ 2	0	0,0314	0,0082	0,0059	0,0455
	№ 3	0,0002	0,0145	0,0037	0,0004	0,0188
Общее поступление	№ 1	0,1047	37,4063	2,2982	17,4154	57,2246
	№ 2	0,0646	69,5493	1,4774	9,5286	80,6199
	№ 3	0,0564	0,9831	1,2221	2,4219	4,6835

№ 1 – Московский зоопарк, № 2 – Ивановский зоопарк, № 3 – Ярославский зоопарк.

№ 1 – Moscow Zoo, № 2 – Ivanovo Zoo, № 3 – Yaroslavl Zoo.

возникновению разного рода онкологий и отклонениям в развитии. По другим показателям превышений не определено.

В результате анализа многомаршрутной и многосредовой экспозиции исследуемых ксенобиотиков на основании количественного расчета их поступления в организм было установлено превышение референтных концентраций для хронического перорального воздействия Cu (0,019 мг/кг) в Москве из почвы в 2,45 раза. Это может привести к заболеваниям желудочно-кишечного тракта и печени (табл. 4). Из почвенного покрова г. Москвы и Иваново Fe перорально поступает в концентрациях выше референтных (0,3 мг/кг) для хронического воздействия – в 21,38 и 40,60 раз соответственно. Это способствует развитию заболеваний слизистой, кожи, крови, иммунной системы. Выявлено превышение референтных концентраций для хронического перорального воздействия Pb (0,0035 мг/кг) при поступлении элемента в организм павлинов из почвенного покрова г. Москвы – в 8,43 раз и питьевой воды г. Иваново и Ярославля – в 1,34 и 1,63 раза соответственно. Это стимулирует возникновение отклонений в функционировании центральной нервной системы и кровеносной системы и нарушает биохимический состав внутренней среды, развитие репродуктивной системы и гормонального статуса организма птиц. В Москве и Ярославле уровень поступления Cd из почвы превышен в 2,2 и 174,8 раз

соответственно в сравнении с референтными концентрациями для хронического перорального воздействия (0,0005 мг/кг), что создает угрозу для возникновения болезней гормональной системы и почек. На всех исследуемых территориях обнаружено превышение перорального уровня поступления As из почвы (референтные концентрации 0,0003 мг/кг): Москва – в 16,67 раз, Иваново – в 18,33 раза, Ярославль – в 8,67 раза. Уровень перорального поступления из питьевой воды превышен в г. Москва в 1,33 раза, г. Иваново – в 1,67 раз. Хроническое увеличение перорального поступления в организм птиц мышьяка может привести к заболеваниям кожи, центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, изменению гормонального статуса (увеличивается вероятность развития диабета), нарушению в работе желудочно-кишечного тракта и почек. По другим показателям превышений не определено.

В ходе анализа многомаршрутной и многосредовой экспозиции микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, при поступлении в организм птиц было установлено, что уровень концентрации эссенциальных микроэлементов в биосредах определяется их поступлением с пищей (табл. 5).

Концентрация Zn в перьях птиц связана с их поступлением в организм с кормами на 61,63–88,21 %, Cu – на 43,74–61,79 %, Fe в Ярославле – на 52,71 % и Cd в Иваново и Ярославле – 64,63 и 91,18 % соответственно (табл. 4). Данные согласуются с

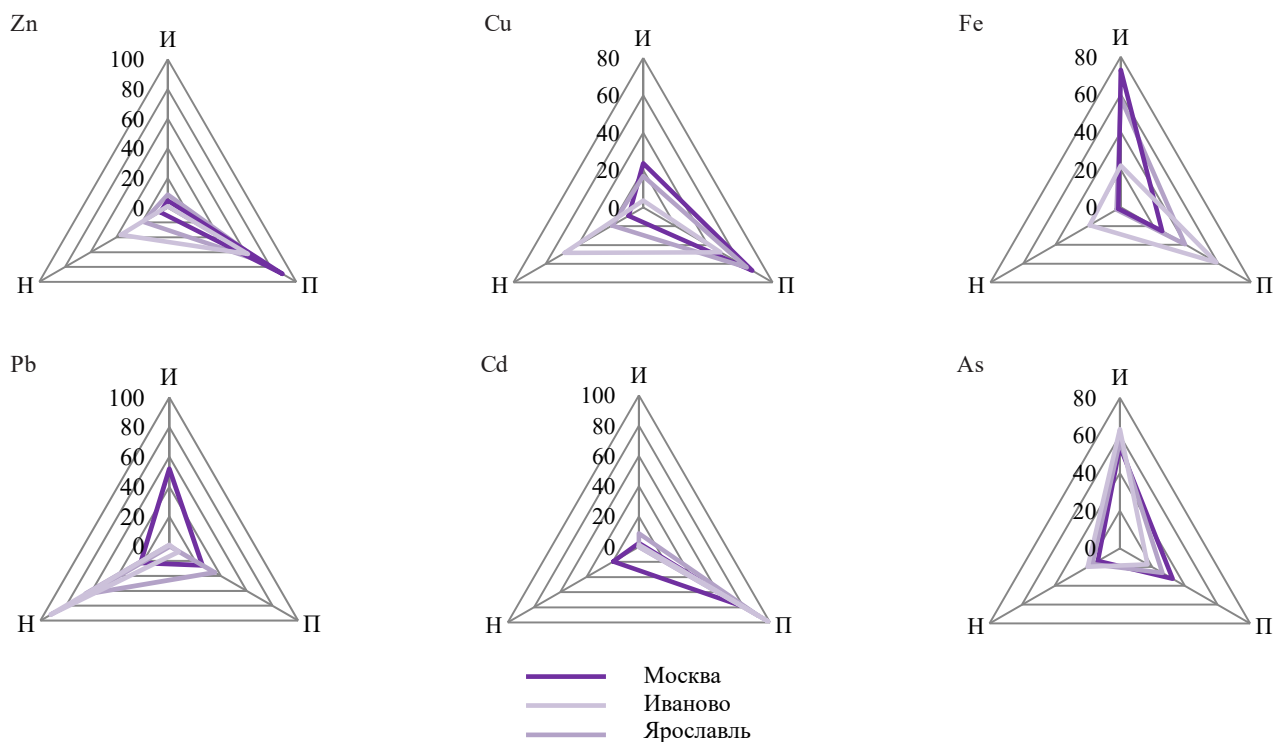
Таблица 5. Многосредовая экспозиция элементов при поступлении в организм обыкновенного павлина *Pavo cristatus*

Table 5. Multi-environment elemental exposure of *Pavo cristatus*

Химический элемент, %	Территория	Объекты поступления			
		Снег	Почва	Питьевая вода	Продукты
Цинк	№ 1	0,85	10,60	18,70	69,85
	№ 2	0,27	5,74	5,78	88,21
	№ 3	1,68	1,07	35,63	61,62
Медь	№ 1	0,39	28,68	9,14	61,79
	№ 2	1,57	20,35	18,90	59,18
	№ 3	2,16	4,32	49,78	43,74
Железо	№ 1	0,12	70,33	2,67	26,88
	№ 2	0,06	88,63	1,55	9,76
	№ 3	0,91	26,71	19,67	52,71
Свинец	№ 1	1,09	62,93	22,45	13,53
	№ 2	2,87	0	65,21	31,92
	№ 3	4,24	0,50	92,76	2,50
Кадмий	№ 1	0	15,85	19,52	64,63
	№ 2	0	8,82	0	91,18
	№ 3	0	98,66	0	1,34
Мышьяк	№ 1	0,68	65,53	13,70	20,09
	№ 2	0	69,01	18,02	12,97
	№ 3	1,06	77,13	19,68	2,13

№ 1 – Московский зоопарк, № 2 – Ивановский зоопарк, № 3 – Ярославский зоопарк.

№ 1 – Moscow Zoo, № 2 – Ivanovo Zoo, № 3 – Yaroslavl Zoo.



Поступление: И – ингаляционное, П – пероральное, Н – кожное

Рисунок 1. Анализ многомаршрутной и многосредовой экспозиции химических элементов при поступлении в организм обыкновенных павлинов, %

Figure 1. Multi-route and multi-environment exposure of *Pavo cristatus* to chemical elements, %

результатами исследований ряда авторов по поступлению эссенциальных микроэлементов в организм птиц [29]. Накопление организмом птиц Fe в Москве и Иваново связано с его поступлением из почвенного покрова – 70,33 и 88,63 % соответственно, As в Москве – 65,53 %, Иваново – 69,01 %, Ярославле – 77,13 %. Это связано с высоким уровнем содержания данных микроэлементов в депонирующей среде [13]. Наибольшее воздействие на организм птиц оказывает валовое содержание Pb в почве Москвы и питьевой воде Ярославля и Иваново. Установлено влияние валового содержания всех исследуемых элементов в почвенном покрове и питьевой воде на уровень кумуляции павлинами, за исключением влияния накопления As почвой. Снежный покров оказывал наименьшее воздействие на элементный статус биосред павлинов.

Основной путь поступления Zn (62,44–77,4 %), Cu (47,8–67,44 %), Fe в Ярославле (58,77 %) и Cd (78,05–98,67 %) – пероральный (рис. 1), Fe в Москве и Иваново (57,99 и 73,06 % соответственно), As (54,11–63,3 %), Pb в Москве (51,99 %) – ингаляционный. Наибольшее поступление Pb кожно отмечено в Иваново и Ярославле (64,57 и 91,85 % соответственно).

Выводы

Средний уровень накопления Zn перьями обыкновенного павлина *Pavo cristatus* составил $122,74 \pm 9,64$ мг/кг, Cu – $5,36 \pm 0,05$ мг/кг, Fe – $508,06 \pm 56,84$ мг/кг, Pb – $6,75 \pm 1,13$ мг/кг, Cd – $1,65 \pm 0,26$ мг/кг и As – $0,61 \pm 0,2$ мг/кг. Вариабельность концентрации микроэлементов в исследуемой выборке особей составила, %: Zn – 73,9, Cu – 94,3, Fe – 111,6, Pb – 150,0, Cd – 136,88 и As – 203,87. Средние уровни накопления элементов в биосредах убывают в ряду Fe > Zn > Cu > Pb > Cd > As. Содержание Zn составило 0,7–48,0 %, Cu – 0,04–2,8 %, Fe – 46,2–92,8 %, Pb – 0–2,5 %, Cd – 0–2,5 % и As – 0–4,6 % от суммы всех определяемых элементов. Анализ рационов питания обыкновенных павлинов, организованных на базе зоологических учреждений Москвы, Иваново и Ярославля, показал, что Zn поступает 11,35, 6,60 и 2,50 мг; Cu – 2,29, 0,75 и 0,41 мг; Fe – 55,83, 30,54 и 6,78 мг; Pb – 0,14, 0,18 и 0,01 мг; Cd – 0,02, 0,01 и 0,005 мг; As – 0,04, 0,02 и 0,002 мг соответственно. Если особь полностью съедает весь выданный корм, то ориентировочное общее суточное поступление Zn от дневной нормы потребления элемента составляет 16,7–75,7 %, Cu – от 13,7 до 76,3 %, Fe – от 48,4 до 398,79 %. Pb, Cd и As

поступают с рационами в пределах суточной нормы. Основной путь поступления Zn, Cu, Fe в Ярославле и Cd – пероральный, Fe в Москве и Иваново, As и Pb в Москве – ингаляторный. Наибольшее поступление Pb наочно отмечено в Иваново и Ярославле.

В ходе анализа многомаршрутной и многосредовой экспозиции микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, при поступлении в организм птиц было установлено, что уровень концентрации эссенциальных микроэлементов в биосредах определяется их поступлением с пищей. Накопление организмом птиц Fe (в Москве и Иваново) и As (на всех территориях исследования) связано с их поступлением из почвенного покрова, т. к. в деполирующей среде обнаружен высокий уровень содержания данных эссенциальных микроэлементов. Наибольшее воздействие на организм птиц оказывает валовое содержание Pb в почве Москвы и

питьевой воде Ярославля и Иваново. Снежный покров оказывал наименьшее воздействие на элементный статус биосред павлинов.

Критерии авторства

А. П. Каледин – руководитель проекта. М. В. Степанова и В. А. Остапенко – исполнители проводимых исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Contribution

A.P. Kaledin supervised the project. M.V. Stepanova and V.A. Ostapenko conducted the research.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Oganesyants LA, Sevostianova EM, Kuzmina EI, Ganin MYu, Chebykin EP, Suturin AN. Isotopic and chemical composition of the deep water of Lake Baikal. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(4):723–732. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-723-732>
2. Senchenko M, Stepanova M, Pozdnyakova V, Olenchuk E. Migration of microelements and heavy metals in the system “soil-plant – plant-based products”. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2021;10(6). <https://doi.org/10.15414/jmbfs.3169>
3. Azimi S, Ludwig A, Thevenot DR, Colin J-L. Trace metal determination in total atmospheric deposition in rural and urban areas. *Science of the Total Environment*. 2003;308(1–3):247–256. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00678-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00678-2)
4. Azimi S, Rocher V, Muller M, Moilleron R, Thevenot DR. Sources, distribution and variability of hydrocarbons and metals in atmospheric deposition in an urban area (Paris, France). *Science of the Total Environment*. 2005;337(1–3):223–239. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.06.020>
5. Różyło K, Świeca M, Gawlik-Dziki U, Andruszczak S, Kwiecińska-Poppe E, Kraska P. Phytochemical properties and heavy metal accumulation in wheat grain after three years' fertilization with biogas digestate and mineral waste. *Agricultural and Food Science*. 2017;26(3):148–159. <https://doi.org/10.23986/afsci.63156>
6. Baghaie AH, Fereydoni M. The potential risk of heavy metals on human health due to the daily consumption of vegetables. *Environmental Health Engineering and Management Journal*. 2019;6(1):11–16. <https://doi.org/10.15171/EHEM.2019.02>
7. Salishcheva OV, Prosekov AYU. Antimicrobial activity of mono- and polynuclear platinum and palladium complexes. *Foods and Raw Materials*. 2020;8(2):298–311. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-298-311>
8. Kaledin AP, Stepanova MV. Bioaccumulation of trace elements in vegetables grown in various anthropogenic conditions. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):10–16. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-551>
9. Allea E, Francia N, Pandolfi M, De Marinis AM, Chiarotti F, Santucci D. Organochlorine and heavy-metal contaminants in wild mammals and birds of Urbino-Pesaro province, Italy: An analytic overview for potential bioindicators. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2006;51(1):123–134. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0218-1>
10. Lodenius M, Solonen T. The use of feathers of birds of prey as indicators of metal pollution. *Ecotoxicology*. 2013;22(9):1319–1334. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1128-z>
11. Bakary T, Flibert G, Pane Bernadette S, Oumarou Z, François T, Cheikna Z, et al. Evaluation of heavy metals and pesticides contents in market-gardening products sold in some principal markets of Ouagadougou (Burkina FASO). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2019;8(4):1026–1034. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.8.4.1026-1034>
12. Harangozo E, Šnirc M, Árvay J, Bajčan D, Bystrická J, Trebichalský P, et al. The heavy metal contents in selected kind of spices. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2018;8(2):760–764. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.8.2.760-764>

13. Stepanova MV, Ostapenko VA, Kaledin AP. The content of heavy metals and arsenic in agricultural soils. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2020;86(6):15–21. (In Russ.). <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2020-86-6-15-21>
14. Nam D-H, Lee D-P. Monitoring for Pb and Cd pollution using feral pigeons in rural, urban, and industrial environments of Korea. *Science of the Total Environment*. 2006;357(1–3):288–295. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.08.017>
15. Roux KE, Marra PP. The presence and impact of environmental lead in passerine birds along an urban to rural land use gradient. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2007;53(2):261–268. <https://doi.org/10.1007/s00244-006-0174-4>
16. Wei B, Yang L. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. *Microchemical Journal*. 2010;94(2):99–107. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.09.014>
17. Berglund AMM, Koivula MJ, Eeva T. Species- and age-related variation in metal exposure and accumulation of two passerine bird species. *Environmental Pollution*. 2011;159(10):2368–2374. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.07.001>
18. Carravieri A, Bustamante P, Tartu S, Meillère A, Labadie P, Budzinski H, *et al.* Wandering albatrosses document latitudinal variations in the transfer of persistent organic pollutants and mercury to Southern Ocean predators. *Environmental Science and Technology*. 2014;48(24):14746–14755. <https://doi.org/10.1021/es504601m>
19. Frantz A, Pottier M-A, Karimi B, Corbel H, Aubry E, Haussy C, *et al.* Contrasting levels of heavy metals in the feathers of urban pigeons from close habitats suggest limited movements at a restricted scale. *Environmental Pollution*. 2012;168:23–28. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.04.003>
20. Ozpinar H, Abas I, Bilal T, Demirel G. Investigation of excretion and absorption of different zinc salts in puppies. *Laboratory Animals*. 2001;35(3):282–287. <https://doi.org/10.1258/0023677011911615>
21. Mayurnikova LA, Koksharov AA, Krapiva TV, Novoselov SV. Food fortification as a preventive factor of micronutrient deficiency. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(1):124–139. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-124-139>
22. Newman R, Waterland N, Moon Y, Tou JC. Selenium biofortification of agricultural crops and effects on plant nutrients and bioactive compounds important for human health and disease prevention – A review. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2019;74(4):449–460. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00769-z>
23. Kakimov AK, Kakimova ZhKh, Smirnova IA, Zharykbassov ES. Promising areas of zeolite application in milk purification from toxic elements. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2018;48(1):143–149. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-143-149>
24. Zenkova ML. Mineral and amino acid composition of germinated and canned wheat grains. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(4):513–521. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-513-521>
25. Golubkina NA, Nadezhkin SM, Agafonov AF, Antoshkina MS, Koshevarov AA. Onion of the collection of All-Russian Research Institute of Breeding and Seed Breeding of Vegetable Crops. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2015;31(3):11–16. (In Russ.). [Содержание железа, марганца, цинка и меди в луке репчатом коллекции ВНИИССОК / Н. А. Голубкина [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2015. Т. 31. № 3. С. 11–16.].
26. Weekley CM, Harris HH. Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chemical Society Reviews*. 2013;42(23):8870–8894. <https://doi.org/10.1039/c3cs60272a>
27. Manzoor J, Sharma M, Wani KA. Heavy metals in vegetables and their impact on the nutrient quality of vegetables: A review. *Journal of Plant Nutrition*. 2018;41(13):1744–1763. <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1462382>
28. Yakimenko NN, Kletikova LV, Ponomarev VA, Pronin VV, Noda IB. Biometal cumulation in the liver and muscles of different bird species. *Bulletin of the V.R. Filippov Buryat State Agricultural Academy*. 2017;49(4):59–67. (In Russ.). [Кумуляция биометаллов в печени и мышцах птиц разных видов / Н. Н. Якименко [и др.] // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В. Р. Филиппова. 2017. Т. 49. № 4. С. 59–67.].
29. Hunchak AV, Ratych IB, Gutty BV, Paskevych HA. Metabolic effects of iodine in poultry for its deficiency or excess in the diet. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj*. 2016;18(2–2):70–76. (In Ukr.). [Метаболическое действие Йода в организме птицы при его недостатке или излишке в рационе / А. В. Гунчак [и др.] // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького. 2016. Т. 18. № 2–2. С. 70–76. (На укр.).].

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2413>
<https://elibrary.ru/BZUHJJ>

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

Enzyme-Aided Treatment of Fruit Juice: A Review



Liew Phing Pui*^{ID}, Lejaniya Abdul Kalam Saleena^{ID}

UCSI University^{ROR}, Kuala Lumpur, Malaysia

Received: 10.06.2022

Revised: 08.09.2022

Accepted: 04.10.2022

Liew Phing Pui: puilp@ucsiuniversity.edu.my,

<https://orcid.org/0000-0001-5305-4334>

Lejaniya Abdul Kalam Saleena: <https://orcid.org/0000-0001-7852-8073>

© L.P. Pui, L.A.K. Saleena, 2023



Abstract.

Enzymatic treatment is a common method of fruit juice production that facilitates juice extraction from plant cells. The choice of enzyme depends on the fruit composition. Pectinase and cellulase are the most popular enzymes while amylase remains less wide-spread. For some raw materials, enzymatic procedures are more efficient than mechanical comminution or thermal processing. The fruit juice industry uses enzymes for streamlining. Enzymes maximize juice extraction from raw materials and improve such processes as pressing, solid settling, and solid removal. Juices that underwent enzymatic treatment are clear and, as a result, more aesthetically appealing to consumers.

The review covered the most recent and influential publications on the enzyme treatment of fruit juices (2000–2021). The list of enzymes included pectinase, cellulase, and amylase. The research included the factors that affect the juice fermentation process, i.e., hydromodule, enzyme concentration, incubation time, temperature, and enzyme combination. The methods included data extraction, data analysis, and data compilation, as well as literature search and screening.

The review focuses on the effects that individual parameters have on specific responses, e.g., yield, viscosity, total soluble solids, acidity, turbidity, clarity, pigment concentration, phenolic content, color, and solids. A greater enzyme concentration, incubation time, and temperature decrease the viscosity of juice and turbidity but cause color changes. If used in different combinations and at different concentrations, enzymes boost the production of bael pulp, banana, sapodilla, durian, pawpaw, grape, white pitaya, and water melon juices. A longer incubation period improves the production of bael pulp, citron, date, and pawpaw juices. However, higher incubation temperatures seem to have no positive effect on the juice yield. Cellulases, pectinases, amylases, and their combinations are able to produce more fruit juice of higher quality with a more favorable time-temperature combination of incubation.

The optimal enzyme concentration, incubation time, and temperature can increase the juice yield. Therefore, enzymatic treatment is an effective method that ensures favorable properties of the finished product.

Keywords. Enzyme, fruit juice, incubation time, incubation temperature, viscosity, color

For citation: Pui LP, Saleena LAK. Enzyme-Aided Treatment of Fruit Juice: A Review. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):38–48. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2413>

Применение ферментов при выработке фруктового сока: обзор



Л. П. Пуи*, Л. А. К. Салена

Университет UCSI, Куала-Лампур, Малайзия

Поступила в редакцию: 10.06.2022
Принята после рецензирования: 08.09.2022
Принята к публикации: 04.10.2022

Л. П. Пуи: puiLP@ucsiuniversity.edu.my,
<https://orcid.org/0000-0001-5305-4334>
Л. А. К. Салена: <https://orcid.org/0000-0001-7852-8073>

© Л. П. Пуи, Л. А. К. Салена, 2023



Аннотация.

Обработка сырья ферментами – распространенный метод производства фруктовых соков, способствующий наиболее полному извлечению сока из растительных клеток. Для некоторых видов сырья ферментативные процессы оказываются более эффективными, чем механическое измельчение или термическая обработка. Выбор конкретного фермента зависит от состава фруктов. Чаще всего в пищевой промышленности используются пектиназа и целлюлаза, реже – амилаза. Использование ферментов в технологическом процессе способствует рационализации производства фруктовых напитков. Ферменты способствуют максимальному извлечению сока из сырья и позволяют оптимизировать такие процессы, как отжим, отстаивание и удаление твердых частиц. Соки, прошедшие ферментативную обработку, более прозрачны и обладают большей потребительской привлекательностью.

В обзор включены актуальные и авторитетные научные публикации по ферментативной обработке фруктовых соков (2000–2021 гг.). В список ферментов для поиска вошли пектиназа, целлюлаза и амилаза. Настоящий обзор суммирует такие факторы, влияющие на процесс производства фруктового сока, как гидромодуль, концентрация фермента, время инкубации, температура и комбинация ферментов. В качестве научных методов были использованы поиск и скрининг научной литературы, извлечение данных, их анализ и компиляция.

Основное внимание в обзоре уделяется тому, как отдельные технологические параметры влияют на результат производственного процесса: выход сока, вязкость, общее количество растворимых твердых веществ, кислотность, примеси, прозрачность, концентрацию пигмента, содержание фенолов, цвет и т. д. Более высокая концентрация фермента и температура, а также более длительный период инкубации способны уменьшить вязкость сока и сделать его более прозрачным, но они вызывают изменение цвета. Оптимальная комбинация и концентрация ферментов способны повысить выработку сока из мякоти баобаба, банана, сапидиллы, дуриана, папайи, винограда, белой папайи и арбуза. Более длительная продолжительность инкубации улучшает производство сока из мякоти баобаба, цитрона, фиников и папайи. Более высокие температуры инкубации не оказывают положительного влияния на выход сока. Целлюлазы, пектиназы, амилазы и их комбинации приводят к выработке большего объема фруктового сока и способствуют повышению его качества, если технологический процесс предусматривает оптимальное сочетание температурного режима и продолжительности инкубации.

Оптимальная концентрация фермента, продолжительность инкубации и температурный режим увеличивают объем производства сока. Этот факт доказывает, что ферментативная обработка – эффективный метод производства сока, обеспечивающий готовый продукт максимально высокого качества.

Ключевые слова. Фермент, фруктовый сок, время инкубации, температура инкубации, вязкость, цвет

Для цитирования: Пуи Л. П., Салена Л. А. К. Применение ферментов при выработке фруктового сока: обзор // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 38–48. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2413>

Introduction

Enzymes have been widely applied in the food industry, where they facilitate the process of juice extraction from plant cells [1, 2]. Modern science offers novel enzymes with a wide range of uses, specificity, and new application areas [3]. When enzymes first became

part of the fruit juice industry, they boosted the yield and quality [4]. Enzymes are biological catalysts that are widely used in fruit juice production, winemaking, and brewing. Pectinases, cellulases, amylases, proteases, etc., allow juice producers to achieve the high production volume required by the market [5]. Recent studies

focus on optimizing the enzyme-assisted juice extraction process based on the quality factors of the final product [6].

Fruit juices contain colloids, e.g., pectin, cellulose, hemicellulose, lignin, and starch. Pectinase treatment is a common practice aimed at degrading pectin [7]. Table 1 summarizes the application of enzymes in the fruit juice industry. Enzymic treatment increases the juice yield and results in more transparent final products, especially in grape, apple, pear, and orange juices. Enzymes degrade the cell walls of fruit mash, resulting in a lower juice viscosity and a higher juice yield. Enzymes are known to facilitate the release of flavors, enzymes, polysaccharides and proteins from fruit juices [8]. Enzyme treatments provide a better filtration rate and a clearer finished product, which is regarded as a better quality indicator. In addition,

enzymes improve cloud stability and texture in fruit pulp. In some cases, cellulase improves the juice yield and color properties.

Table 1 demonstrates that pectinase have been the most popular research object so far. Less popular enzymes include cytolase and cellulase [9]. Pectinase and cellulase improve the general fruit juice quality by yielding more soluble solids and juice particulates. Chen *et al.* stated that enzyme concentration and incubation condition, i.e., temperature and time, affect the pectic hydrolysis [10].

Study objects and methods

This review concentrated on such enzymes as pectinase, cellulase, and amylase in fruit juice production. The list of factors included hydromodule, enzyme concentration, incubation time, temperature, and enzyme combination that affect the fermentation process of

Table 1. Variables used in the enzymatic treatment of fruit juices

Таблица 1. Переменные, используемые при ферментативной обработке фруктовых соков

Sample	Part/ Condition	Enzyme/ Enzyme trade name	Variables			Responses	References
			Enzyme concentration/ Dose	Temperature, °C	Time		
Acai	Juice	Citrozyme-Ultra L	0.01–0.2%	45	15–60 min	Clarity, color, pH, titratable acidity, total soluble solids, reducing sugar, vitamin C	[11]
Apple	Juice	Pectinex® Clear	10 U	40–50	60 min	Clarification, turbidity, viscosity, total phenols, antioxidant activity	[12]
Apricot	Pulp	Pectinase	0–1.2%	30–50	5	Juice yield	[2]
Bael	Pulp	Pectinase	0.64–7.36 mg/ 5 g pulp	28.18– 61.82	97.5–652.5 min	Juice yield, viscosity, clarity	[13]
Banana	Juice	Pectinase	5–10%	25–40	50–80 h	Polygalacturonase activity, clarity, acidity, reducing sugar	[14]
Blueberry	Juice	Pectinex® BE Colour	10 U	4–50	60 min	Viscosity, turbidity, degree of clarification, antioxidant and total phenolic content	[12]
Carambola	Juice	Pectinex® Ultra SP-L	0.10%	30–50	0.3–1.7	Turbidity, clarity, viscosity, color	[15]
Plum	Juice	Pectin methyl esterase and polygalacturonase	0.05 g/kg	50	120 min	Yield (96.8%)	[16]
Cherry	Juice	Pectinase	0–0.5% v/v	50	1 h	Turbidity	[17]
Date	Pulp	Pectinase, Cellulase	50 U, 5 U	50	120 min	Total soluble solids, polysaccharide, pH, total nitrogen, ash, total phenolic content, turbidity, sensory, color	[18]

Continuation of table 1

Sample	Part/ Condition	Enzyme/ Enzyme trade name	Variables			Responses	References
			Enzyme concentration/ Dose	Temperature, °C	Time		
Durian	Juice	Pectinex® Ultra SP-L	0.10%	38.5	3	Juice yield, total soluble solids, pH, viscosity, color, sensory	[19]
Grape	Juice	Pectinase	1.5–3 mL 100/kg	50 and 60	1 h	pH, total soluble solids, titratable acidity, turbidity, color intensity, juice yield, organic acid	[20]
Grapefruit	Peel	Pectinex® Ultra SPL, Cellulase 1.5L	1–15 and 1–10 mg/g	45	–	Yield of sugar, dry matter	[21]
Guava	Mash	Cellulase	0.048– 0.132% (w/w)	50	11.7–68.3 min	Extraction yield, total sugar, ascorbic acid, total phenolic, antioxidant activity	[22]
Lemon	Juice	Pectinase	0–1200 U/L	25–50	0–90 min	Dry matter, protein, ash, total phenolic content, turbidity, viscosity, color, clarity, pH, sugar	[23]
Litchi	Pulp	Pectinase	100–500 ppm	40	2	Total soluble solids, titratable acidity, color, sugars, ascorbic acid	[24]
Mosambi	Juice	Pectinase	0.0004% w/v	–	–	Color, clarity, total soluble solids, acidity, pH, density	[25]
Passion fruit	Juice	Pectinex® 3X L	1 mL/L	50	90 min	Turbidity, color, total soluble solids, viscosity	[26]
Peach	Juice	Pectinex® AFPL3, Ultra SP WOP	240–1200 ppm	18–45	30–150 min	Viscosity, pulp decrease	[7]
Pineapple	Juice	Cellulase, pectinase, hemicellulase	25–150 mg/100 mL	35–55	210–540 min	Juice yield, clarity, viscosity,	[27]
Pineapple	Juice	Xylanase, pectinase, cellulase	0–3%	37	270 min	Yield, clarity	[28]
Pome- granate	Juice	Pectolytic enzyme	0–15 µL/L	25	120 min	Antioxidant, juice yield, color, total soluble solids, betacyanin content	[29]
Red pittaya	Juice	Pectinex® Ultra SP-L, Pectinex® CLEAR	0.01–0.1%	30–50	20–100 min	Proximate, vitamin C, total phenolic content	[30]
Sapodilla	Juice	Pectinex® 3X L	0.03–0.10%	30–50	30–120 min	Turbidity, clarity, viscosity, color	[31]
Water- melon	Juice	Masazyme	0.01–0.1% (w/w)	30–50	20–120 min	Juice yield, total dissolved salts, viscosity, turbidity, cloud stability, lightness	[32]
White pittaya	Juice	Pectinex® Ultra SP-L	0.01–0.1%	30–50	20–100 min	Yield, viscosity, clarity, color	[33]

fruit juice. The processing approach made it possible to compile the most recent reviews and research papers on the enzyme treatment of fruit juices (2000–2021). The methods included data extraction, data analysis, and data compilation, as well as literature search and screening.

Results and discussion

Enzymes in juice production. Pectinase. Pectolytic enzymes, or pectinases, hydrolyze pectic substances. Fungi used to be the main source for commercial production of pectinases [34]. Pectinolytic enzymes are classified into two main groups: esterase and depolymerases. Esterase affects pectic substances by hydrolysis. Depolymerase happens via two mechanisms, namely hydrolysis and trans-elimination lysis [34].

Pectinex® Ultra SP-L enzyme (Novozymes, Denmark) was described as early as in 1996 as a means of mash enzyme preparation [35]. It had both pectolytic activities, including polygalacturonase, pectinlyase, pectinesterase, etc., as well as hemicellulose, cellulase, protease and amylase galactosidase, chitinase, transgalactosidase, etc. [15]. Pectinex® Ultra SP-L was reported to have a polygalacturonase activity of 26 000 U/mL at $\leq 50^\circ\text{C}$ and pH 3.5–6.0 [36]. On the other hand, Wilkins *et al.* reported that Pectinex® Ultra SP-L exhibited a pectinase activity of 233 IU/mg [21].

The major industrial application of pectinases is fruit juice extraction and clarification (Table 1) [34]. Girijesh *et al.* employed pectinase enzyme to extract kendu (*Diospyros melanoxylon* Roxb.) juice, an underused seasonal fruit that grows in India and possesses various medicinal and nutritional qualities [6]. Pectinases have been used to clarify apple, kiwi, tangerine, pineapple, sapodilla, and carambola [15]. Several other purposes of pectolytic enzymes involve liquefaction, maceration, and cloud stabilization [35]. Pectolytic liquefaction caused qualitative and quantitative changes in tropical fruit compounds and increased the volume of carotenoids released into juice [37].

Cellulase. Cellulases are a group of enzymes that catalyzes the bioconversion of cellulose into soluble sugars and glucose. These enzymes are produced by bacteria, fungi, insects, and mollusks. Cellulase components, such as endo-1,4- β -D-glucanase, exo-1,4- β -D-glucanase, and β -glucosidase, are generally produced by fungi, bacteria, and actinomycetes, either separately or as a complex. Cellulase is produced by *Trichoderma reesei*. It can be used to break down cellulosic materials, increase yield, and reduce the viscosity of soluble cellulosic substrates. Wilkins *et al.* stated that Celluclast® 1.5 L had a cellulase activity of 0.126 FPU/mg protein [21]. Cellulases are used in a variety of industries, including food industry, catering, food supply, and food preservation. Cellulases tenderize fruits, clarify fruit juices, decrease roughage in

dough, hydrolyze roasted coffee, extract tea polyphenols and essential oils from olives, and improve food flavor and taste [38].

Food industry uses cellulases to extract or clarify fruit juices. Cellulases also remove cell walls, thus facilitating the release of flavors, enzymes, polysaccharides, and proteins. According to Abdullah *et al.*, cellulase outperformed tannase in cashew apple juice extraction by 4.69% [39]. In the enzymatic extraction of sugar from date fruit, the optimal conditions for the cellulolytic enzyme included 58°C , pH 5.5, and 0.015% concentration [40].

Amylase. Amylases are one of the oldest and most important commercial biocatalysts, accounting for over 30% of the worldwide enzyme market. They find widespread commercial use in the starch processing sector, where they facilitate starch liquefaction and saccharification. Other spheres of application include baking, pulp production, paper industry, fruit juice clarification, detergents, textile desizing, and distilling [41]. Amylases have been used to process fruits that contain starch: they hydrolyze the raw material into glucose forms. This method prevents retrogradation and post-bottling haze formation, which results in a better clarification and filterability of some fruits, e.g., unripe apple [35].

Lee *et al.* treated banana juice with amylase to obtain starch hydrolysis before treating it with Pectinex® Ultra SP-L [42]. Will *et al.* added Fructamyl HT amylase (80 mL/t) into apple juice to avoid gray and foggy shade, a color defect that resulted from starch retrogradation [43].

Combinations of enzymes. Previously, scientists focused on single enzymes. Recently, scientific attention has shifted into the direction of more effective enzymic combinations. For instance, Padma *et al.* used multiple enzymes (pectinases, amylases, and cellulases) to clarify apple juice [44]. Borchani *et al.* reported the optimal treatment for prickly pear syrup using 5 U cellulase and 20 U pectinase [45].

Handique *et al.* found that 0.34% cellulase and 0.35% pectinase served as optimal conditions for banana juice extraction [46]. On the other hand, Heffels *et al.* used four commercial pectinolytic and two cellulolytic enzymes for bilberry juice extraction [47]. For palm juice extraction, the optimal ratio of pectinase:cellulase enzyme was 1:0.75 (w/w) while for blueberry juice it was 1:1 [48, 49]. In addition, Navarrete-Solis *et al.* applied response surface methodology to jackfruit juice hydrolysis, which was at its best at 1% cellzyme and pectinex enzyme treatment [50].

The results may differ from fruit to fruit. For example, when Chang *et al.* applied Pectinex® Ultra SP-L, Celluclast® 1.5L, and Fungamyl® 800 L to soursop in single or combination, Pectinex® Ultra SP-L proved to be the primary liquefaction enzyme to yield the best puree samples [51]. Bora *et al.* found out that pectinase improved banana juice yield, compared to cellulase and their combinations [52].

Effect of hydromodule on fruit juice fermentation.

Table 2 shows different applications of enzymes in liquefaction or clarification of fruits. Clarification may need numerous prior extraction stages, including hot, cold, and enzymatic extraction, to maximize the fruit juice yield. The enzymatic stage proved to be the one with the highest juice recovery yield when compared to the previous two preparatory processes [53]. Water is commonly added to aid in the extraction of fruit juice from pulp. A water to pulp ratio of 1:1 facilitated the enzyme maceration of soursop and yielded more juice from the pulp. Al-Hooti *et al.* used a higher pulp to water ratio of 1:2–1:4 to homogenize date pulp and facilitate juice extraction [9]. Norjana and Noor Aziah utilized a ratio of 1:2 (w/v) to facilitate juice extraction from durian pulp [19].

Factors that affect the properties of enzyme-treated fruit juice. Enzyme concentration. Pectinase can hydrolyze plant cell walls, causing carotenoid release from plant cells [37]. Pectinase increased the yield, soluble solids content, and clarity of asparagus juice [10]. Chauhan *et al.* also reported an increase in the total soluble solids in juices compared with pulp [2].

Table 3 illustrates the effects of enzyme concentrations on the properties of fruit juices. Sin *et al.* concluded that the enzyme concentration was the most crucial factor for sapodilla juice [31]. The yield of durian juice treated

Table 2. Extraction of fruit juices with different water percentage

Таблица 2. Экстракция фруктовых соков с разным процентным содержанием воды

Sample	Sample:water ratio/percentage	References
Banana pulp	1:2	[14]
Açai juice	30% (w/v)	[11]
Apricot, plum, mango	100 mL/kg mL	[2]
Citron waste	2:3	[54]
Date pulp	1:3	[18]
Grape pomace	1:5	[55]
Pitaya pulp	1:1	[56]

with 0.05% Pectinex® Ultra SP-L increased by 35%. Mango showed a 70–80% reduction in viscosity after pectinase liquefaction, which increased juice recovery and soluble solids.

A greater enzyme concentration resulted in a larger amount of positively charged protein. This effect reduced the electrostatic repulsion between cloud particles, and, in turn, caused aggregation of larger particles. However, these particles eventually settled down [58]. According to Nur Aliaa *et al.*, it is polysaccharides, e.g., pectin or starch, that are responsible for cloudy juice [33].

Table 3. Effect of enzyme concentrations on fruit juice properties

Таблица 3. Влияние концентрации фермента на свойства фруктового сока

Sample	Enzyme concentrations	Yield	Viscosity	Total soluble solids	pH	Titratable acidity	Ascorbic acid	Turbidity	Clarity	Pigment concentration	Phenolic content	Color	Dry matter/Alcohol insoluble solids	References
Bael pulp	0.64–7.36 mg/25 g pulp	+ve	-ve	–	–	–	–	–	+ve	–	–	–	–	[13]
Banana juice	0–0.2%	+ve	–	+ve	–	–	–	–	+ve	–	–	–	–	[57]
Carambola juice	0.01–0.1% v/v	–	-ve	–	–	–	–	-ve	-ve	–	–	L*+ve	–	[15]
Durian juice	0–0.1%	+ve	-ve	+ve	-ve	–	–	–	–	–	–	L*-ve a*-ve b*-ve	–	[19]
Grape juice	1.5–3.0 mL/100/kg	+ve	–	NS	NS	NS	–	-ve	–	–	–	NS	–	[20]
Guava juice	0.16–0.84 mg/g	–	-ve	–	–	–	+ve	–	+ve	–	–	L*+ve	–	[58]
Pawpaw juice	0–40 mg	+ve	-ve	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	[59]
Pineapple juice	25–150 mg/100 mL	–	-ve	–	–	–	–	–	+ve	–	–	–	–	[27]
Pomegranate juice	0.5–5 µL/mL	–	–	–	–	–	–	–	-ve	–	+ve	–	–	[60]
Sapodilla juice	0.03–0.1%	–	-ve	–	–	–	–	-ve	-ve	–	–	L*+ve	–	[31]
Watermelon juice	0.01–0.15% (w/w)	+ve	-ve	–	–	–	–	–	–	–	–	L*+ve	+ve	[32]
White pitaya juice	0.01–0.1%	+ve	-ve	–	–	–	–	–	+ve	–	–	+ve	–	[33]

+ve – positive effect/increases; -ve – negative effect/decreases; NS – no significant effect; – – not reported; L – brightness; a* – +red to -green component; b* – +yellow to -blue component.

+ve – положительный эффект/увеличение; -ve – отрицательный эффект/уменьшение; NS – без значимого эффекта; – – данные отсутствуют; L – яркость; a* – +красный, -зеленый; b* – +желтый, -синий.

Incubation time. Table 4 summarizes the effects of incubation time on the properties of fruit juices. Tadakittisarn *et al.* optimized incubation time to increase the yield during banana juice liquefaction [57]. They treated banana juice with 0.15% pectinase enzyme at 50°C for 120 min and obtained a yield of 59.44–65.29%, which exceeded that in the control sample (43.2%).

Norjana & Noor Aziah increased the yield of durian juice by 35% by treating the durian pulp with 0.05% pectinase for 3 h [19]. Bhat treated fruit pulp with enzymes and obtained a greater yield and a better performance [1]. Not only did this method increase the yield but it also reduced the processing time and improved the extraction of fruit compounds.

Viscosity is usually considered as an important physical characteristic related to the quality of liquid foods. Enzymes decreased viscosity due to their hydraulic action on cellulose and pectin present in the juice [31]. Domingues *et al.* found that a shorter treatment time did not reduce viscosity in passion fruit juice after 30 min of incubation [26]. In the production of banana juice, a longer treatment time was associated with an increase in filterability and clarity [42]. A longer maceration time also decreased the absorbance [33].

The highest yield of carotenoids was reported after the enzymatic maceration of orange peel. The extraction time was 12, 18, and 24 h. The experiment involved 5-,

10-, and 10-mL pectinase, respectively, per 100 g of wet peel and 0.5 g of cellulase per 100 g of cellulose [63]. Enzymes are known to disrupt cell wall, thus releasing carotenoids that bind with protein. This process prevents pigment oxidation and affects color stability, while solvent extraction causes its dissociation and affects water solubility.

The change in incubation time from 30 to 90 min was the variable that significantly affected turbidity, clarity, viscosity, color, and yield [64]. The L^* value of carambola juice decreased with time and started to increase after 80 min [15]. The increase of incubation time triggered the development of protein-tannin complex. Sin *et al.* tested sapodilla juice and managed to increase its L^* value by raising the enzyme concentration and incubation time [31].

Incubation temperature. Table 5 summarizes the different effects of incubation temperature on the properties of fruit juices. Enzymic incubation can be performed at different temperatures, but the main range is 40–50°C. The incubation temperature fell below 50°C because the high temperature deactivated the enzyme [19].

Chauhan *et al.* increased the yield of apricot, plum, and mango juice by increasing the incubation time, the optimum being 5, 5, and 6 h of incubation, respectively [2]. In terms of clarity, a longer incubation time had a positive effect on the clarity of banana juice [61].

Table 4. Effects of incubation time on fruit juice properties

Таблица 4. Влияние продолжительности инкубации на свойства фруктового сока

Sample	Incubation time	Yield	Viscosity	Total soluble solids	Ascorbic acid	Turbidity	Clarity	Pigment concentration	Phenolic/Antioxidant	Color	Dry matter/Alcohol insoluble solids	References
Bael pulp	97.5–652.5 min	+ve	+ve	–	–	–	+ve	–	–	–	–	[13]
Banana juice	20–120 min	–	-ve	–	–	–	+ve	–	+ve	–	+ve	[61]
Blackberry juice	120 min	–	-ve	–	–	–	–	+ve	–	–	–	[18]
Carambola juice	20–100 min	–	-ve	–	–	+ve	–	–	–	L^* -ve	–	[15]
Citron waste	20–80 min	+ve	–	–	–	NS	–	–	–	L^* -ve a^* +ve b^* +ve	–	[62]
Date pulp	120 min	+ve	–	+ve	–	–	–	–	–	–	–	[18]
Guava juice	0.95–11.05 h	–	-ve	–	-ve	–	+ve	–	–	L^* +ve	–	[58]
Pawpaw juice	0–360 min	+ve	-ve	–	–	–	–	–	–	–	–	[59]
Pineapple juice	210–540 h	–	-ve	–	–	–	+ve	–	–	–	–	[27]
Pomegranate juice	30–300 min	–	–	–	–	–	-ve	–	+ve	–	–	[60]
Sapodilla juice	30–120	–	-ve	–	–	-ve	-ve	–	–	L^* +ve	–	[31]
Watermelon juice	20–120 min	NS	NS	–	–	-ve	–	–	–	L^* +ve	+ve	[32]
White pittaya juice	20–100 min	-ve	+ve	–	–	–	-ve	–	–	-ve	–	[33]

+ve – positive effect/increases; -ve – negative effect/decreases; NS – no significant effect; – – not reported; L^* – brightness; a^* – +red to -green component; b^* – +yellow to -blue component.

+ve – положительный эффект/увеличение; -ve – отрицательный эффект/уменьшение; NS – без значимого эффекта; – – данные отсутствуют; L^ – яркость; a^* – +красный, -зеленый; b^* – +желтый, -синий.

Table 5. Effects of incubation temperature on fruit juice properties

Таблица 5. Влияние температуры инкубации на свойства фруктового сока

Sample	Incubation temperature	Yield	Viscosity	Total soluble solids	pH	Titrate acidity	Ascorbic acid	Turbidity	Clarity	Filterability	Pigment concentration	Phenolic/Antioxidant	Color	Dry matter/Alcohol insoluble solids	References
Bael pulp	28.18–61.82	NS	+ve	–	–	–	–	–	-ve	–	–	–	–	–	[13]
Banana juice	30–50	–	-ve	–	–	–	–	-ve	-ve	+ve	–	–	–	–	[42]
Carambola juice	30–50	–	NS	–	–	–	–	–	NS	–	–	–	TC+ve	–	[15]
Grape juice	50, 60	NS	–	NS	NS	NS	–	-ve	–	–	–	–	–	–	[20]
Guava juice	36.6–53.4	–	-ve	–	–	–	-ve	–	+ve	–	–	–	L*+ve	–	[58]
Pineapple juice	35–55	–	-ve	–	–	–	–	–	+ve	–	–	–	–	–	[27]
Pomegranate juice	20–50	–	–	–	–	–	–	–	NS	–	–	+ve	–	–	[60]
Watermelon juice	30–50	NS	-ve	–	–	–	–	-ve	–	–	–	–	L*+ve	+ve	[32]

+ve – positive effect/increases; -ve – negative effect/decreases; NS – no significant effect; – – not reported; L – brightness; TC – total color.

+ve – положительный эффект/увеличение; -ve – отрицательный эффект/уменьшение; NS – без значимого эффекта; – – данные отсутствуют; L – яркость; TC – полный цвет.

Color is an important sensory criterion for fruit juices. Sin *et al.* also stated that the enzyme clarification should be conducted under moderate temperatures because the temperature of 40–60°C facilitated enzymatic clarification in their experiment with sapodilla juice [34]. A higher temperature increased the enzymatic treatment rate in the clarification process when it stayed within the range of 40–60°C, which was below denaturation temperature.

Conclusion

Enzymes improve the sensory profile of fruit juice. The optimization parameters of enzyme treatment include enzyme concentration, incubation time, and temperature. According to this review, different enzymes applied at different concentrations increased the yield of the bael, banana, sapodilla, durian, pawpaw, grape, white pitaya, and water melon juices. A longer incubation time increased the yield of bael, citron, date, and pawpaw juices. However, a higher incubation temperature had no positive effect on any of the abovementioned raw materials. Cellulases, pectinases, and amylases, when applied individually or in combinations, increased the amount of fruit juice produced and improved its quality throughout the incubation process. A correct adjustment of the enzyme concentration, incubation time, and temperature improved the juice yield. The effect differed for each fruit, which means that juice producers

have to define the optimal conditions in each particular case. Proper enzyme concentrations, incubation times, and temperatures decreased juice viscosity, reduced turbidity, improved color, and increased yield and total soluble solids. Incubation time had a positive effect on pigment concentration, while a greater enzyme concentration increased the clarity.

Contribution

L.P. Pui reviewed scientific publications, designed the research, and wrote the manuscript. L.A.K. Saleena processed and analyzed the data, reviewed scientific publications, and edited the manuscript.

Conflict of interest

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

Критерии авторства

Л. П. Пуи – обзор научных публикаций, план исследования, текст статьи. Л. А. К. Салена – обработка и анализ данных, обзор научных публикаций, редактирование текста статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References

1. Bhat MK. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*. 2000;18(5):355–383. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00041-0](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00041-0)
2. Chauhan SK, Tyagi SM, Singh D. Pectinolytic liquefaction of apricot, plum, and mango pulps for juice extraction. *International Journal of Food Properties*. 2001;4(1):103–109. <https://doi.org/10.1081/JFP-100002190>

3. Raveendran S, Parameswaran B, Ummalya SB, Abraham A, Mathew AK, Madhavan A, et al. Applications of microbial enzymes in food industry. Food Technology and Biotechnology. 2018;56(1):16–30. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.01.18.5491>
4. Ramadan MF. Enzymes in fruit juice processing. In: Kuddus M, editor. Enzymes in food biotechnology. Production, applications, and future prospects. Academic Press; 2029. pp. 45–59. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00004-9>
5. Michele V. Enzymes in the production of juices and beverages. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2020;9(3):504–517.
6. Panda G, Vivek K, Mishra S, Pradhan RC. Characterization and optimization of process parameters for enzyme assisted extraction of kendu (*Diospyros Melanoxylon Roxb.*) fruit juice. International Journal of Fruit Science. 2021;21(1):299–311. <https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1873220>
7. Santin MM, Treichel H, Valduga E, Cabral LMC, Di Luccio M. Evaluation of enzymatic treatment of peach juice using response surface methodology. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2008;88(3):507–512. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3114>
8. Schweiggert U, Hofmann S, Reichel M, Schiever A, Carle R. Enzyme-assisted liquefaction of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc.) for the production of spray-dried and paste-like ginger condiments. Journal of Food Engineering. 2008;84(1):28–38. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.013>
9. Al-Hooti SN, Sidhu JS, Al-Saqer JM, Al-Othman A. Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. Food Chemistry. 2002;79(2):215–220. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00134-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00134-6)
10. Chen X, Xu F, Qin W, Ma L, Zheng Y. Optimization of enzymatic clarification of green asparagus juice using response surface methodology. Journal of Food Science. 2012;77(6):C665–C670. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02738.x>
11. Cesar LT, de Freitas Cabral M, Maia GA, de Figueiredo RW, de Miranda MRA, de Sousa PHM, et al. Effects of clarification on physicochemical characteristics, antioxidant capacity and quality attributes of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. Journal of Food Science and Technology. 2014;51(11):3293–3300. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0809-6>
12. Sandri IG, Lorenzoni CMT, Fontana RC, da Silveira MM. Use of pectinases produced by a new strain of *Aspergillus niger* for the enzymatic treatment of apple and blueberry juice. LWT. 2013;51(2):469–475. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.015>
13. Singh A, Kumar S, Sharma HK. Effect of enzymatic hydrolysis on the juice yield from bael fruit (*Aegle marmelos* Correa) pulp. American Journal of Food Technology. 2012;7(2):62–72. <https://doi.org/10.3923/ajft.2012.62.72>
14. Barman S, Sit N, Badwaik LS, Deka SC. Pectinase production by *Aspergillus niger* using banana (*Musa balbisiana*) peel as substrate and its effect on clarification of banana juice. Journal of Food Science and Technology. 2015;52(6):3579–3589. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1413-8>
15. Abdullah AGL, Sulaiman NM, Aroua MK, Megat Mohd Noor MJ. Response surface optimization of condition for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. Journal of Food Engineering. 2007;81(1):65–71. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.013>
16. Mieszcakowska-Frac M, Markowski J, Zbrzezniak M, Plochanski W. Impact of enzyme on quality of blackcurrant and plum juices. LWT. 2012;49(2):251–256. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.034>
17. Pinelo M, Zeuner B, Meyer AS. Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity. Food and Bioproducts Processing. 2010;88(2–3):259–265. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2009.03.005>
18. Abbès F, Bouaziz MA, Blecker C, Masmoudi M, Attia H, Besbes S. Date syrup: Effect of hydrolytic enzymes (pectinase/cellulase) on physicochemical characteristics, sensory and functional properties. LWT. 2011;44(8):1827–1834. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.020>
19. Norjana I, Noor Aziah AA. Quality attributes of durian (*Durio zibethinus* Murr) juice after pectinase enzyme treatment. International Food Research Journal. 2011;18(3):1117–1122.
20. Lima MS, Dutra MCP, Toaldo IM, Corrêa LC, Pereira GE, Oliveira D, et al. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. Food Chemistry. 2015;188:384–392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.014>
21. Wilkins MR, Widmer WW, Grohmann K, Cameron RG. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. Bioresource Technology. 2007;98(8):1596–1601. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.022>
22. Nguyen VT. Effect of binder and sweeteners on the production of effervescent artichoke (*Cynara scolymus* L.) tea tablets. Journal of Food Process and Preservation. 2013;37(6):1078–1083. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00808.x>
23. Maktouf S, Neifar M, Drira SJ, Baklouti S, Fendri M, Châabouni SE. Lemon juice clarification using fungal pectinolytic enzymes coupled to membrane ultrafiltration. Food and Bioproducts Processing. 2014;92(1):14–19. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.07.003>
24. Vijayanand P, Kulkarni SG, Prathibha GV. Effect of pectinase treatment and concentration of litchi juice on quality characteristics of litchi juice. Journal of Food Science and Technology. 2010;47(2):235–239. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0023-3>

25. Rai P, Majumdar GC, Jayanti VK, Dasgupta S, De S. Alternative pretreatment methods to enzymatic treatment for clarification of mosambi juice using ultrafiltration. *Journal of Food Process Engineering*. 2006;29(2):202–218. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2006.00058.x>
26. Domingues RCC, Junior SBF, Silva RB, Madrona GS, Cardoso VL, Reis MHM. Evaluation of enzymatic pretreatment of passion fruit juice. *Chemical Engineering Transactions*. 2011;24:517–522. <https://doi.org/10.3303/CET1124087>
27. Kumar S, Sharma HK. Comparative effect of crude and commercial enzyme on the juice recovery from pineapple (*Ananas comosus*) using principal component analysis (PCA). *Food Science and Biotechnology*. 2012;21(4):959–967. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0126-x>
28. Pal A, Khanum F. Efficacy of xylanase purified from *Aspergillus niger* DFR-5 alone and in combination with pectinase and cellulose to improve yield and clarity of pineapple juice. *Journal of Food Science and Technology*. 2011;48(5):560–568. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0175-1>
29. Rinaldi M, Caligiani A, Borgese R, Palla G, Barbanti D, Massini R. The effect of fruit processing and enzymatic treatments on pomegranate juice composition, antioxidant activity and polyphenols content. *LWT*. 2013;53(1):355–359. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.015>
30. Nur'Aliaa AR, Siti Mazlina MK, Taip FS. Effects of commercial pectinases application on selected properties of red pitaya juice. *Journal of Food Process Engineering*. 2011;34(5):1523–1534. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00388.x>
31. Sin HN, Yusof S, Sheik Abdul Hamid N, Rahman RA. Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 2006;73(4):313–319. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.01.031>
32. Saxena A, Maity T, Raju PS, Bawa AS. Degradation kinetics of colour and total carotenoids in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) bulb slices during hot air drying. *Food Bioprocess and Technology*. 2012;5(2):672–679. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0409-2>
33. Nur'Aliaa AR, Siti Mazlina MK, Taip FS, Liew Abdullah AG. Response surface optimization for clarification of white pittaya juice using a commercial enzyme. *Journal of Food Process Engineering*. 2010;33(2):333–347. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00277.x>
34. Jayani RS, Saxena S, Gupta R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*. 2005;40(9):2931–2944. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.026>
35. Saxena S. Microbial enzymes and their industrial applications. In: Saxena S, editor. *Applied microbiology*. New Delhi: Springer; 2015. pp. 121–154. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2259-0_9
36. Kashyap DR, Vohra PK, Chopra S, Tewari R. Applications of pectinases in the commercial sector: A review. *Bioresource Technology*. 2001;77(3):215–227. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00118-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00118-8)
37. Essa HA, Salama MF. Effect of macerate enzymes on the yield, quality, volatile compounds and rheological property of prickly pear juice. *Nahrung*. 2002;46(4):245–250. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20020701\)46:4<245::AID-FOOD245>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20020701)46:4<245::AID-FOOD245>3.0.CO;2-I)
38. Ejaz U, Sohail M, Ghanemi A. Cellulases: From bioactivity to a variety of industrial applications. *Biomimetics*. 2021;6(3). <https://doi.org/10.3390/biomimetics6030044>
39. Abdullah S, Pradhan RC, Mishra S. Effect of cellulase and tannase on yield, ascorbic acid and other physicochemical properties of cashew apple juice. *Fruits*. 2021;76(2):51–60. <https://doi.org/10.17660/th2021/76.2.1>
40. Samira B, Mehrdad A, Chamani M, Gerami A. Optimization of enzymatic extraction of sugars from Kabkab date fruit. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2011;7(2):211–216.
41. Soy S, Nigam VK, Sharma SR. Enhanced production and biochemical characterization of a thermostable amylase from thermophilic bacterium *Geobacillus icigianus* BITSNS038. *Journal of Taibah University for Science*. 2021;15(1):730–745. <https://doi.org/10.1080/16583655.2021.2002549>
42. Lee WC, Yusof S, Hamid NSA, Baharin BS. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *Journal of Food Engineering*. 2006;73(1):55–63. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.01.005>
43. Will F, Schulz K, Ludwig M, Otto K, Dietrich H. The influence of enzymatic treatment of mash on the analytical composition of apple juice. *International Journal of Food Science and Technology*. 2002;37(6):653–660. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00597.x>
44. Padma PN, Sravani P, Misha P, Sneha N, Anuradha K. Synergistic effect of multiple enzymes on apple juice clarification. *Indian Journal of Science and Technology*. 2017;10(10):1–5. <https://doi.org/10.17485/ijst/2017/v10i10/107716>
45. Borchani M, Masmoudi M, Amira AB, Abbès F, Yaich H, Besbes S, *et al.* Effect of enzymatic treatment and concentration method on chemical, rheological, microstructure and thermal properties of prickly pear syrup. *LWT*. 2019;113(6). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108314>
46. Handique J, Bora SJ, Sit N. Optimization of banana juice extraction using combination of enzymes. *Journal of Food Science and Technology*. 2019;56(6):3732–3743. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03845-z>

47. Heffels P, Bührle F, Schieber A, Weber F. Influence of common and excessive enzymatic treatment on juice yield and anthocyanin content and profile during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) juice production. *European Food Research and Technology*. 2017;243(1):59–68. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2722-0>
48. Mohanty S, Mishra S, Pradhan RC. Optimization of enzymatic extraction and characterization of palm (*Borassus flabellifer*) juice. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018;12(5):2644–2656. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9882-5>
49. Ji Y-J, Im M-H. Optimization of blue berry extraction for beverage production using enzyme treatment. *Korean Journal of Food Preservation*. 2017;24(1):60–67. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.1.60>
50. Navarrete-Solis A, Hengl N, Ragazzo-Sánchez JA, Baup S, Calderón-Santoyo M, Pignon F, et al. Rheological and physicochemical stability of hydrolyzed jackfruit juice (*Artocarpus heterophyllus* L.) processed by spray drying. *Journal of Food Science and Technology*. 2019;57(2):663–672. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04098-6>
51. Chang LS, Karim R, Mohammed AS, Ghazali HM. Characterization of enzyme-liquefied soursop (*Annona muricata* L.) puree. *LWT*. 2018;94(8):40–49. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.027>
52. Bora SJ, Handique J, Sit N. Effect of ultrasound and enzymatic pre-treatment on yield and properties of banana juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2017;37(5):445–451. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.039>
53. Ninga KA, Carly Desobgo ZS, De S, Jong Nso E. Pectinase hydrolysis of guava pulp: Effect on the physicochemical characteristics of its juice. *Heliyon*. 2021;7(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08141>
54. Lim LBL, Chieng HI, Wimmer FL. Nutrient composition of *Artocarpus champeden* and its hybrid (*Nanchem*) in Negara Brunei Darussalam. *ASEAN Journal of Science and Technology for Development*. 2011;28(2):122–138. <https://doi.org/10.29037/ajstd.39>
55. Ferri M, Bin S, Vallini V, Fava F, Michelini E, Roda A, et al. Recovery of polyphenols from red grape pomace and assessment of their antioxidant and anti-cholesterol activities. *New Biotechnology*. 2016;33(3):338–344. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.12.004>
56. Tze NL, Han CP, Yusof YA, Ling CN, Talib RA, Taip FS, et al. Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. *Food Science and Biotechnology*. 2012;21(3):675–682. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0088-z>
57. Tadakkittisarn S, Haruthaithanasan V, Chompreeda P, Suwonsichon T. Optimization of pectinase enzyme liquefaction of banana “Gros Michel” for banana syrup production”, *Kasetsart Journal – Natural Science*. 2007;41(4):740–750.
58. Kaur S, Sarkar BC, Sharma HK, Singh C. Response surface optimization of conditions for the clarification of guava fruit juice using commercial enzyme. *Journal of Food Process Engineering*. 2011;34(4):1298–1318. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00414.x>
59. Djokoto D, Dzogbefia VP, Oldham JH. Rapid extraction of pawpaw juice with the application of locally produced pectic enzymes from *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 51712. *Food Biotechnology*. 2006;20(1):31–41. <https://doi.org/10.1080/08905430500523970>
60. Neifar M, Ellouze-Ghorbe R, Kamoun A, Baklouti S, Mokni A, Jaouani A, et al. Effective clarification of pomegranate juice using laccase treatment optimized by response surface methodology followed by ultrafiltration. *Journal of Food Process Engineering*. 2011;34(4):1199–1219. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00523.x>
61. Sagu ST, Nso EJ, Karmakar S, De S. Optimisation of low temperature extraction of banana juice using commercial pectinase. *Food Chemistry*. 2014;151:182–190. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.031>
62. Lim JY, Yoon H-S, Kim K-Y, Kim K-S, Noh J-G, Song IG. Optimum conditions for the enzymatic hydrolysis of citron waste juice using response surface methodology (RSM). *Food Science and Biotechnology*. 2010;19(5):1135–1142. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0162-3>
63. Çinar I. Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. *Process Biochemistry*. 2005;40(2):945–949. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.02.022>
64. Umsza-Guez MA, Rinaldi R, Silva Lago-Vanzela E, Martin N, da Silva R, Gomes E, et al. Effect of pectinolytic enzymes on the physical properties of caja-manga (*Spondias cytherea* Sonn.) pulp. *Food Science and Technology*. 2011;31(2):517–526. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200037>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2414>
<https://elibrary.ru/DAHAKZ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Конверсия пшеничных отрубей в целевые продукты биосинтеза



Н. А. Погорелова*^{ID}, Н. Б. Гаврилова^{ID}

Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина^{ROR}, Омск, Россия

Поступила в редакцию: 04.05.2022
Принята после рецензирования: 02.09.2022
Принята к публикации: 04.10.2022

*Н. А. Погорелова: na.pogorelova@omgau.org,
<https://orcid.org/0000-0001-8495-3869>
Н. Б. Гаврилова: <https://orcid.org/0000-0001-8544-4214>

© Н. А. Погорелова, Н. Б. Гаврилова, 2023



Аннотация.

Интенсификация процесса биоконверсии возобновляемых ресурсов растительного происхождения является приоритетным направлением современной биотехнологии. Важной стороной проведения обработки и предобработки целлюлозного сырья (в том числе отрубей) является получение в конечном продукте высокого содержания редуцирующих веществ. Цель исследования – определение оптимальных условий химической трансформации растительных полимеров для получения биологически ценных веществ. Это позволит снизить себестоимость конечного продукта биотехнологического производства.

В данной работе конверсию полимеров пшеничных отрубей осуществляли в процессе химической обработки серной кислотой. Оценка степени конверсии полимеров проводилась на нативных и механически активированных пшеничных отрубях фракции 600, 200 и 100 мкм. Исследования кинетики процесса высокотемпературного химического гидролиза механически активированных пшеничных отрубей осуществляли при варьировании технологических параметров: в диапазоне температуры 120–130 °С, концентрации серной кислоты 0,6–0,9 %, продолжительности обработки 30–60 мин и гидромодуле 1:8;9;10. Количественный и качественный состав моно- и дисахаридов гидролизатов определяли методом ВЭЖХ. В работе использовали комплекс общепринятых и стандартных методов исследований.

Определение состава пшеничных отрубей показало низкое содержание в них лигнина (7,55 %), высокое – пентозанов (17,9 %). Были определены оптимальные технологические условия трансформации полисахаридов с наибольшим содержанием редуцирующих веществ в гидролизатах – 640 мг/г отрубей: гидромодуль 1:10, температура 120 °С, продолжительность 45 мин и концентрация серной кислоты 0,9 %. Наибольшее изменение содержания моно- и дисахаридов гидролизатов установили для пентоз, количество их в пересчете на ксилозу – 78,2 мг/г отрубей. Количество легкогидролизуемых углеводов и клетчатки пшеничных отрубей при химической обработке уменьшалось на 80 и 19 % соответственно.

В данном исследовании установили оптимальные параметры химического гидролиза пшеничных отрубей для их конверсии в целевые продукты биосинтеза – биологически ценные углеводы. Это является перспективным направлением исследований и практического их использования в производстве биотоплива, химических веществ и пищевых добавок.

Ключевые слова. Отруби, гидролиз, полимеры, целлюлоза, хроматография, механическая активация, конверсия.

Финансирование. Работа выполнена на базе кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии Омского государственного аграрного университета им. П. А. Столыпина (Омский ГАУ)^{ROR} в рамках договора НИР с Министерством сельского хозяйства и природопользования Омской области.

Для цитирования: Погорелова Н. А., Гаврилова Н. Б. Конверсия пшеничных отрубей в целевые продукты биосинтеза // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 49–59. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2414>

Conversion of Wheat Bran into Target Biosynthetic Products



Natalya A. Pogorelova*, Natalya B. Gavrilova

P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University, Omsk, Russia

Received: 04.05.2022

Revised: 02.09.2022

Accepted: 04.10.2022

*Natalya A. Pogorelova: na.pogorelova@omgau.org,

<https://orcid.org/0000-0001-8495-3869>

Natalya B. Gavrilova: <https://orcid.org/0000-0001-8544-4214>

© N.A. Pogorelova, N.B. Gavrilova, 2023



Abstract.

A more efficient bioconversion of renewable plant resources is a priority in modern biotechnology. An important aspect of the processing and pretreatment of cellulose raw materials is to obtain a high content of reducing substances in the final product. The present research objective was to determine the optimal conditions for the chemical transformation of plant polymers to obtain biologically valuable substances. The research results will reduce the final cost of biotechnological production. This research featured wheat bran polymers treated with sulfuric acid and relied on a set of standard research methods. The degree of polymer conversion was tested on native and mechanically activated wheat bran fractions of 600, 200, and 100 microns. The kinetics of the high-temperature chemical hydrolysis was as follows: temperature – 120–130°C, sulfuric acid concentration – 0.6–0.9%, treatment time – 30–60 min, hydromodule – 1:8;9;10. The quantitative and qualitative composition of mono- and disaccharides of hydrolysates was determined using the high performance liquid chromatography method. The composition of wheat bran showed a low content of lignin (7.55%) and a high content of pentosans (17.9%). The highest content of reducing substances in hydrolysates was 640 mg/g bran. The optimal technological conditions with the highest content of reducing substances were as follows: hydromodulus – 1:10, temperature – 120°C, treatment time – 45 min, and sulfuric acid concentration – 0.9%. The greatest change in the content of mono- and disaccharides of hydrolysates belonged to pentoses: 78.2 mg/g of bran (in terms of xylose). The amount of easily hydrolysable carbohydrates and wheat bran fiber decreased by 80 and 19%, respectively.

This research revealed the optimal parameters for the chemical hydrolysis of wheat bran to obtain biologically valuable carbohydrates. This area of research can be of practical use for producers of biofuels, chemicals, and food additives.

Keywords. Wheat bran, chemical hydrolysis, carbohydrate-containing raw materials, chromatography, mechanical activation

Funding. The research was performed on the premises of the Department of Food and Food Biotechnology of the P.A. Stolypin Omsk State Agrarian University (Omsk SAU) as part of research agreement with the Ministry of Agriculture and Nature Management of the Omsk Region.

For citation: Pogorelova NA, Gavrilova NB. Conversion of Wheat Bran into Target Biosynthetic Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):49–59. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2414>

Введение

Управление процессами конверсии возобновляемых растительных ресурсов с целью получения биологически ценных углеводов и белков является перспективным направлением исследований. Пшеничные отруби и отходы мукомольного производства рассматриваются как высокопотенциальный крахмалцеллюлозный ресурс биомассы для промышленного производства биотоплива, дрожжевой биомассы и других товарных биопродуктов [1, 2]. Основные полисахаридные фракции пшеничных отрубей – крахмал, целлюлоза и гемицеллюлозы – могут подвергаться химическому

и/или микробному превращению в биотопливо, химические вещества, пищевые добавки или материалы при реализации крупнотоннажных производств [3, 4]. Эффективной конверсии биомассы препятствуют структурные особенности и химическая устойчивость к дегидратации и деградации полимеров углеводной природы. Низкая способность к трансформации лигнинцеллюлозной фракции обусловлена кристаллической структурой и степенью полимеризации крахмала и целлюлозы, а также количеством гемицеллюлозы и лигнина растительного сырья [5].

Важным этапом технологического процесса является предварительная обработка, направленная на активацию полимеров биомассы, а именно их структурные разрушения различными методами: физическими (измельчение, шлифование), химическими (кислота, щелочь и ионная жидкость), биологическими (микроорганизмы, разлагающие биомассу) или физико-химическими (горячая вода, паровой взрыв и мокрое окисление) [6, 7].

В ряде исследований определены оптимальные условия и способы предварительной обработки, а также их комбинации на примере целлюлозосодержащих отходов переработки рисовых отрубей, кофейных зерен, сои, пивной дробины и т. д., которые позволяют повысить в последующей стадии биотрансформации выход и скорость образования продукта [8–11]. Химическую трансформацию целлюлозосодержащего сырья в «мягких» условиях под действием неорганических кислот используют в производстве биоэтанола в качестве предварительной обработки кислотного гидролиза, предшествующей ферментативному гидролизу растительного сырья, а также при производстве растительных белково-углеводных кормов (В. И. Панфилов, 2014) [12, 13]. Такая предварительная обработка приводит к деполимеризации и физико-химической модификации лигноцеллюлозных компонентов. Это определяет экологическую и экономическую целесообразность коммерческого производства продуктов на биологической основе [14, 15].

Исходя из литературных данных, можно предположить, что реакционную способность углеводсодержащего сырья можно увеличить с помощью предварительной механической обработки твердого целлюлозного субстрата в мельницах или специальных активаторах [16, 17]. Основными факторами, влияющими на повышение реакционной способности растительного сырья, являются механическое разрушение тканей и клеток, уменьшение размера частиц и изменение структуры компонентов сырья [18, 19]. Данная гипотеза подтверждается тем, что в результате измельчения лигноцеллюлозных материалов происходит увеличение удельной поверхности субстрата и изменение его структуры, а следовательно, повышение площади поверхности субстрата, доступного как для химического воздействия, так и биологического.

Реализация комплексных безотходных технологий переработки вторичного сырья остается одной из самых важных и актуальных задач. Поэтому исследования по использованию высокотемпературного химического гидролиза полисахаридов предварительно механически активированных пшеничных отрубей при варьировании технологических параметров (температура,

концентрация неорганических кислот, гидромодуль, продолжительность обработки) актуальны.

Цель данного исследования – оценить степень эффективности трансформации полисахаридов растительного сырья (пшеничных отрубей) методом химического гидролиза.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись нативные пшеничные отруби производства ООО «МельКом» по ГОСТ 7169-17, ГОСТ 27558-87 и ГОСТ 27668-88. Предобработка пшеничных отрубей предполагала их механическую активацию в центробежной роликовой мельнице РМ-20, оснащенной водяным охлаждением (производство Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск), с получением фракции пшеничных отрубей 100 мкм. Режимы механической обработки – 20 и 40 Гц.

Все экспериментальные исследования процесса высокотемпературного гидролиза серной кислотой вторичного сырья осуществляли по отработанным методикам на установке высокого давления.

Использовали следующие технологические параметры процесса химического гидролиза пшеничных отрубей (рис. 1):

- гидромодуль: 1:8, 1:9 и 1:10;
- температура: 120–130 °С;
- концентрация серной кислоты: 0,6–0,9 %;
- продолжительность обработки: 30–60 мин.

Образцы полученных гидролизатов исследовали по отработанным методикам:

- количество легкогидролизуемых углеводов (крахмала) по ГОСТ 26176-91;
- массовую долю влаги по ГОСТ 9404-88;
- массовую долю клетчатки по ГОСТ 31675-2012;
- массовую долю сырого протеина по ГОСТ 13496.4-93;
- количество редуцирующих сахаров по ГОСТ 53973-2010.

Количество аминного азота определяли по методу Попа-Стивенса (Государственная фармакопея РФХИП: ОФС.1.2.3.0022.15). Сущность данной методики заключается во взаимодействии аминокислот в щелочном растворе с ионами двухвалентной меди и последующем обратном йодометрическом титровании.

Для определения содержания кислотонерастворимого лигнина и пентозанов использовали классические методики для целлюлозосодержащего сырья (А. В. Оболенская и др., 1991).

Состав моно- и дисахаридов гидролизатов определяли методом ВЭЖХ. Исследуемые образцы и калибровочные точки анализировали на ВЭЖХ-хроматографе Миллихром А-02 со следующими параметрами:

- сорбент хроматографической колонки Prontosil-C18;
- температура анализа 40 °С;
- давление в колонке 3–7 МПа;

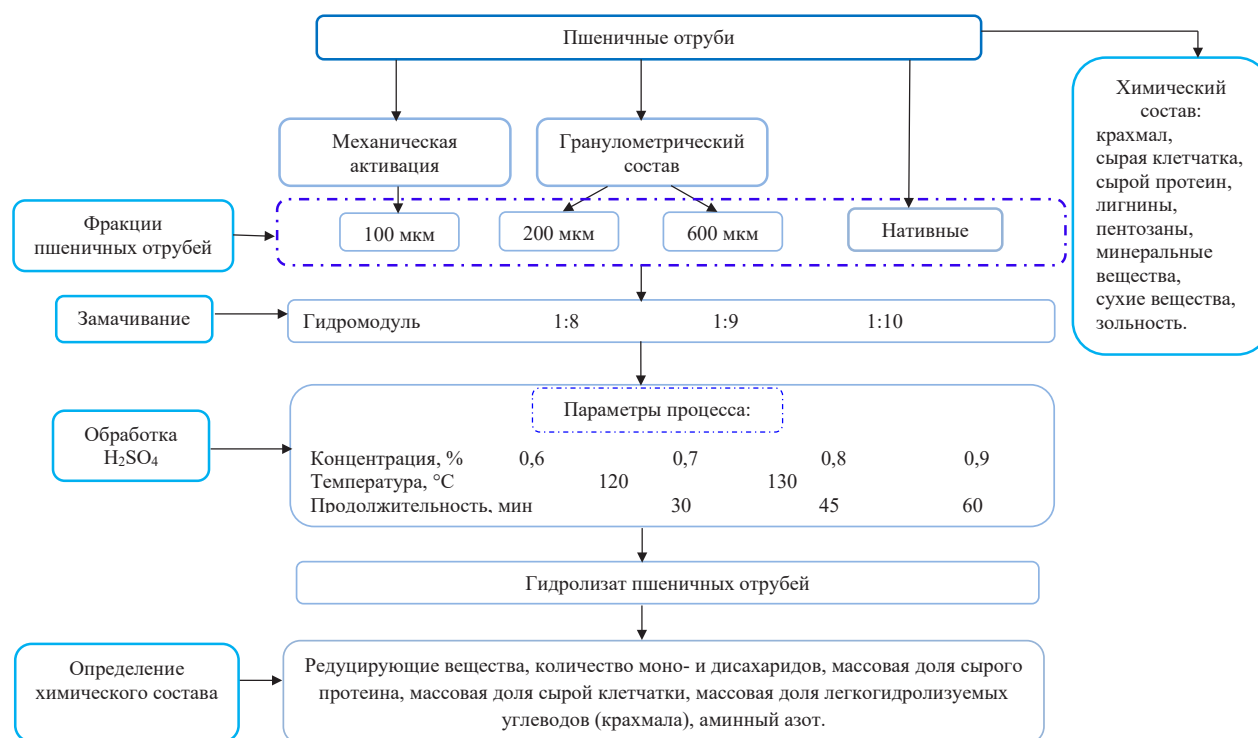


Рисунок 1. Схема исследования химического гидролиза пшеничных отрубей

Figure 1. Chemical hydrolysis of wheat bran: research design

- детектор фотометрический;
- длины волн 220, 310, 350 и 400 нм;
- режим анализа градиентный (растворитель Б – от 20 до 22 % за 3000 мкл);
- расход элюента 250 мкл/мин;
- объем пробы 2 мкл [20].

Оценка воспроизводимости экспериментов при реализации процессов высокотемпературного гидролиза проведена по трем повторностям. Обработку полученных результатов исследования проводили с помощью программы STATISTICA 6.0, которая включает в себя широкий набор основных статистик в понятном русифицированном интерфейсе со всеми преимуществами.

Результаты и их обсуждение

Пшеничные отруби являются отходами мукомольного производства. В результате помола зерна в муку происходит механическое отделение содержимого эндосперма от остальных морфологических структур зерновки. Целостность структур зерновки нарушается, и под микроскопом видны клетки алейронового слоя в виде отдельных однослойных участков, состоящих из кубических клеток. Размеры частиц и фракционный состав пшеничных отрубей определяет степень и скорость трансформации растительных полимеров. На основании полученных расчетных данных (табл. 1)

Таблица 1. Гранулометрический состав пшеничных отрубей

Table 1. Granulometric composition of wheat bran

Размер частиц фракций пшеничных отрубей, мкм	Массовая доля, %
630	9,9
560	4,9
360	40,5
250	21,2
140	13,5
< 100	8,1

определили гранулометрический состав образцов пшеничных отрубей. Фракция пшеничных отрубей с размером частиц 360 мкм составляет около 40,5 % от общей массы всех фракций.

Определение химического состава и характеристики растительного сырья является необходимым этапом следующих экспериментальных исследований. Характеристики пшеничных отрубей, отобранных для проведения химической трансформации, представлены в таблице 2.

В исследуемых нативных пшеничных отрубях обнаружено высокое количество пентозанов и низкое количество лигнина по сравнению с исследованными ранее образцами другого растительного

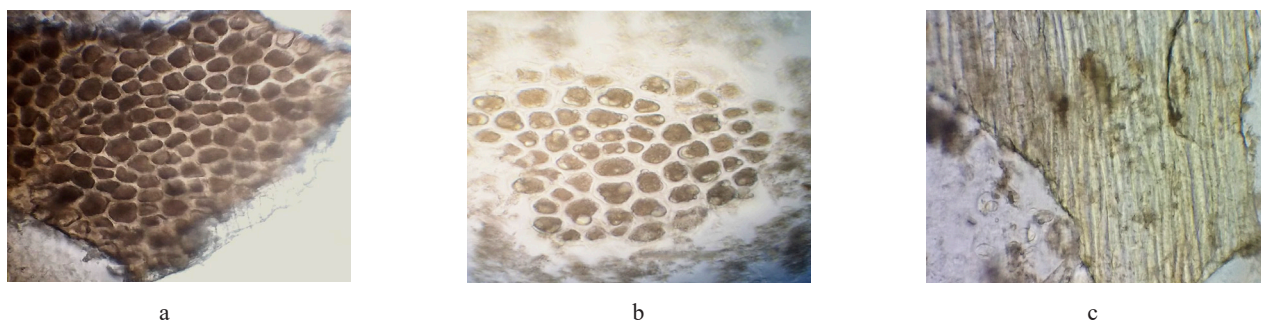


Рисунок 2. Пшеничные отруби: клетки алейронового слоя нативных (а) и набухших (б) отрубей, семенная оболочка (с) – целлюлоза

Figure 2. Wheat bran: cells of the aleurone layer of native bran (a), swollen (b) bran, and seed coat (c) – cellulose

Таблица 2. Химические характеристики растительного сырья – пшеничных отрубей

Table 2. Chemical profile of wheat bran

Показатель	Значение показателя
Сухие вещества, %	90,82 ± 0,12
Зольность*, %	5,98 ± 0,28
Сырая клетчатка, %	8,50 ± 1,30
Сырой протеин, %	14,70 ± 0,46
Лигнин*, %	7,55 ± 0,39
Пентозаны*, %	17,90 ± 0,01
Крахмал, %	17,80 ± 2,80
C _{cu} , мг/кг	46,20
C _{sc} , мг/кг	0,16

* – в пересчете на сухой материал.

* – in terms of solids.

сырья – соломы пшеницы, кукурузы, древесины хвойных и лиственных растений [21]. Полученные экспериментальные результаты коррелируют с данными, представленными в научной литературе отечественных и зарубежных авторов (Б. А. Кареткин и др., 2014; F. Carvalho, 2004) [21, 22].

При увлажнении пшеничных отрубей захват влаги происходит вначале клетками плодовой оболочки, имеющими ячеистую структуру, а затем капиллярами, порами и пустотами, играющими роль запасных резервуаров для воды всех тканей зерна: плодовая и семенная оболочка, алейроновый слой, зародыш и крахмальные зерна.

Содержимое клеток алейронового слоя является однородным (рис. 2а), занимает весь объем и плотно прилегает к оболочке. Группа клеток представляет собой компактное образование из разорванного алейронового слоя.

Клетки алейронового слоя, несмотря на отделение от зерна, механическую обработку в результате помола и отсутствие влаги, сохраняют свою жизнеспособность. При замачивании пшеничных

отрубей происходит набухание оболочек и образование в клетках множества мелких и одной или двух крупных вакуолей (рис. 2б). Целлюлоза семенных оболочек отрубей представлена в виде отдельных морфологических образований, похожих на клетки структурами (рис. 2с), но в этих структурах нет ни ядра, ни компонентов соответствующих клеток.

В результате измельчения пшеничных отрубей происходит увеличение их удельной поверхности и разупорядочение структуры, доступной для химического и биологического воздействия. Кроме того, гидролиз целлюлозы и крахмала растительного сырья затрудняют сопутствующие биополимеры: лигнин, гемицеллюлозы и пектины, а также кристалличность целлюлозы. Поэтому для увеличения реакционной способности сырья используют механический способ предварительной обработки, направленный на разрушение кристаллической структуры целлюлозы физическим воздействием. Измельчение пшеничных отрубей проводили на дисковой коллоидной мельнице с дальнейшим рассеиванием на фракции 600 и 200 мкм в соответствии с техническим заданием НИР.

На рисунке 3 представлено изменение содержания редуцирующих веществ гидролизатов отрубей при контролируемых параметрах химической обработки серной кислотой (C_{H₂SO₄} = 0,7 %, T = 120 °C, t = 60 мин) нативных и исследуемых фракций пшеничных отрубей.

При увеличении гидромодуля происходит изменение содержания редуцирующих веществ: уменьшение в гидролизатах и увеличение на единицу массы пшеничных отрубей. Наибольший выход редуцирующих веществ установлен для гидромодуля 1:9. Снижение количества редуцирующих веществ гидролизатов для фракции пшеничных отрубей 200 мкм при гидромодуле 1:10 может объясняться дальнейшей деструкцией моно- и дисахаридов. В связи с тем что при механической обработке и рассеивании получены фракции со

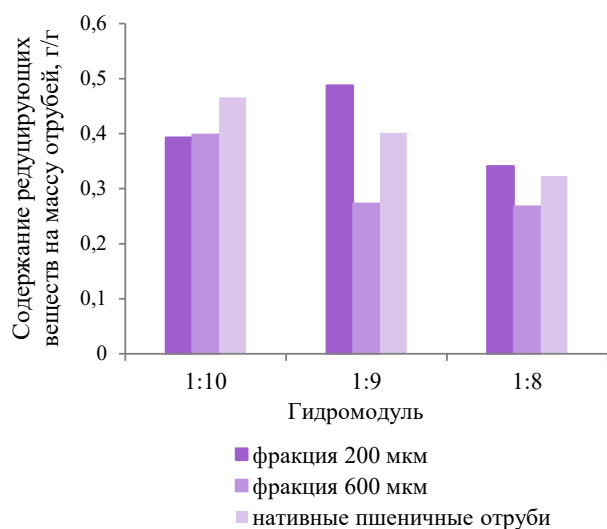


Рисунок 3. Зависимость содержания редуцирующих веществ нативных и механически измельченных пшеничных отрубей от гидромуля после химической трансформации

Figure 3. Effect of hydromodule on the content of reducing substances in native and mechanically ground wheat bran after chemical transformation

средним размером частиц 600 и 200 мкм, состоящие из разных анатомических частей зерновки, при химическом гидролизе уровень редуцирующих сахаров различен. Наибольшее содержание редуцирующих веществ при исследуемых гидромулях определено для фракции 200 мкм, наименьшее – для 600 мкм. Это может быть связано с большим содержанием крахмала как легкогидролизуемого полисахарида во фракции с меньшим размером частиц. Данный промежуточный вывод может являться значимым для подбора гидромулей и необходимости механической активации пшеничных отрубей на заключительных этапах той или иной технологической цепочки модификации растительного сырья.

Аморфизация кристаллической целлюлозы растительного сырья способствует увеличению скорости гидролиза полисахаридов, поэтому методом механической активации определили целесообразность получения фракций с размером частиц менее 100 мкм. Пшеничные отруби подвергали предварительной механической обработке в центробежной роликовой мельнице РМ-20, оснащенной водяным охлаждением. Кристаллическая структура отрубей представлена крахмалом А-типа. Полученные механически активированные образцы (МА 20 Гц и МА 40 Гц) полностью аморфны.

Дальнейшие исследования в отношении химической трансформации растительных полисахари-

дов осуществляли с использованием механически активированных пшеничных отрубей фракции 100 мкм.

Зависимость динамики накопления редуцирующих веществ в процессе гидролиза при температуре процесса 120 °С механически активированных пшеничных отрубей от концентрации серной кислоты и гидромуля представлена на рисунке 4.

На основании проведенных экспериментальных исследований высокотемпературного гидролиза были получены следующие результаты:

- при всех гидромулях определено максимальное содержание редуцирующих веществ с продолжительностью гидролиза 45 мин. Дальнейшее продолжение процесса способствует снижению количества редуцирующих веществ, что является результатом образования побочных продуктов, т. е. деструкции углеводов. Это процесс нежелателен для дальнейшей биоконверсии растительных полимеров микроорганизмами и получения белковых продуктов;
- степень конверсии полисахаридов пшеничных отрубей возрастает с увеличением концентрации серной кислоты в пределах одного гидромуля в течение выбранного интервала исследования (60 мин);
- увеличение гидромуля способствует повышению содержания редуцирующих веществ на единицу массы сырья при химической обработке пшеничных отрубей в интервале концентрации серной кислоты (0,6–0,9 %).

В следующей серии исследований химическую обработку серной кислотой механически активированных пшеничных отрубей осуществляли в условиях $C_{H_2SO_4} = 0,6–0,9 \%$, $T = 130 \text{ }^{\circ}\text{C}$, продолжительность гидролиза 30–60 мин. Данные представлены на рисунке 5.

Анализ полученных данных показал, что изменения количества редуцирующих веществ механически активированных пшеничных отрубей, при химическом гидролизе с повышением температуры до 130 °С, аналогичны предыдущей серии экспериментов в одинаковых условиях процесса.

Содержание редуцирующих веществ выше при химической обработке пшеничных отрубей серной кислотой 0,6–0,9 % при всех гидромулях и температуре 130 °С в сравнении с температурой 120 °С в течение 30 мин. Однако длительная химическая обработка пшеничных отрубей до 60 мин приводит к снижению редуцирующих веществ на 2,6–7,8 %, что может быть связано с более глубокой дегградацией углеводов растительного сырья.

Таким образом, максимальное содержание редуцирующих веществ реакционной смеси определено для следующих условий процесса химической

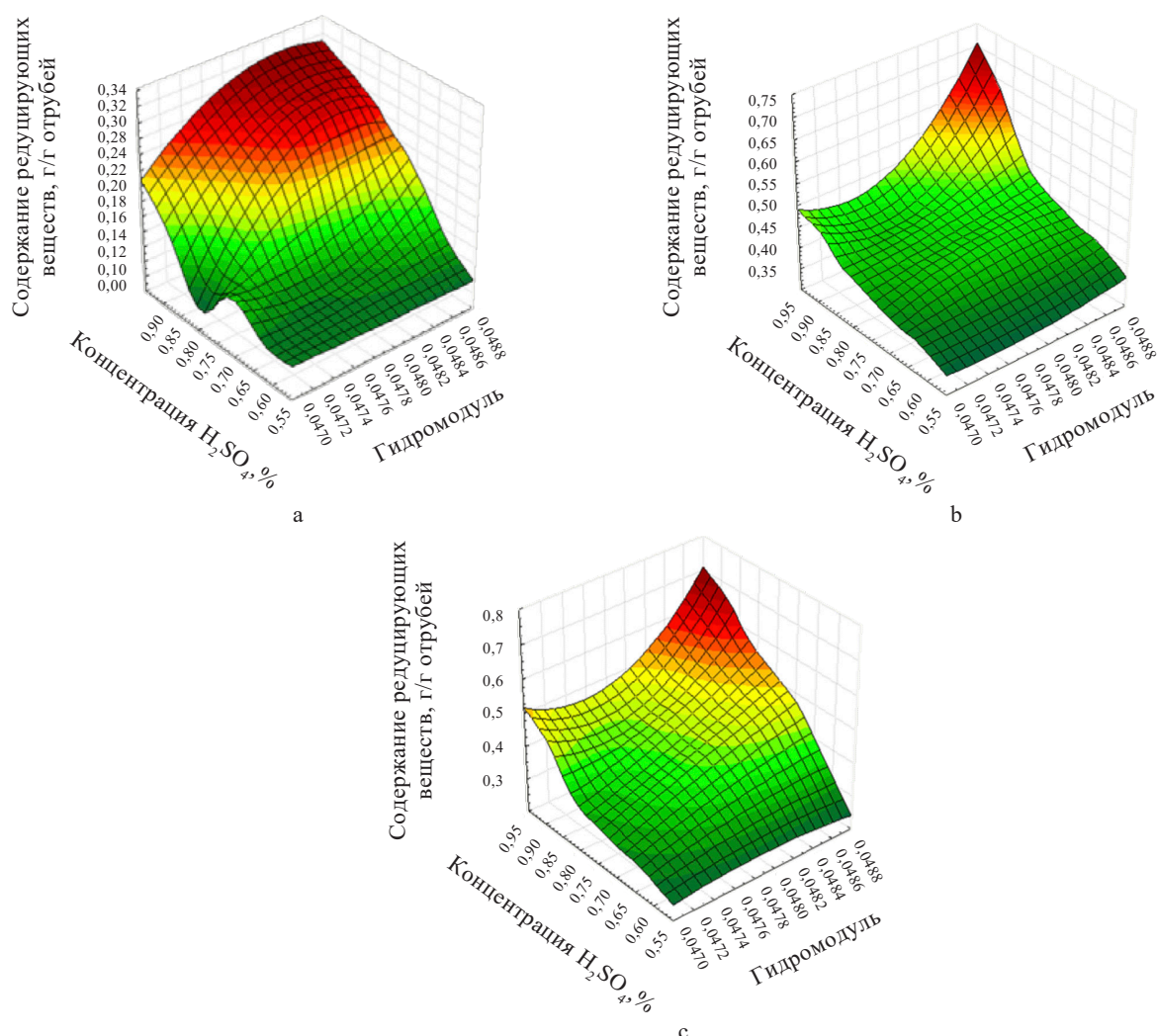


Рисунок 4. Зависимость содержания редуцирующих веществ механически активированных пшеничных отрубей от концентрации серной кислоты и гидромодуля в результате высокотемпературного гидролиза в течение 30 (а), 45 (б) и 60 мин (с) ($T = 120\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Figure 4. Effect of the concentration of sulfuric acid and hydromodule on the content of reducing substances in mechanically activated wheat bran as a result of high-temperature hydrolysis at 120°C after 30 min (a), 45 min (b), and 60 min (c)

обработки растительного сырья: гидромодуль 1:10, температура $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, продолжительности процесса 45 мин, концентрация серной кислоты 0,9 %, что составило 604,0 мг/г отрубей.

Под действием серной кислоты происходит гидролиз гликозидных связей крахмала пшеничных отрубей. Остальные полисахариды изменяются в меньшей степени, поэтому содержание крахмала определяли после химической предобработки.

Установлено изменение основных компонентов механически активированных пшеничных отрубей при оптимальных режимах химического гидролиза растительного сырья: гидромодуль 1:10, температура $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, продолжительность процесса 45 мин, концентрация серной кислоты 0,9 % (табл. 3).

Содержание крахмала (3,6 %) и сырой клетчатки (6,9 %) пшеничных отрубей уменьшилось в результате их гидролиза под действием серной кислоты на 79,8 и 18,8 % соответственно в сравнении с исходными данными сырья (17,8 и 14,7 %). Значимого изменения содержания сырого протеина и аминного азота при химической обработке пшеничных отрубей не установлено.

Таким образом, высокотемпературный гидролиз полисахаридов пшеничных отрубей серной кислотой концентрации 0,6–0,9 % может обеспечить высокую конверсию сырья в целевые продукты биосинтеза при использовании гидролизатов в качестве основы питательных сред.

Переработка растительного сырья осложнена его химическим составом. В комплексном лигно-

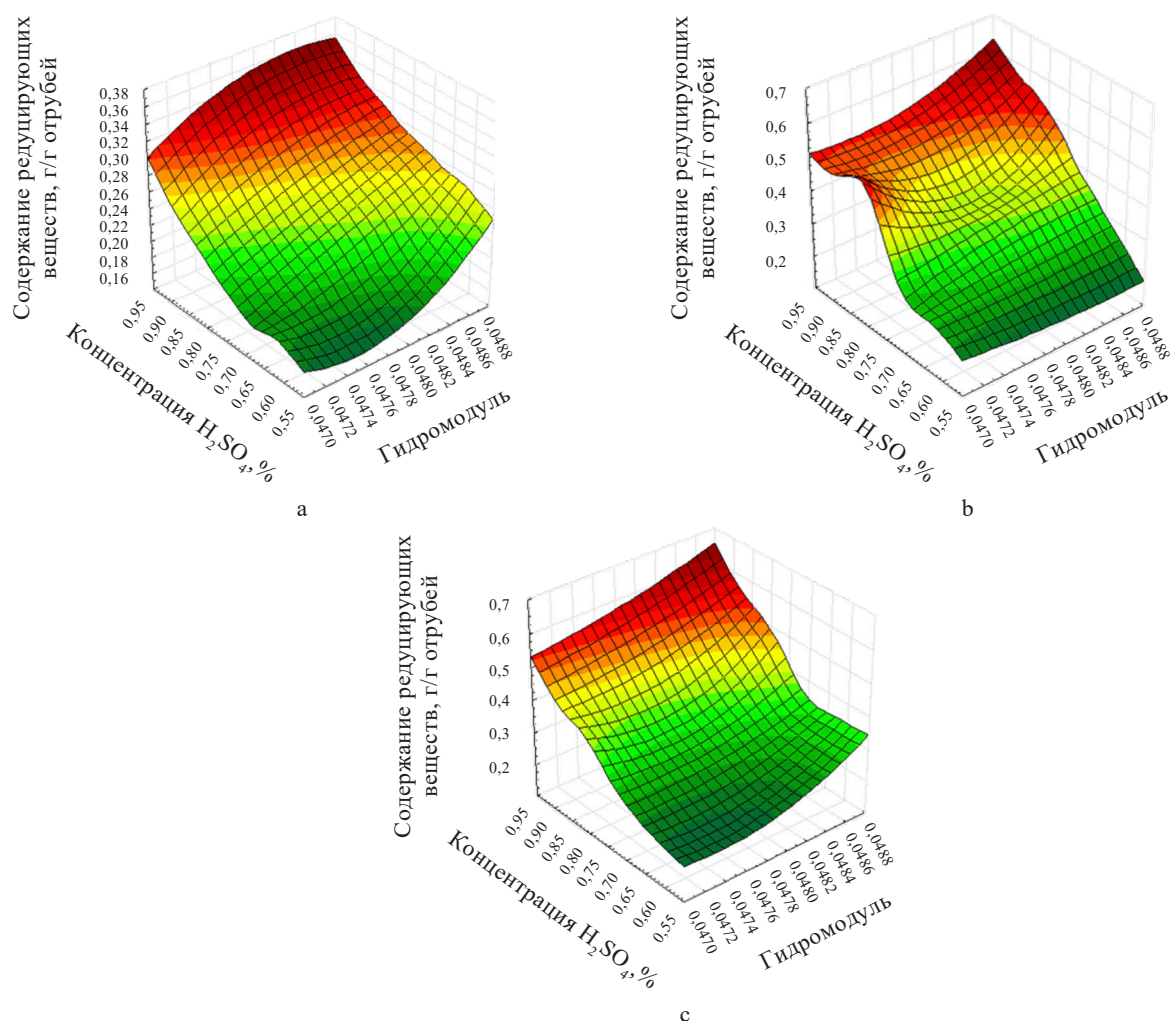


Рисунок 5. Зависимость содержания редуцирующих веществ механически активированных пшеничных отрубей от концентрации серной кислоты и гидромодуля в результате высокотемпературного гидролиза в течение 30 (а), 45 (b) и мин 60 (с) ($T = 130\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Figure 5. Effect of the concentration of sulfuric acid and hydromodule on the content of reducing substances in mechanically activated wheat bran as a result of high-temperature hydrolysis at 130°C after 30 min (a), 45 min (b), and 60 min (c)

Таблица 3. Состав пшеничных отрубей при химическом гидролизе

Table 3. Composition of wheat bran during chemical hydrolysis

Определяемый показатель	Нормативная документация на методы испытания	Пшеничные отруби	
		Нативные	Химически обработанные
Массовая доля сырого протеина, %	ГОСТ 13496.4-93	$14,70 \pm 0,46$	$14,26 \pm 0,45$
Массовая доля сырой клетчатки, %	ГОСТ 31675-2012	$8,5 \pm 0,4$	$6,9 \pm 0,3$
Массовая доля легкогидролизуемых углеводов (крахмала) на а.с.в., %	ГОСТ 26176-91	$17,8 \pm 2,8$	$3,6 \pm 0,8$
Аминный азот, мг/г отрубей	ОФС.1.2.3.0022.15	$2,24 \pm 0,12$	$2,46 \pm 0,09$

целлюлозном сырье, к которому относятся пшеничные отруби, процессы кислотного или ферментативного разложения полимеров будут происходить неравномерно.

В следующей серии исследований определили качественный и количественный состав углеводов

пшеничных отрубей хроматографическим методом после их химической предобработки. Определение изменения качественного и количественного состава углеводов и растворимых белковых соединений на различных технологических этапах конверсии углеводсодержащего сырья значимо для

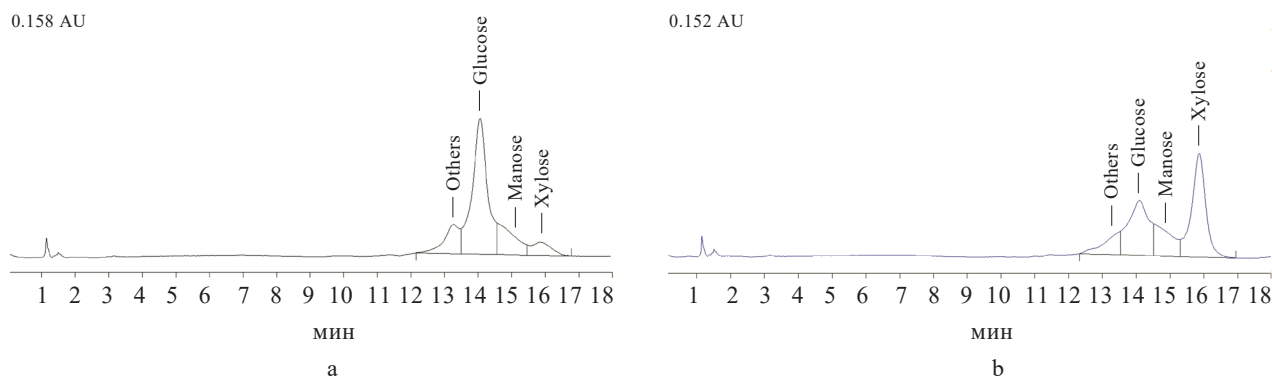


Рисунок 6. Хроматограмма экстракта нативных пшеничных отрубей (а) и их гидролизата (b)

Figure 6. Chromatogram of native wheat bran extract (a) and its hydrolyzate (b)

Таблица 4. Содержание моносахаридов экстрактов нативных и гидролизированных пшеничных отрубей

Table 4. Monosaccharides in extracts of native and hydrolyzed wheat bran

Состав моносахаридов, мг/г отрубей	Пшеничные отруби	
	Нативные	Гидролизированные
Дисахариды	Нет	Нет
Глюкоза	28,4	54,0
Манноза	5,3	25,4
Пентозы (в пересчете на ксилозу)	2,1	78,2
Другие моносахариды	4,0	1,3

дальнейшего производства не только кормов животноводческой отрасли, но и кормового белка и биоэтанола.

Содержание гексоз (глюкоза+галактоза, манноза, сумма пентоз, сумма дисахаридов) определяли ВЭЖХ как признанным методом для анализа качественного и количественного состава моносахаридов. Из анализа полученных хроматограмм (рис. 6) определили наличие в гидролизатах глюкозы, ксилозы и незначительного количества маннозы, что характерно для моносахаридного состава пшеничных отрубей.

Результаты обработки хроматограмм в программе Мультихром (ОАО «Амперсэнд») представлены в таблице 4. При высокотемпературной трансформации пшеничных отрубей увеличивается содержание глюкозы в 1,9 раза, что составило 54,0 мг/г, манноз – в 4,8 раза, что составило 25,4 мг/г. Наибольшее изменение определено для пентоз (в пересчете на ксилозу) – в 37,2 раза, их уровень в гидролизированных отрубях составил 78,2 мг/г. Результаты согласуются с данными авторов А. А. Gil-Montenegro и др., которые получили из дробины гидролизаты, обогащенные ксилозой [23].

В образцах обнаружили другие моносахариды неустановленной природы. Предположительно, галактозу. В процессе гидролиза их содержание уменьшалась в 3,1 раза в отличие от других

определяемых моносахаридов. Лактоза и другие дисахариды не обнаружены ни в одном образце.

Выводы

Механическая активация пшеничных отрубей способствует трансформации растительных полисахаридов при химическом гидролизе.

Установили параметры химического гидролиза фракции пшеничных отрубей 100 мкм с наибольшим образованием редуцирующих веществ 640 мг/г отрубей: гидромодуль 1:10, температура 120 °С, продолжительность 45 мин, концентрация серной кислоты 0,9 %.

Определили увеличение в гидролизатах пшеничных отрубей моносахаридов: глюкозы, маннозы и пентозы. Такие изменения выражены для пентоз (78,2 мг/г) – увеличение в 37,2 раза. Дисахариды в экстрактах и гидролизатах пшеничных отрубей не установлены.

Химическая предобработка пшеничных отрубей неорганическими кислотами может являться одним из этапов производства пентоз, в том числе сахарозаменителя – ксилозы.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликта интересов нет.

Contribution

All the authors bear equal responsibility for the content of the article.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Clifton-Brown J, Harfouche A, Casler MD, Jones HD, Macalpine WJ, Murphy-Bokern D, et al. Breeding progress and preparedness for mass-scale deployment of perennial lignocellulosic biomass crops switchgrass, miscanthus, willow and poplar. *GCB Bioenergy*. 2018;11(1):118–151. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12566>
2. Wang L, Tian Y, Chen Y, Chen J. Effects of acid treatment on the physicochemical and functional properties of wheat bran insoluble dietary fiber. *Cereal Chemistry*. 2022;99(2):343–354. <https://doi.org/10.1002/cche.10494>
3. Jia M, Chen J, Liu X, Xie M, Nie S, Yi C, et al. Structural characteristics and functional properties of soluble dietary fiber from defatted rice bran obtained through *Trichoderma viride* fermentation. *Food Hydrocolloids*. 2019;94:468–474. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.047>
4. Bhatia L, Sharma A, Bachheti RK, Chandel AK. Lignocellulose derived functional oligosaccharides: production, properties, and health benefits. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 2019;49(8):744–758. <https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1608446>
5. Awasthi MK, Tarafdar A, Gaur VK, Amulya K, Narisetty V, Yadav DK, et al. Emerging trends of microbial technology for the production of oligosaccharides from biowaste and their potential application as prebiotic. *International Journal of Food Microbiology*. 2022;368. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109610>
6. Bhatia R, Lad JB, Bosch M, Bryant DN, Leak D, Hallett JP, et al. Production of oligosaccharides and biofuels from *Miscanthus* using combinatorial steam explosion and ionic liquid pretreatment. *Bioresource Technology*. 2021;323. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124625>
7. Procentese A, Raganati F, Olivieri G, Russo ME, Rehmann L, Marzocchella A. Deep Eutectic Solvents pretreatment of agro-industrial food waste. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2018;11. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1034-y>
8. Wen Y, Niu M, Zhang B, Zhao S, Xiong S. Structural characteristics and functional properties of rice bran dietary fiber modified by enzymatic and enzyme-micronization treatments. *LWT*. 2017;75:344–351. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.012>
9. Bashashkina EV, Souyasov NA, Shakir IV, Panfilov VI. Bioconversion of soluble coffee production waste into fodder products. *Ecology and Industry of Russia*. 2011;(1):18–19. (In Russ.). [Биоконверсия отходов производства растворимого кофе в продукты кормового назначения / Е. В. Башашкина [и др.] // Экология и промышленность России. 2011. № 1. С. 18–19.].
10. Smirnova VD, Kisseleva RYu, Shakir IV, Panfilov VI. A biotechnological way of processing of waste products of soya-protein manufacture. *Ecology and Industry of Russia*. 2010;(5):14–16. (In Russ.). [Биотехнологический путь переработки отходов производства соевого белка / В. Д. Смирнова [и др.] // Экология и промышленность России. 2010. № 5. С. 14–16.].
11. Vasil'ev AV, Panfilov VI, Shakir IV, Afana'sv AV, Tsygankov MA. Acid and enzymatic hydrolysis of waste from the brewing. *Chemical Technology*. 2007;8(1):17–21. (In Russ.). [Кислотный и ферментативный гидролиз отходов пивоваренной промышленности / А. В. Васильев [и др.] // Химическая технология. 2007. Т. 8. № 1. С. 17–21.].
12. Taherzadeh MJ, Karimi K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *BioResources*. 2007;2(3):472–499.
13. Bušić A, Marđetko N, Kundas S, Morzak G, Belskaya H, Šantek MI, et al. Bioethanol production from renewable raw materials and its separation and purification: A review. *Food Technology and Biotechnology*. 2018;56(3):289–311. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5546>
14. Galbe M, Wallberg O. Pretreatment for biorefineries: A review of common methods for efficient utilisation of lignocellulosic materials. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2019;1(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1634-1>
15. Weiss ND, Felby C, Thygesen LG. Enzymatic hydrolysis is limited by biomass-water interactions at high-solids: Improved performance through substrate modifications. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2019;12(3). <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1339-x>
16. Osipov DO, Bulakhov AG, Korotkova OG, Rozhkova AM, Duplyakin EO, Afonin AV, et al. Effect of the milling of wheat bran on its properties and reactivity during biocatalytic conversion. *Catalysis in Industry*. 2017;9(1):77–84. <https://doi.org/10.1134/S2070050417010111>
17. Amezcua-Allieri MA, Durán TS, Aburto J. Study of chemical and enzymatic hydrolysis of cellulosic material to obtain fermentable sugars. *Journal of Chemistry*. 2017;2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5680105>

18. Junejo SA, Geng H, Wang N, Wang H, Ding Y, Zhou Y, *et al.* Effects of particle size on physicochemical and *in vitro* digestion properties of *durum* wheat bran. *International Journal of Food Science and Technology*. 2019;54(1):221–230. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13928>
19. Onipe OO, Beswa D, Jideani AIO. Effect of size reduction on colour, hydration and rheological properties of wheat bran. *Food Science and Technology International*. 2017;37(3):389–396. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.12216>
20. Pogorelova NA, Gavrilova NB, Rogachev EA, Schetinina EM. Determining the effectiveness of wheat bran conversion methods for use in food technology. *Storage and Processing of Farm Products*. 2020;(1):48–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.228>
21. Lomovsky OI, Lomovskiy IO, Orlov DV. Mechanochemical solid acid/base reactions for obtaining biologically active preparations and extracting plant materials. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 2017;10(4):171–185. <https://doi.org/10.1080/17518253.2017.1339832>
22. Barbosa FC, Silvello MA, Goldbeck R. Cellulase and oxidative enzymes: New approaches, challenges and perspectives on cellulose degradation for bioethanol production. *Biotechnology Letters*. 2020;42(6):875–884. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02875-4>
23. Gil-Montenegro AA, Arocha-Morales JS, Rojas-Pérez LC, Narváez-Rincón PC. Process simulation for xylitol production from brewer's spent grain in a Colombian biorefinery. Part 1: Xylose production from arabinoxilans extracted by the alkaline pretreatment of BSG. *Ingeniería e Investigación*. 2019;39(1):15–23. <https://doi.org/10.15446/ing.investig.v39n1.70080>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2415>
<https://elibrary.ru/ERPFIJ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

SO₂-резистентность как критерий отбора штаммов *Saccharomyces cerevisiae* для органического виноделия



И. В. Пескова*, Т. Н. Танащук, Е. В. Остроухова,
Н. Ю. Луткова, М. А. Вьюгина

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

Поступила в редакцию: 05.07.2022

Принята после рецензирования: 09.08.2022

Принята к публикации: 06.09.2022

*И. В. Пескова: bioxim2012@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-5107-518X>

Т. Н. Танащук: <https://orcid.org/0000-0002-7847-1246>

Е. В. Остроухова: <https://orcid.org/0000-0003-0638-9187>

Н. Ю. Луткова: <https://orcid.org/0000-0002-8126-7596>

М. А. Вьюгина: <https://orcid.org/0000-0001-6146-2151>

© И. В. Пескова, Т. Н. Танащук, Е. В. Остроухова,
Н. Ю. Луткова, М. А. Вьюгина, 2023



Аннотация.

Диоксид серы, используемый в виноделии как консервант и антиоксидант, негативно влияет на здоровье человека. Снижение доз диоксида серы возможно путем применения дрожжей с хорошей бродительной активностью, доминирующих при инокуляции в сусло, и низкой способностью синтезировать SO₂ и SO₂-связывающие вещества. Последнее связано с механизмами детоксикации SO₂ дрожжами. Цель работы – изучение взаимосвязи устойчивости дрожжей к диоксиду серы и их способности синтезировать SO₂ и ацетальдегид в процессе роста.

Исследовали 17 штаммов дрожжей рода *Saccharomyces*. Культивирование дрожжей осуществляли на установке CGQ на виноградном сусле до достижения стационарной фазы роста. Концентрацию диоксида серы определяли титриметрическим методом, альдегидов – бисульфитным, сульфитоустойчивость дрожжей – по ростовой реакции на SO₂ по технологии CGQ.

Установлено, что штаммы различались по степени SO₂-резистентности, оцениваемой по увеличению продолжительности лаг-фазы в присутствии (100 мг/дм³) диоксида серы: первая группа (чувствительные) – 8 ч и более, вторая – 2–6 ч, третья (устойчивые) – без изменения. Выявлено (Wilks L = 0,228, α = 0,05), что в среде без SO₂ чувствительные культуры отличались наибольшим значением минимального времени генерации в экспоненциальной фазе роста (5,3 ± 2,1 ч), устойчивые – наибольшим синтезом ацетальдегида (54,7 ± 11,1 мг/дм³) и диоксида серы (21,0 ± 10,3 мг/дм³), культуры второй группы – наименьшим содержанием в среде связанных форм SO₂ (10,9 ± 4,2 мг/дм³), занимая по остальным показателям промежуточное положение.

В работе была показана возможность использования длительности адаптации дрожжей к SO₂ для первичного отбора культур в эквиноделии. По совокупности физиологических и биохимических особенностей выделили перспективные культуры: из третьей группы – для производства вин с пониженным содержанием SO₂, из второй – органических вин. Продолжение исследования направлено на расширение спектра штаммов дрожжей и уточнение диапазонов показателей для эффективного включения культур в виноделие.

Ключевые слова. Дрожжи, CGQ технология, лаг-фаза, генерация, синтез, ацетальдегид, диоксид серы, эквиноделие

Финансирование. Работа выполнена на базе Всероссийского национального научно-исследовательского института виноградарства и виноделия «Магарах» РАН (ВННИИВиВ «Магарах» РАН) в рамках Государственного задания № 0833-2019-0022.

Для цитирования: SO₂-резистентность как критерий отбора штаммов *Saccharomyces cerevisiae* для органического виноделия / И. В. Пескова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 60–68. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2415>

Resistance to Sulfur Dioxide as a Criterion for Selecting *Saccharomyces cerevisiae* for Organic Winemaking



Irina V. Peskova*, Tatiana N. Tanashchuk, Elena V. Ostroukhova, Nataliya Yu. Lutkova, Mariya A. Vyugina

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” of the RAS, Yalta, Russia

Received: 05.07.2022
Revised: 09.08.2022
Accepted: 06.09.2022

*Irina V. Peskova: bioxim2012@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-5107-518X>
Tatiana N. Tanashchuk: <https://orcid.org/0000-0002-7847-1246>
Elena V. Ostroukhova: <https://orcid.org/0000-0003-0638-9187>
Nataliya Yu. Lutkova: <https://orcid.org/0000-0002-8126-7596>
Mariya A. Vyugina: <https://orcid.org/0000-0001-6146-2151>

© I. V. Peskova, T. N. Tanashchuk, E. V. Ostroukhova,
N. Yu. Lutkova, M. A. Vyugina, 2023



Abstract.

Sulfur dioxide is a popular conserving agent and antioxidant in winemaking. Unfortunately, it is bad for human health. Some yeast strains can reduce the dose of sulfur dioxide. Such yeasts should have good fermentation activity and dominate when inoculated into grape must. In addition, it should not synthesize sulfur dioxide and SO₂-binding substances. The synthesis of sulfur dioxide and carbonyl compounds by yeast is related to the mechanisms of sulfur dioxide detoxification. The research objective was to study the relationship between the resistance of yeast to sulfur dioxide and its ability to synthesize sulfur dioxide and acetaldehyde during growth.

The study featured 17 yeast strains of the genus *Saccharomyces*. The yeasts were cultivated on grape must in a CGQ device until the stationary growth phase. The concentration of free and bound forms of sulfur dioxide was determined by titration, while that of aldehydes was determined by bisulfite method. The sulfite resistance of strains was measured by the growth response of yeast cells to sulfur dioxide using CGQ technology.

Yeast strains differed in the degree of sulfur dioxide resistance. The samples were divided according to the increase in the lag phase time: by ≥ 8 h (sensitive), by 2–6 h, without changes (resistant). At Wilks $L = 0.228$ and $\alpha = 0.05$, the sensitive cultures in a SO₂-free medium had the highest value of minimal generation time in the exponential growth phase (5.3 ± 2.1 h). The resistant samples demonstrated the highest synthesis of acetaldehyde (54.7 ± 11.1 mg/L) and sulfur dioxide (21.0 ± 10.3 mg/L). The second group cultures had the lowest content of SO₂-bound forms in the medium (10.9 ± 4.2 mg/L) and were in an interposition in terms of other indicators.

The time it takes a yeast strain to adapt to sulfur dioxide can be used as a parameter for the primary culture selection in eco-winemaking. According to the physiological and biochemical profile, the resistant strains can be recommended for the production of SO₂-low wines, while the samples from the second test group proved optimal for organic wines. Further research will expand the range of yeast strains and their indicators.

Keywords. Yeasts, CGQ technology, lag phase, generation, synthesis, acetaldehyde, sulfur dioxide, eco-winemaking

Funding. The research was performed on the premises of the All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” of the RAS (“Magarach”), public assignment No. 0833-2019-022.

For citation: Peskova IV, Tanashchuk TN, Ostroukhova EV, Lutkova NYu, Vyugina MA. Resistance to Sulfur Dioxide as a Criterion for Selecting *Saccharomyces cerevisiae* for Organic Winemaking. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):60–68. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2415>

Введение

Диоксид серы (SO₂) – одна из самых распространенных, недорогих и эффективных химических добавок, используемых в виноделии. Добавление SO₂ подавляет рост многих микроорганизмов и защи-

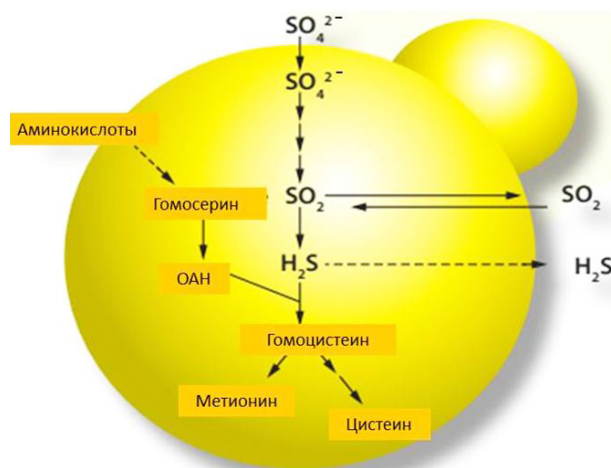
щает виноматериалы и вина от ферментативного и химического окисления, тем самым стабилизируя их органолептические свойства при хранении и выдержке. Высокие остаточные количества диоксида серы в вине могут привести к появлению

неприятных привкусов, а также могут быть причиной побочных реакций у человека – бронхоспазма, брадикардии, желудочно-кишечных симптомов, головных болей, кожной сыпи, артериальной гипотензии и анафилактических реакций [1–3]. В связи с этим многие производители вина ориентируются на выпуск своей продукции с пониженным содержанием диоксида серы или же совсем без него (органическое виноделие). Учеными предложен ряд альтернатив диоксиду серы физико-химического характера – температурное воздействие, микрофльтрация, высокое гидростатическое давление, ультразвук, ультрафиолет, импульсные электрические поля, лизоцим, сорбиновая кислота и др. Однако многие из них оказывают негативное влияние на органолептические характеристики вин и не разрешены в органическом виноделии [4].

Резолюцией OIV-OENO 631-2020 (RESOLUTION OIV-OENO 631-2020 Review of practices for the reduction of SO_2 doses used in winemaking) предложен ряд рекомендаций, позволяющих снизить дозу используемого при производстве вина диоксида серы: выбор сорта винограда и места его произрастания, оптимизация времени сбора и определенные технологические приемы на разных этапах производства вина. Согласно данной резолюции одним из способов снижения доз вносимого диоксида серы является использование дрожжей, характеризующихся хорошей бродительной активностью и низкой способностью синтезировать диоксид серы, сероводород и SO_2 -связывающие вещества и способных доминировать при инокуляции в виноградное сусло.

Синтез сероводорода, диоксида серы и карбонильных соединений дрожжами в процессе жизнедеятельности прямым или косвенным образом связан с механизмами детоксикации SO_2 [5]. Согласно существующим теориям у винных дрожжей есть четыре основных способа выживания в присутствии диоксида серы: переход в жизнеспособное, но не культивируемое состояние, выведение SO_2 из клетки с помощью специализированных насосов для оттока сульфита, восстановление диоксида серы за счет включения в биосинтез серосодержащих аминокислот и синтез ацетальдегида [6–10].

Приоритетным для дрожжевой клетки путем инактивации диоксида серы является его выделение в среду через специализированные насосы. Независимо от способа проникновения диоксида серы в дрожжевую клетку, доминирующей формой сернистой кислоты внутри нее является бисульфит (HSO_3^-), в ходе ассимиляции которого происходит образование SO_2 , выступающего в качестве промежуточного метаболита на пути синтеза серосодержащих аминокислот (рис. 1). При определенных условиях диоксид серы может синтезироваться в избытке, а затем выделяться в среду [5].



ОАН – О-ацетил-L-гомосерин сульфгидролаза

Рисунок 1. Путь усвоения сульфатов *Saccharomyces* [5]

Figure 1. *Saccharomyces* sulfate adsorption [5]

Эти механизмы генетически закреплены. Степень их участия в детоксикации диоксида серы варьируется в широком диапазоне в зависимости от штамма дрожжей. Исследования взаимосвязи синтеза ацетальдегида и устойчивости штаммов сахаромисетов к диоксиду серы, проводимые E. Casalone и др., показали, что дрожжи, устойчивые к действию диоксида серы, синтезируют большие количества ацетальдегида как в присутствии SO_2 , так и в его отсутствии [10]. Это утверждение послужило основанием для проведения настоящего исследования по установлению связи между степенью устойчивости дрожжей к диоксиду серы и их способностью синтезировать диоксид серы и ацетальдегид в процессе роста. Так как сульфитоустойчивость дрожжей обусловлена генетически, то выявление такой зависимости дало бы возможность нивелировать влияние состава среды на синтез диоксида серы и ацетальдегида микроорганизмами.

Целью настоящей работы являлось изучение взаимосвязи степени устойчивости дрожжей из Центра коллективного пользования (ЦКП) Коллекция микроорганизмов виноделия «Магарач» к диоксиду серы и способности штаммов синтезировать диоксид серы и ацетальдегид в процессе роста.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись 17 штаммов дрожжей рода *Saccharomyces* из ЦКП Коллекция микроорганизмов виноделия «Магарач», рекомендуемых для производства белых вин: штаммы I-527 (47 К), I-525 (Севастопольская 23), I-271 (Феодосия 1-19), I-307 (Ленинградская), I-491 (Мускат белый), I-492 (Мускат розовый), I-279 (Кокур 3), I-144 (Мускат венгерский), I-637 (Мускат-Р 4)), I-187

(Алиготе-14) и I-106 (Токай 22), красных вин: штаммы, I-652 (Одесский черный-СД-13), I-25 (Каберне 5), I-250 (Бордо-60), I-24 (Бордо 20), I-640 (Меганом красный 3) и I-440 (Магарач 17-35) [11–13].

В качестве среды культивирования использовали сусло из винограда сорта Алиготе одной партии следующего состава: массовая концентрация сахаров – 228 г/дм³, титруемых кислот – 6,7 г/дм³, pH 3,4. Культивирование осуществляли при температуре 25 °С и перемешивании среды со скоростью 150 об/мин на установке CGQ фирмы Aquilabiolabs. В две колбы емкостью 250 см³ наливали по 100 см³ пастеризованного виноградного сусла и вносили дрожжевую разводку до начальной концентрации клеток в среде $0,5 \times 10^6$ клеток/см³. Для оценки влияния диоксида серы на рост культур, а также отбора штаммов, продуцирующих большое количество SO₂ и ацетальдегида, в одну из колб добавляли диоксид серы из расчета 100 мг/дм³ (опыт) [14]. Измерения останавливали при достижении культурой стационарной фазы роста. На этом этапе осуществляли отбор среды культивирования для проведения исследований химического состава.

Массовую концентрацию диоксида серы, его свободной и связанной форм определяли титриметрическим методом, основанным на окислении свободной сернистой кислоты в кислой среде до серной при помощи йода; альдегидов (ацетальдегида) – методом, основанным на их способности связываться с гидросульфитом натрия в комплексное нелетучее соединение, которое разрушают щелочью с последующим титрованием освободившегося сернистого ангидрида йодом.

Сульфитоустойчивость штаммов оценивали по ростовой реакции клеток дрожжей на диоксид серы в реальном времени при помощи технологии CGQ [15].

Культивирование микроорганизмов по каждому варианту проводили в 2-х повторностях, анализ химического состава – в 23-х. Данные обра-

батывали методами дисперсионного (ANOVA) и дискриминантного анализа (с использованием программы Statistica 10). Сравнение значений количественных признаков в независимых подгруппах проводили с помощью U-критерия Mann-Whitney. Информативность дискриминантных переменных оценивали по Wilks L. Верификацию статистических коэффициентов проводили для точки значимости $\alpha < 0,05$. В таблицах и рисунках приведены среднеарифметические значения показателей, в тексте статьи – среднеарифметические значения и стандартное отклонение единичного результата.

Результаты и их обсуждение

Дрожжи, как и все живые организмы, естественным образом реагируют на изменение условий окружающей среды путем активизации механизмов, позволяющих им адаптировать свой рост и метаболизм к неблагоприятным условиям – стрессам [16, 17]. Эти механизмы активируются сразу после получения клеткой информации об изменении условий существования. Диоксид серы является стрессовым фактором для сахаромисетов, влияющим на их рост, спорообразование и скорость восстановления клеток после стресса.

Длительность лаг-фазы исследуемых штаммов дрожжей в контрольных колбах (0 мг/дм³ SO₂) варьировалась от 6 до 15 ч. Внесение в среду культивирования 100 мг/дм³ диоксида серы показало, что исследуемые штаммы дрожжей различались по продолжительности адаптации к SO₂ (рис. 2). Внесение в среду культивирования диоксида серы в случае штаммов I-25, I-106, I-271, I-525, I-527 и I-637 приводило к увеличению длительности лаг-фазы более чем на 8 ч, штаммов I-24, I-250, I-279, I-440, I-652 и I-491 – на 2–6 ч. Это свидетельствует о высокой чувствительности этих культур дрожжей к SO₂. Наиболее устойчивыми к действию диоксида

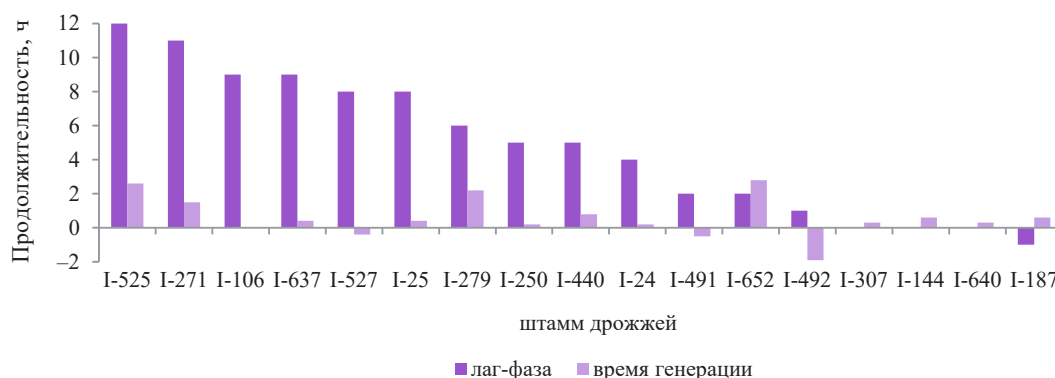


Рисунок 2. Изменение длительности лаг-фазы и времени генерации в присутствии SO₂ относительно контрольных вариантов

Figure 2. Effect of sulfur dioxide on lag phase time and generation time

серы оказались штаммы I-144, I-307, I-492, I-640 и I-187 – присутствие SO_2 в среде культивирования не повлияло на длительность их лаг-фазы.

Установлено, что задержка роста при культивировании в среде с SO_2 не влияла на ростовую активность штаммов. Значимой разницы между контролем (без SO_2) и опытом (100 мг/дм³ SO_2) по продолжительности экспоненциальной фазы роста, временем достижения максимальной удельной скорости роста и накоплению клеточной биомассы штаммом выявлено не было. Наличие SO_2 в среде культивирования приводило к снижению скорости роста клеток для штаммов I-144, I-307, I-640, I-187, I-24, I-250, I-279, I-440, I-652, I-25, I-106, I-271, I-525 и I-637. Время удвоения числа клеток (время генерации) увеличилось на 0,6–2,8 ч в зависимости от штамма. Для культур I-527, I-491 и I-492 отмечено повышение скорости роста при наличии в среде SO_2 . Аналогичные результаты были получены S. C. Morgan и др. для коммерческого штамма *BRL97*, который демонстрировал повышение скорости роста в присутствии диоксида серы, достигая гораздо более высокой общей численности дрожжей [14]. Это связано с тем, что каждый штамм может использовать различные механизмы устойчивости к сульфиту, что позволяет дрожжам быстрее инактивировать стрессовый фактор. Некоторые авторы предполагают возможность индукции устойчивости дрожжей к диоксиду серы [6, 18].

Одним из требований, предъявляемых к органическому вину, является отсутствие диоксида серы. Согласно литературным данным некоторые штаммы дрожжей способны синтезировать до 100 и более мг/дм³ SO_2 [19]. Несмотря на то что синтез диоксида серы дрожжами зависит от ряда факторов, а именно от содержания в среде культивирования азотсодержащих соединений (аммония, аминокислот и особенно серосодержащих аминокислот), главным фактором остается штамм дрожжей [19].

Концентрация диоксида серы в контрольных вариантах по окончании экспоненциальной фазы роста варьировалась от 4,7 до 32,9 мг/дм³. Наибольшие значения показателя были отмечены для штамма I-187, наименьшие – для штаммов I-271 и I-307 (рис. 3). Не менее 20 мг/дм³ общего диоксида серы синтезировали в процессе роста штаммы I-640, I-492, I-144, I-440 и I-279. В случае остальных культур дрожжей содержание образующегося диоксида серы составило 10–20 мг/дм³. Преобладающей формой диоксида серы (независимо от штамма дрожжей) являлась связанная, доля которой составляла от 61 до 94 %.

Согласно литературным данным присутствие свободной формы диоксида серы в среде культивирования может свидетельствовать о более высокой конститутивной экспрессии генов *FZF1* или *SSU1/SSU1-R*, которые кодируют и регулируют насос оттока сульфита *SSU1p* [14]. Более высокая экспрессия этих генов может привести к тому, что больше свободного SO_2 будет выводиться за пределы дрожжевой клетки. Это является благоприятным фактором (при условии низкой способности культуры к продуцированию SO_2 -реагирующих карбонильных соединений) для производства вин с пониженным содержанием диоксида серы, т. к. экспортируемая свободная форма SO_2 действует как противомикробное средство. В ходе проведенных исследований наибольшее количество свободной формы сернистой кислоты обнаружено в среде культивирования штамма I-187 – 7,1–12,8 мг/дм³. Поскольку снижения роста клеток данного штамма в среде с диоксидом серы не наблюдалось, сохранение концентрации свободной формы SO_2 связано с высокой активностью насоса оттока SO_2 из клетки [14].

Основным карбонильным соединением, взаимодействующим с бисульфитом, является ацетальдегид, связывающий 40–50 % общего количества SO_2 в вине [4, 20]. Количество образующегося ацеталь-

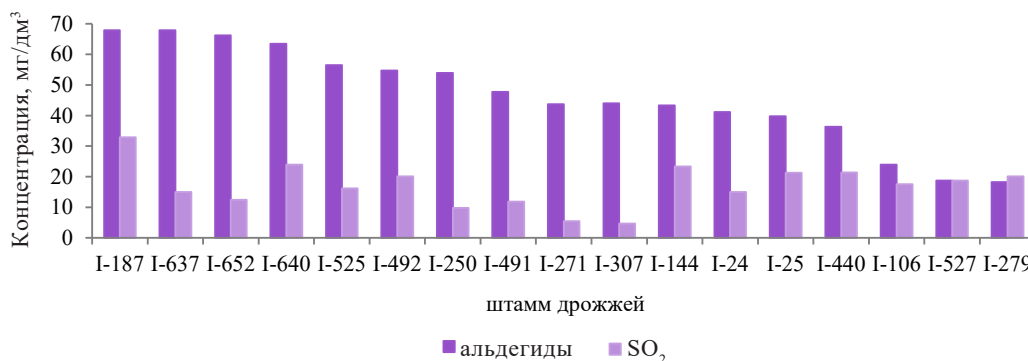


Рисунок 3. Концентрация диоксида серы и альдегидов в контрольном варианте по окончании экспоненциальной стадии роста разных штаммов дрожжей

Figure 3. Concentration of sulfur dioxide and aldehydes in the control after exponential stage, different yeast strains

дегида определяется генетическими особенностями штамма [21]. Среди исследуемых культур дрожжей наибольшей альдегидобразующей способностью отличались штаммы I-187, I-637, I-652, I-640, I-525, I-492 и I-250, где содержание альдегидов по окончании экспоненциальной фазы роста составляло от 53,9 до 67,9 мг/дм³ (рис. 3). Штаммы I-106, I-527 и I-279 в процессе роста выделяли в среду небольшие количества альдегидов – от 18,2 до 23,9 мг/дм³. В случае остальных штаммов концентрация ацетальдегида в среде варьировалась в диапазоне от 36,3 до 47,7 мг/дм³.

Некоторыми авторами отмечалось увеличение синтеза ацетальдегида дрожжами в присутствии диоксида серы. Согласно результатам их исследований на каждый мг добавленного SO₂ образуется от 217 до 530 мкг ацетальдегида [22]. Полученные в ходе настоящего исследования результаты показали справедливость данного утверждения только в отношении штаммов I-106, I-24, I-25, I-279, I-491, I-492 и I-527, при культивировании которых увеличение концентрации альдегидов в среде с диоксидом серы составляло от 12,3 до 23,3 мг/дм³ (рис. 4). В случае остальных штаммов увеличение количества диоксида серы не повлияло на концентрацию образующего в ходе экспоненциальной фазы ацетальдегида. Это может быть связано с ролью ацетальдегида в жизнедеятельности дрожжевой клетки, который, помимо участия в нейтрализации негативного влияния диоксида серы, играет важную роль в поддержании общего окислительно-восстановительного баланса, обеспечении спиртоустойчивости клеток и т. д. [4].

Для достижения поставленной в работе задачи, а именно выявления наличия или отсутствия взаи-

мосвязи между степенью устойчивости дрожжей к диоксиду серы, с одной стороны, и их способностью синтезировать диоксид серы и ацетальдегид в процессе роста, с другой стороны, экспериментальные данные были обработаны с использованием дискриминантного анализа. В качестве дискриминантной переменной выбрали изменение длительности лаг-фазы в присутствии диоксида серы в сравнении с контролем. По этому параметру исследуемые культуры были разделены на 3 условные группы. Первая группа объединяла наиболее чувствительные к действию SO₂ штаммы, длительность лаг-фазы которых увеличивалась на 8 и более часов (рис. 2). Ко второй группе отнесли штаммы, у которых лаг-фаза удлинилась на 2–6 ч и которые занимали промежуточное положение по степени устойчивости к SO₂. Третья группа включала культуры, длительность лаг-фазы которых не изменялась в присутствии диоксида серы, что характеризует их как наиболее устойчивые к действию SO₂. Учитывая актуальность селекции дрожжей для органического виноделия, статистический анализ был акцентирован на показателях роста и метаболизма дрожжей при культивировании на сусле без диоксида серы. В результате статистической обработки выявлены показатели, совокупность которых отличает выделенные группы штаммов, – длительность лаг-фазы, минимальное время генерации культуры в экспоненциальной фазе роста, концентрация ацетальдегида, свободная и связанная формы диоксида серы в среде культивирования в отсутствие SO₂ (Wilks L = 0,228, α = 0,05). Диапазоны варьирования и средние значения этих показателей для выделенных групп штаммов представлены в

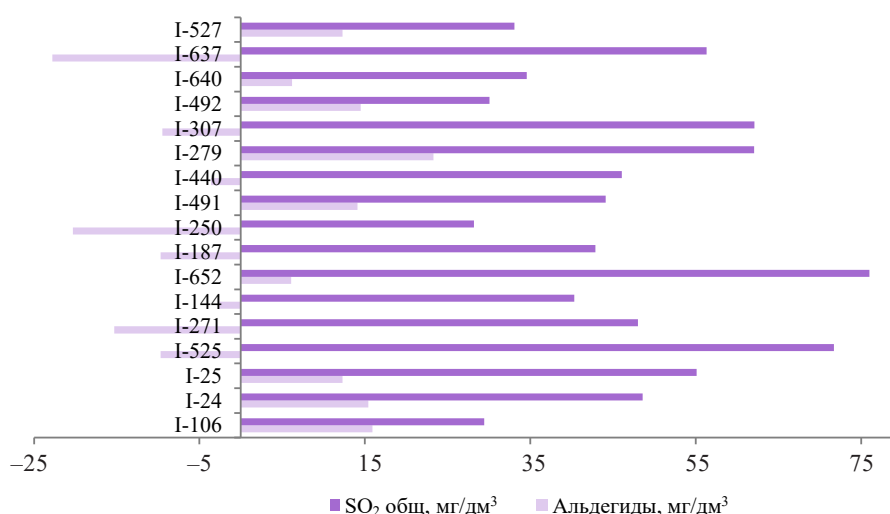


Рисунок 4. Изменение концентрации ацетальдегида и диоксида серы в присутствии диоксида серы относительно контрольных вариантов

Figure 4. Effect of sulfur dioxide on the concentration of acetaldehyde and sulfur dioxide in the presence of sulfur dioxide

Таблица 1. Диапазоны варьирования и средние значения показателей роста и метаболизма штаммов, объединенных в группы по SO_2 -резистентности, при культивировании в сусле без диоксида серыTable 1. Variation ranges and average values of growth and metabolism: strains grouped by SO_2 -resistance during cultivation in wine must without O_2

Показатели	Группа штаммов		
	Первая	Вторая	Третья
Массовая концентрация альдегидов в среде культивирования, мг/дм ³	18,7–67,9 (41,8)	18,2–66,2 (43,9)	43,3–67,9 (54,7)
Массовая концентрация $\text{SO}_{2\text{своб}}$ в среде культивирования, мг/дм ³	0,7–3,2 (2,4)	1,3–5,1 (3,0)	1,9–7,1 (3,9)
Массовая концентрация $\text{SO}_{2\text{связ}}$ в среде культивирования, мг/дм ³	4,7–18,1 (13,3)	6,6–18,1 (10,9)	2,8–25,8 (17,1)
Минимальное время генерации в экспоненциальной фазе роста, ч	3,19–7,97 (5,3)	2,8–4,0 (3,4)	2,5–4,9 (3,4)
Длительность лаг-фазы, ч	8–13 (10,2)	7–14 (10,8)	6–15 (10,6)

Примечание: в скобках приведены средние значения показателей роста и метаболизма штаммов.

Note: in parentheses are the average values of growth and metabolism.

таблице 1. В условиях опыта наибольшее количество ацетальдегида ($54,7 \pm 11,1$ мг/дм³) и диоксида серы ($21,0 \pm 10,3$ мг/дм³) синтезировалось культурами, наиболее устойчивыми к диоксиду серы (третья группа). Средние значения показателей в первой и второй группах значимо не различались и составляли 41,8–43,9 и 15,7–15,1 мг/дм³ соответственно. В случае штаммов первой группы концентрация связанной формы диоксида серы в среде культивирования была на 22 %, а второй группы на 36 % ниже таковой в среде культур третьей группы. Различия в количестве связанной формы диоксида серы в среде культивирования разных групп дрожжей связано не только с разным уровнем синтеза ацетальдегида исследуемыми штаммами, но и кетокислот [23]. Несмотря на то что значимых отличий групп штаммов по длительности лаг-фазы в отсутствие диоксида серы не выявлено, минимальное время генерации в экспоненциальной фазе роста штаммов второй и третьей групп было в среднем в 1,6 раза ниже, чем культур, объединенных в первую группу, у которых этот параметр составлял $5,3 \pm 2,1$ ч.

SO_2 -резистентность штаммов *Saccharomyces cerevisiae* взаимосвязана с параметрами роста и метаболизма дрожжей, значимыми для виноделия с пониженной или нулевой SO_2 -нагрузкой, а предложенная градация устойчивости культур к диоксиду серы по изменению длительности лаг-фазы может стать критерием для первичного отбора штаммов.

Учитывая, что основными требованиями к культуре дрожжей для производства органических вин (в которых не допускается присутствие диоксида серы) является их доминирование при инокуляции в сусло, а также низкая альдегид- и SO_2 -образующая способность, наиболее перспективными штаммами являются I-24, I-250, I-279, I-440, I-652 и I-491 (вторая группа).

Способность наиболее устойчивых к диоксиду серы культур (третья группа) к доминированию при

инокуляции в сусло, в том числе содержащее SO_2 , и выделению в среду свободной формы диоксида серы делает их перспективными для производства вин с пониженным содержанием диоксида серы. Это относится к штаммам I-144, I-307, I-187 и I-640, которые, наряду с невысокой альдегидобразующей способностью в присутствии диоксида серы (рис. 4), выделяют в среду от 6 до 13 мг/дм³ свободной формы SO_2 .

Выводы

В ходе исследования установлена вариативность промышленно ценных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* из ЦКП Коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач» по степени SO_2 -резистентности, оцениваемой по увеличению продолжительности лаг-фазы роста в присутствии диоксида серы. По этому показателю культуры дрожжей объединены в три условные группы: первая – 8 ч и более (чувствительные), вторая – 2–6 ч, третья – без изменения (устойчивые). Установлено, что выделенные группы отличаются по минимальному времени генерации в экспоненциальной фазе роста (наибольшая – у культур первой группы), продуцированию в среде культивирования ацетальдегида и свободной форме диоксида серы. Длительность адаптации *S. cerevisiae* к диоксиду серы предложена в качестве критерия первичного отбора штаммов для вин с экостатусом. По совокупности физиологических и биохимических особенностей определено, что перспективными для производства органических вин являются штаммы дрожжей второй группы: I-24, I-250, I-279, I-440, I-652 и I-491, вин с пониженным содержанием диоксида серы – культуры третьей группы: I-144, I-307, I-187 и I-640.

Представленные результаты являются первым этапом исследований, направленных на разработку рекомендаций по подбору штаммов дрожжей для производства органических вин и вин с пониженным содержанием диоксида серы. Работа будет

продолжена в направлении расширения спектра культур дрожжей, уточнения диапазонов значений критериальных показателей и взаимосвязанных с ними параметров, отражающих физиологические и биохимические особенности штамма, а также включения отобранных культур в технологический цикл производства вин.

Критерии авторства

Е. В. Остроухова – руководитель проекта. И. В. Пескова – проводила анализ и обработку экспериментальных данных. Т. Н. Танащук – осуществляла проведение микробиологических исследований и обработку полученных результатов. Н. Ю. Луткова и М. А. Вьюгина – исполнители проводимых исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Благодарность

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории микробиологии ФГБУН «ВННИИВиВ «Магарах» за предоставление культур дрожжей из

Коллекции микроорганизмов института «Магарах», а также всем коллегам, участвующим в подготовке публикации.

Contribution

E.V. Ostroukhova supervised the project. I.V. Peskova analyzed and processed experimental data. T.N. Tanashchuk performed the microbiological research and processed the results. N.Yu. Lutkova and M.A. Vyugina were responsible for the experiments.

Conflict of interest

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

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the staff of the Laboratory of Microbiology of the All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” of the RAS for providing yeast cultures from their Collection of Winemaking Microorganisms, as well as to all colleagues involved in the publication preparation.

References/Список литературы

1. Guerrero RF, Cantos-Villar E. Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review. *Trends in Food Science and Technology*. 2015;42(1):27–43. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.11.004>
2. Romano P, Ciani M, Fleet GH. *Yeasts in the production of wine*. New York: Springer; 2019. 515 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9782-4>
3. Costanigro M, Appleby C, Menke SD. The wine headache: Consumer perceptions of sulfites and willingness to pay for non-sulfited wines. *Food Quality and Preference*. 2014;31:81–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.08.002>
4. Zara G, Nardi T. Yeast metabolism and its exploitation in emerging winemaking trends: From sulfite tolerance to sulfite reduction. *Fermentation*. 2021;7(2). <https://doi.org/10.3390/fermentation7020057>
5. Walker ME, Zhang J, Sumby KM, Lee A, Houlès A, Li S, *et al.* Sulfate transport mutants affect hydrogen sulfide and sulfite production during alcoholic fermentation. *Yeast*. 2021;38(6):367–381. <https://doi.org/10.1002/yea.3553>
6. Divol B, du Toit M, Duckitt E. Surviving in the presence of sulphur dioxide: Strategies developed by wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012;95:601–613. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4186-x>
7. Garcia-Rios E, Nuevalos M, Barrio E, Puig S, Guil-lamon JM. A new chromosomal rearrangement improves the adaptation of wine yeasts to sulfite. *Environmental Microbiology*. 2019;21(5):1771–1781. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14586>
8. Valero E, Tronchoni J, Morales P, Gonzalez R. Autophagy is required for sulfur dioxide tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Biotechnology*. 2019;13(2):599–604. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13495>
9. Zimmer A, Durand C, Loira N, Durrens P, Sherman DJ, Marullo P. QTL dissection of lag phase in wine fermentation reveals a new translocation responsible for *Saccharomyces cerevisiae* adaptation to sulfite. *PLoS ONE*. 2014;9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086298>
10. Casalone E, Colella CM, Daly S, Gallori E, Moriani L, Polsinelli M. Mechanism of resistance to sulphite in *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Genetics*. 1992;22(6):435–440. <https://doi.org/10.1007/BF00326407>
11. Magarach Common Use Center: Collection of Winemaking Microorganisms [Internet]. [cited 2022 Jun 10]. Available from: <http://magarach-institut.ru/kollekcija-mikroorganizmov-vinodelija-magarach> [ЦКП Коллекция микроорганизмов виноделия «Магарах». URL: <http://magarach-institut.ru/kollekcija-mikroorganizmov-vinodelija-magarach> (дата обращения: 10.06.2022).].
12. Kishkovskaya SA, Tanashchouk TN, Ivanova EV, Skorikova TK. Collection of microorganisms of winemaking of institute “Magarach” and role in microbiological supply industry. *Viticulture and Winemaking*. 2016;46:46–51. (In Russ.). [Коллекция микроорганизмов виноделия института «Магарах» и ее роль в микробиологическом обеспечении отрасли / С. А. Кишковская [и др.] // Виноградарство и виноделие. 2016. Т. 46. С. 46–51.].

13. Ivanova E. Study of acid-reducing ability of collection strains of wine yeast fungi-saccharomycetes. Norwegian Journal of Development of the International Science. 2021;(54–1):3–5. (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/3453-9875-2021-54-1-3-5>
14. Morgan SC, Haggerty JJ, Johnston B, Jiranek V, Durall DM. Response to sulfur dioxide addition by two commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains. Fermentation. 2019;5(3). <https://doi.org/10.3390/fermentation5030069>
15. Bruder S, Reifenrath M, Thomik T, Boles E, Herzod K. Parallelized online biomass monitoring in shake flasks enables efficient strain and carbon source dependent growth characterization of *Saccharomyces cerevisiae*. Microbial Cell Factories. 2016;15. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0526-3>
16. Kuzmina SS, Kozubaeva LA, Egorova EYu, Kulushtayeva BM, Smolnikova FK. Effect of berry extracts on *Saccharomyces cerevisiae* yeast. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):819–831. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-819-831>
17. Makarov AS, Lutkov IP. Yeast race effect on the quality of base and young sparkling wines. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):290–301. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-290-301>
18. García-Ríos E, Guillamón JM. Sulfur dioxide resistance in *Saccharomyces cerevisiae*: beyond *SSU1*. Microbial Cell. 2019;6(12):527–530. <https://doi.org/10.15698/mic2019.12.699>
19. Noble J, Sanchez I, Blondin B. Identification of new *Saccharomyces cerevisiae* variants of the *MET2* and *SKP2* genes controlling the sulfur assimilation pathway and the production of undesirable sulfur compounds during alcoholic fermentation. Microbial Cell Factories. 2015;14. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0245-1>
20. Li E, Mira de Orduña R. Acetaldehyde metabolism in industrial strains of *Saccharomyces cerevisiae* inhibited by SO₂ and cooling during alcoholic fermentation. OENO One. 2020;54(2):351–358. <https://doi.org/10.20870/oenone.2020.54.2.2391>
21. Kishkovskaia SA, Tanashchuk TN, Avdanina DA, Eldarov MA, Ivanova EV, Shalamitskiy My, et al. Screening for promising yeast strains for sherry wine production using genetic and enological markers. Agricultural Biology. 2021;56(3):537–548. (In Russ.). <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2021.3.537eng>
22. Li E, Mira de Orduña R. Acetaldehyde kinetics of enological yeast during alcoholic fermentation in grape must. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2017;44(2):229–236. <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1879-7>
23. Peskova IV, Ostroukhova EV, Zaitseva OV, Lutkova NYu, Vyugina MA. The role of technological factors in the formation of SO₂-binding complex of base wines. Magarach. Viticulture and Vinemaking. 2021;23(1):83–90. <https://doi.org/10.35547/IM.2021.96.76.014>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2416>
<https://elibrary.ru/FBJCCP>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние толокна ячменного на формирование показателей качества сахарного печенья



С. Ю. Мистенева*^{ID}, Н. А. Щербакова^{ID}, Н. Б. Кондратьев^{ID}

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

Поступила в редакцию: 06.06.2022
Принята после рецензирования: 02.09.2022
Принята к публикации: 04.10.2022

*С. Ю. Мистенева: svetlana_mst@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1439-7972>
Н. А. Щербакова: <https://orcid.org/0000-0002-0466-9612>
Н. Б. Кондратьев: <https://orcid.org/0000-0003-3322-9621>

© С. Ю. Мистенева, Н. А. Щербакова, Н. Б. Кондратьев, 2023



Аннотация.

Толокно ячменное является ценным источником растворимых пищевых волокон β -глюканов, что определяет актуальность его использования при создании обогащенных мучных кондитерских изделий. Цель работы – модификация пищевого профиля сахарного печенья путем введения в его состав толокна ячменного и изучение динамики изменения качественных характеристик полуфабрикатов и готовых изделий.

Объектами исследования являлись мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта, толокно ячменное, композитные смеси, модельные суспензии и рецептурные модели сахарного печенья. Органолептические и физико-химические показатели, жирнокислотный состав, а также структурно-механические характеристики изделий определяли с помощью стандартных методик.

Содержание пищевых волокон в муке и толокне составило 3,7 и 19,8 % соответственно. Жирнокислотный состав толокна отличался от состава муки повышенным содержанием олеиновой кислоты (21,1 и 15,9 % соответственно) и меньшим количеством линолевой кислоты (46,8 и 54,0 % соответственно). Увеличение доли толокна в композитных смесях привело к повышению содержания пищевых волокон (3,7–11,8 %), белка (11,5–12,8 %) и жира (1,4–2,7 %). При введении 50 % толокна увеличивается абсорбционная способность композитных смесей по воде и жиру на 125 и 65,7 % соответственно. С увеличением доли толокна возрастала вязкость модельных суспензий с 3,1 до 17,3 Па·с при минимальной скорости сдвига. Намокаемость печенья увеличивалась, по сравнению с контрольным образцом (190 %), при введении толокна в количестве 30 и 40 % и составляла 221 и 227 % соответственно. Введение толокна привело к повышению содержания пищевых волокон в готовом изделии (до 7,53 % в образце с 50 % толокна). Печенье с толокном имело правильную форму и ровную поверхность, равномерно развитую пористость и обладало гармоничным сбалансированным вкусом и запахом с незначительным зерновым оттенком.

Введение 40 % толокна ячменного взамен части пшеничной муки в рецептуре сахарного печенья было оптимальным. Это повысило количество пищевых волокон в 100 г изделия до 6,5 г и позволило отнести печенье к изделиям с их высоким содержанием в соответствии с ТР ТС 022/2011. Результаты исследования легли в основу создания ассортимента печенья с модифицированным пищевым профилем, обогащенного нативными пищевыми волокнами за счет использования цельнозернового сырья.

Ключевые слова. Мучные кондитерские изделия, цельнозерновые продукты, ячмень, пищевые волокна, β -глюкан, качество

Для цитирования: Мистенева С. Ю., Щербакова Н. А., Кондратьев Н. Б. Влияние толокна ячменного на формирование показателей качества сахарного печенья // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 69–85. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2416>

Effect of Whole Barley Tolokno on the Quality of Biscuits



Svetlana Yu. Misteneva*^{ORCID}, Natalia A. Shcherbakova^{ORCID},
Nikolay B. Kondrat'ev^{ORCID}

All-Russian Scientific Research Institute of Confectionery Industry^{ORCID}, Moscow, Russia

Received: 06.06.2022

Revised: 02.09.2022

Accepted: 04.10.2022

*Svetlana Yu. Misteneva: svetlana_mst@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-1439-7972>

Natalia A. Shcherbakova: <https://orcid.org/0000-0002-0466-9612>

Nikolay B. Kondrat'ev: <https://orcid.org/0000-0003-3322-9621>

© S.Yu. Misteneva, N.A. Shcherbakova, N.B. Kondrat'ev, 2023



Abstract.

Benefit of dietary fiber has proven by clinical studies. Dietary fiber can be incorporated into food products with whole grain cereals. Whole barley tolokno is a valuable source of soluble dietary fiber β -glucans. As a result, it is often used in fortified bakery products. The research objective was to modify the dietary profile of biscuits by substituting refined wheat flour with barley tolokno.

The study featured refined wheat flour, barley tolokno, composite flours, model suspensions, and formulations of biscuits. Standard methods helped to measure the sensory profile, physicochemical parameters, fatty acid composition, structural characteristics, and mechanical properties of the research objects.

The content of dietary fiber in the flour and the tolokno was 3.7 and 19.8%, respectively. The fatty acid composition of the tolokno differed from that of the wheat flour. The content of oleic acid was 21.1 in the tolokno and 15.9% in the flour, while the content of linoleic acid was 46.8 in the tolokno and 54.0% in the flour. A greater proportion of tolokno in the composite flour led to an increase in the content of dietary fiber (3.7–11.8%), protein (11.5–12.8%), and fat (1.4–2.7%). The water and fat absorption capacity of composite flours increased by 125 and 65.7%, respectively, when the share of tolokno reached 50%. As the proportion of tolokno increased, the viscosity of the model suspensions rose from 3.1 to 17.3 Pa·s at a minimal shear rate. The water absorption capacity of the control sample was 190%: in the experimental biscuits, it rose from to 221 and 227% at 30 and 40% of tolokno, respectively. Extra tolokno also increased the content of dietary fiber in the biscuit, which reached 7.53% in the sample with 50% tolokno. The experimental biscuits were even in shape, surface, and porosity; they had a balanced taste and a pleasant smell with a slight grainy tint.

The optimal proportion of barley tolokno was 40%. This amount brought up the content of dietary fiber to 6.5 g per 100 g. The resulting biscuits could be classified as products rich in dietary fiber (Technical Regulations of the Customs Union 022/2011). The research made it possible to expand the range of functional biscuits fortified with native dietary fiber and whole grain raw materials.

Keywords. Flour-based confectionery, biscuits, whole grains, whole grain products, barley tolokno, dietary fiber

For citation: Misteneva SYu, Shcherbakova NA, Kondrat'ev NB. Effect of Whole Barley Tolokno on the Quality of Biscuits. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):69–85. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2416>

Введение

В мировом сообществе происходит осознание взаимосвязи физического благополучия населения и правильного разнообразного питания. Поддержание сбалансированного рациона на протяжении всей жизни, начиная с раннего возраста, позволяет сократить рост ряда неинфекционных заболеваний: диабета, сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта и т. д. В существующих реалиях сохранение и поддержание иммунитета становятся приоритетными задачами. В связи с этим интересы потребителей смещаются в сторону продуктов питания, в том

числе кондитерских изделий, созданных с учетом инновационных научных разработок и комплексных подходов [1, 2].

Мучные кондитерские изделия, в частности печенье, являются группой продуктов кондитерской отрасли, пользующейся наиболее высоким спросом у потребителей (рис. 1).

Печенье может стать перспективным объектом для создания широкого спектра специализированных продуктов питания для различных групп населения. Во многих странах определенные виды печенья используются в рационах лечебно-

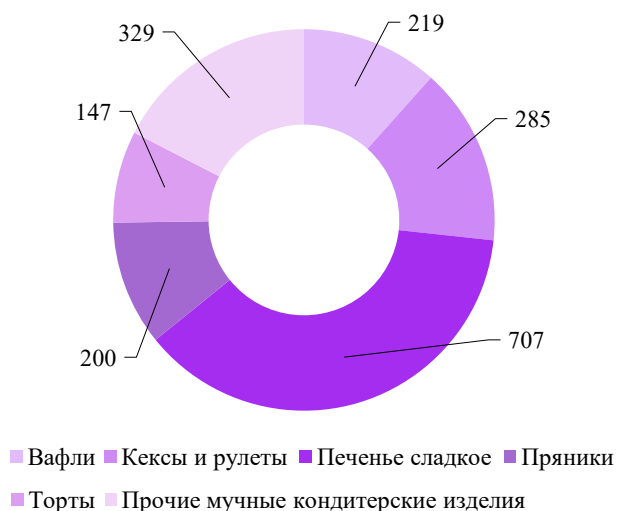


Рисунок 1. Продажи кондитерских изделий по видам за 2020 г. (тыс. т)

Figure 1. Sales of confectionery products by type in 2020 (thousand tons)

профилактического питания при диабете, ожирении, сердечно-сосудистых заболеваниях, а также различных состояниях, вызванных недостатком необходимых питательных веществ. Печенье включает широкое разнообразие групп, разделение на которые обусловлено различиями в рецептурном составе, структурно-механических характеристиках и особенностях проведения технологического процесса производства, что дает широкие возможности для его модификации [4, 5].

Основу большинства видов печенья составляет мука пшеничная высшего сорта, полученная методом полной очистки зерна пшеницы.

Рафинированное зерно имеет более низкое содержание пищевых волокон, витаминов и минералов, незаменимых жирных кислот и фитохимических веществ. Употребление продуктов глубокой технологической переработки способствует быстрому действию пищеварительных ферментов и может привести к увеличению постпрандиальных уровней глюкозы в крови, концентрации инсулина и стимуляции чувства голода.

Последние десятилетия научное сообщество занимается изучением новых видов функциональных ингредиентов с целью создания инновационных пищевых продуктов для здорового питания. Клиническими исследованиями доказан приоритет введения физиологически значимых природных компонентов, витаминов, минеральных веществ и пищевых волокон за счет использования цельнозернового растительного сырья. Употребление цельнозерновых продуктов из злаков может снизить

риск возникновения ряда заболеваний. Помимо высокой пищевой ценности, растительные продукты из цельносомлоного зерна содержат широкий спектр фитохимических веществ, которые оказывают биоактивное действие, способствующее укреплению здоровья и профилактике возникновения ряда заболеваний. Фитохимические вещества злаковых включают каротиноиды, фенольные соединения (фенольные кислоты, флавоноиды, лигнин, стильбеноиды, алкилрезорцины), глюкозинолаты, алкалоиды и беталаины [6–9].

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) является четвертой по значимости зерновой культурой в мире. Крупнейшими производителями ячменя являются Российская Федерация, Франция, Германия, Украина и Канада. Примерно 65 % урожая ячменя используется в качестве корма для животных, около 30 % – для производства солода и в пивоварении, только 2–3 % – для производства пищевых продуктов. Благодаря ценному питательному профилю ячменя интерес к данной зерновой культуре как к части рациона питания вырос по всему миру. Польза от употребления ячменя связана с наличием пищевых волокон, в частности водорастворимых бета-глюканов, и фитохимических веществ (фенольных кислот, флавоноидов, лигнанов, токолов, фитостеринов и фолатов), обладающих сильными антиоксидантными и антипролиферативными свойствами, способствующих снижению холестерина и оказывающих иммуномодулирующее действие [10, 11].

Пищевые волокна играют важную роль в нормализации деятельности желудочно-кишечного тракта, увеличивают массу мышечного слоя и влияют на его моторную активность и скорость всасывания пищевых веществ. Клинические исследования показывают, что потребление пищевых волокон обратно пропорционально возникновению ожирения, диабета второго типа, рака и сердечно-сосудистых заболеваний. Национальная служба здравоохранения Великобритании (NHS) установила адекватное потребление пищевых волокон на уровне 30 г в день. Министерство сельского хозяйства США (USDA) рекомендует употребление 22 г в день пищевых волокон для женщин и 38 г в день для мужчин. В РФ нормы физиологических потребностей в пищевых волокнах для мужчин и женщин составляют 20–25 г (МР 2.3.1.0253-21).

По содержанию пищевых волокон ячмень занимает одно из ведущих место среди зерновых культур (рис. 2) [12–14].

Нерастворимые пищевые волокна в ячмене находятся в отрубях или околоплоднике, в то время как растворимые (в т. ч. β -глюкан) – в стенках клеток эндосперма. В связи с этим содержание β -глюкана в ячмене не уменьшается при удалении внешних слоев при обработке цельного зерна. Поскольку другие

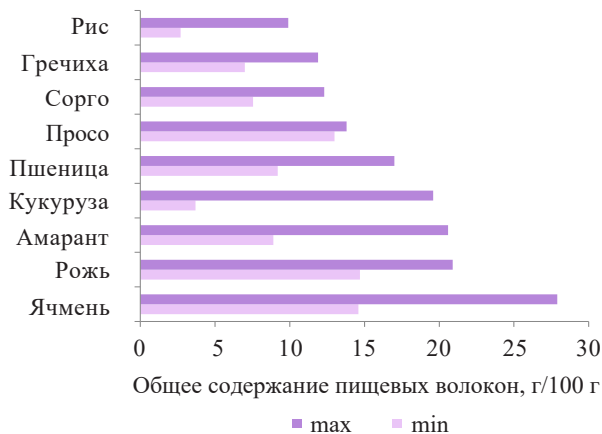


Рисунок 2. Общее содержание пищевых волокон в некоторых культурах

Figure 2. Total dietary fiber in some crops

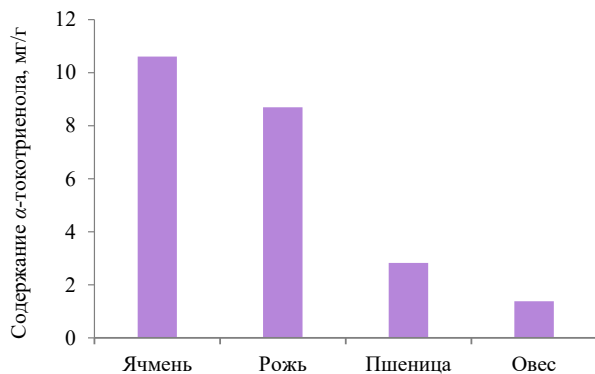


Рисунок 4. Содержание α-токотриенола в некоторых злаках

Figure 4. α-Tocotrienol in some crops

компоненты удаляются, то β-глюкан становится большей частью продуктов переработки ячменя (рис. 3) [15–17].

Механизм действия β-глюкана связан с его способностью образовывать высоковязкий гель в желудочно-кишечном тракте, который препятствует некоторым пищеварительным процессам, включая ферментативный распад, опорожнение желудка и всасывание глюкозы в кишечнике. Использование продуктов, содержащих β-глюкан, имеет клинически доказанную эффективность в снижении риска сердечно-сосудистых заболеваний и диабета, а также гипертонии и ожирения [18].

Токоферолы и токотриенолы относятся к витаминам группы Е и представлены в четырех основных формах: α-, β-, γ- и δ-токоферолы и α-, β-, γ- и δ-токотриенолы. Они обладают антиоксидантными свойствами и играют важную физиологическую роль. Токотриенолы и токоферолы подавляют синтез

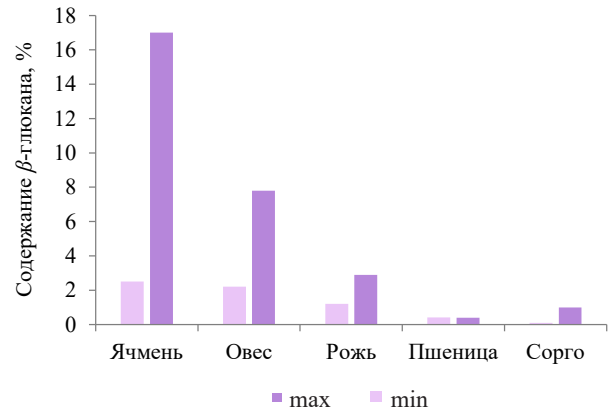


Рисунок 3. Содержание β-глюкана в некоторых культурах

Figure 3. β-Glucan in some cultures

холестерина и обладают нейропротекторными и антиканцерогенными свойствами. Ячмень является уникальным среди зерновых злаков, поскольку содержит все восемь форм витамина Е. Ячмень содержит больше α-токотриенола, чем овес, пшеница или рожь (рис. 4) [11, 19, 20].

Фенольные соединения – еще один тип антиоксидантов, содержащихся в зернах. Диеты, богатые фенольными соединениями, связаны со снижением риска возникновения сердечно-сосудистых и некоторых других заболеваний. В ячмене фенольные соединения находятся в свободном и связанном виде с клетчаткой и состоят из девяти фенольных кислот. Наиболее распространенной является феруловая кислота, обладающая высокими антиоксидантными, противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами [21, 22].

По сумме незаменимых аминокислот белок ячменя биологически полноценнее, чем белок зерна пшеницы. В белке зерна пшеницы содержание незаменимых аминокислот составляет 28,2 г/100 г белка, а в белке зерна ячменя – 30,56 г/100 г белка. Наиболее сильно отличается белок зерна ячменя от пшеницы по лизину (2,3 и 3,4 г/100 г белка соответственно) и треонину (2,9 и 3,8 г/100 г белка соответственно) (рис. 5) [16, 23].

Целью работы являлась модификация пищевого профиля сахарного печенья путем введения в рецептурный состав толокна ячменного и изучение динамики изменения качественных характеристик полуфабрикатов и готовых изделий.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования стали рецептурные модели печенья с использованием толокна ячменного в различных соотношениях, мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта, толокно ячменное,

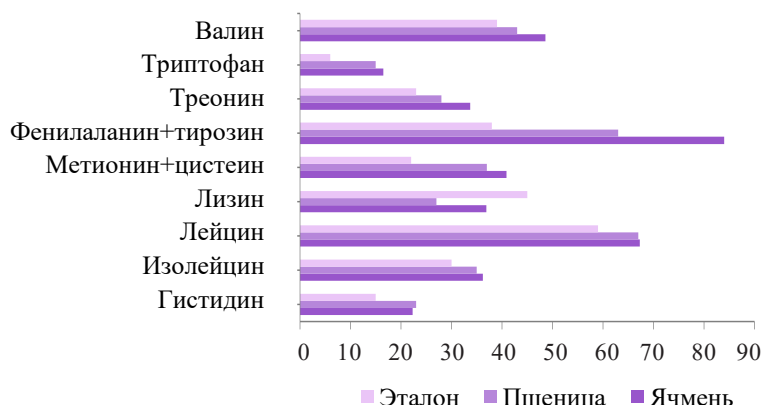


Рисунок 5. Аминокислотный состав белка (мг/г белка) ячменя и пшеницы в сравнении с эталонной моделью для взрослых ФАО/ВОЗ (2007 г.)

Figure 5. Amino acid composition of protein (mg/g protein) of barley and wheat vs. FAO/WHO reference model for adults (2007)

композитные смеси из муки и толокна ячменного и модельные суспензии композитных смесей муки.

Органолептические показатели определяли по ГОСТ 27558-1987, ГОСТ 24901-2014 и ГОСТ 5897-1990. Массовую долю влаги устанавливали по ГОСТ 5900-2014, массовую долю белка – по ГОСТ 10846-1991 и ГОСТ 34551-2019, массовую долю жира – по ГОСТ 31902-2012, жирнокислотный состав муки пшеничной хлебопекарной и толокна ячменного – по МВИ 103-19825192-2022, количество и качество клейковины – по ГОСТ 27839-2013, содержание пищевых волокон – по МУК 4.1.3697-21, массовую долю золы – по ГОСТ 27494-2016, коэффициент набухания – по МВИ 92-19825192-2021, абсорбционную способность по воде – по МВИ 101-19825192-2022, по жиру – по МВИ 102-19825192-2022, насыпную плотность – по МВИ 93-19825192-2021, намокаемость готовых изделий – по ГОСТ 10114-80, активность воды теста и готовых изделий определяли на анализаторе AquaLab 4TE (Decagon Devices, США).

Температуру теста измеряли с помощью термометра с погрешностью $\pm 0,2$ °C. Высоту и диаметр тестовой заготовки и готовых изделий измеряли с помощью штангенциркуля и выразили в мм с погрешностью $\pm 0,05$ мм. Массу тестовой заготовки и готового изделия определили путем взвешивания на электронных лабораторных весах AND GF 1000 дискретностью 0,001 г с точностью до 0,1 г.

Эффективную вязкость, напряжение сдвига и скорость сдвига определяли с помощью ротационного вискозиметра Реотест-2. Эффективную вязкость (η , Па·с) находили по формуле:

$$\eta_{\text{эф}} = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

где τ – напряжение сдвига, Па; $\dot{\gamma}$ – скорректированный градиент скорости, с^{-1} .

Толокно является одним из продуктов переработки ячменя. Технология получения толокна предусматривает длительную гидротермическую обработку цельного зерна с последующим высушиванием и размалыванием в тонкоизмельченную муку. В результате сложных физико-химических процессов толокно приобретает специфические питательные свойства: происходят изменения в соотношении различных фракций белка; в результате частичного гидролиза крахмала повышается содержание декстринов; происходит изменение состава липидов [24].

Толокно ячменное обладает гармоничным сладковатым вкусом и приятным запахом с незначительным зерновым оттенком. Основные физические свойства толокна ячменного сходны с мукой пшеничной, что обуславливает удобство его использования в производстве сахарного печенья без дополнительных экономических затрат.

Этапы проведения экспериментальных исследований представлены на рисунке 6.

Химический состав толокна ячменного и муки пшеничной высшего сорта, используемых в данной работе, представлен в таблице 1.

Для создания рецептурных моделей сахарного печенья использовали композитные смеси муки, состоящие из муки пшеничной высшего сорта и толокна ячменного в соотношениях, представленных в таблице 2.

Для изучения влияния толокна ячменного на изменение качественных характеристик готовых изделий и установления его технологически обоснованного количества разработали различные рецептурные модели печенья. Для проведения

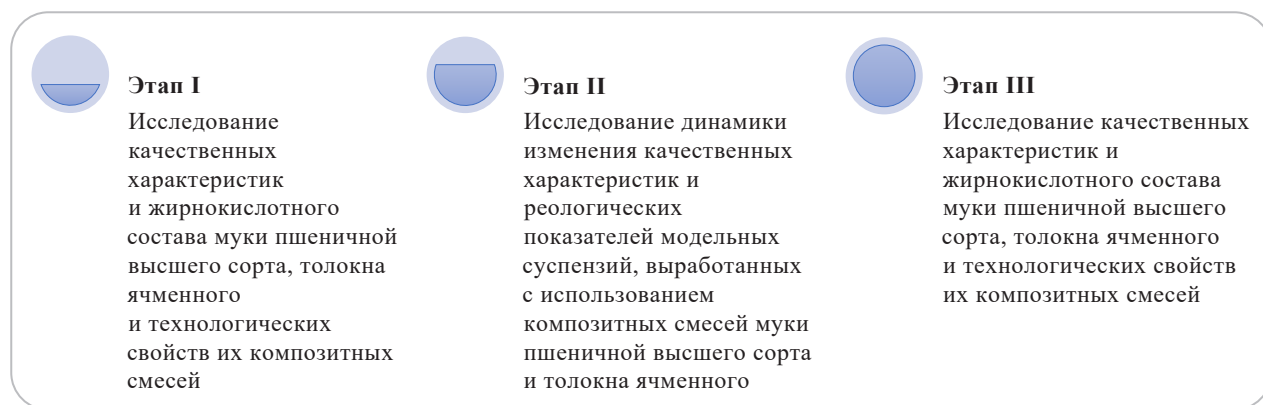


Рисунок 6. Этапы проведения экспериментальных исследований

Figure 6. Experiment stages

Таблица 1. Химический состав толокна ячменного и муки пшеничной высшего сорта

Table 1. Chemical composition of barley tolokno and top-grade wheat flour

Наименование показателей, %	Вид сырья	
	Мука пшеничная в. с.	Толокно ячменное
Массовая доля влаги	10,0	8,5
Массовая доля белка	11,5	13,8
Массовая доля жира	1,4	3,6
Массовая доля пищевых волокон	3,7	19,8
Массовая доля золы	0,52	1,13

Таблица 2. Процентные соотношения муки пшеничной высшего сорта и толокна ячменного в композитных смесях муки

Table 2. Top-grade wheat flour and barley tolokno in composite flour mixes

Обозначение смесей	Соотношение компонентов в смесях, %	
	Мука пшеничная в. с.	Толокно ячменное
MT ₀	100	–
MT ₁₀	90	10
MT ₂₀	80	20
MT ₃₀	70	30
MT ₄₀	60	40
MT ₅₀	50	50

сравнительной оценки качественных характеристик был выработан контрольный образец печенья с использованием 100 % муки пшеничной высшего сорта (контроль) (табл. 3).

Технологическая схема лабораторной выработки печенья из композитных смесей муки представлена на рисунке 7.

Тесто для печенья готовили по трехстадийной технологии, предусматривающей предварительное приготовление суспензии и эмульсии (рис. 8).

Для обеспечения качественного процесса формирования теста в лабораторных условиях его расчетную влажность принимали равной $16,0 \pm 0,5$ %. Температура теста составила $24 \pm 1,5$ °C.

Результаты и их обсуждение

Основу формирования структурно-механических характеристик печенья и реологических свойств полуфабрикатов составляют функционально-технологические свойства используемого сырья. Их изучение позволяет прогнозировать и оптимизировать параметры проведения технологического процесса, а также оценить устойчивость продукта к процессам порчи в течение его срока годности [25].

На первом этапе работы для прогнозирования скорости окислительной порчи, являющейся основной причиной изменения качества кондитерских изделий группы печенья, провели исследования жирнокислотного состава жировых фракций муки пшеничной высшего сорта и толокна ячменного. Хроматограммы жирных кислот жировой фракции пшеничной муки и толокна ячменного представлены на рисунках 9 и 10.

Значительная часть жирных кислот жировых фракций муки пшеничной высшего сорта и толокна ячменного представлена легкоокисляющейся линолевой кислотой – 54,8 и 46,8 % соответственно (табл. 4).

Толокно ячменное характеризовалось повышенным содержанием относительно стабильной мононенасыщенной олеиновой кислоты (ω -9) и

Таблица 3. Соотношение основных сырьевых компонентов теста, %

Table 3. Raw components in dough, %

Наименование и характеристики сырья	Рецептурные модели					
	PM ₀ (контроль)	PM ₁₀	PM ₂₀	PM ₃₀	PM ₄₀	PM ₅₀
Мука пшеничная высший сорт	63,0	56,7	50,4	44,1	37,8	31,5
Толокно ячменное	—	6,3	12,6	18,9	25,2	31,5
Маргарин (массовая доля жира 82 %, содержание твердого жира при температуре 20 °С 16–18 %; НЖК 35 %)	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Сахар	17,0	17,0	17,0	17,0	17,0	17,0

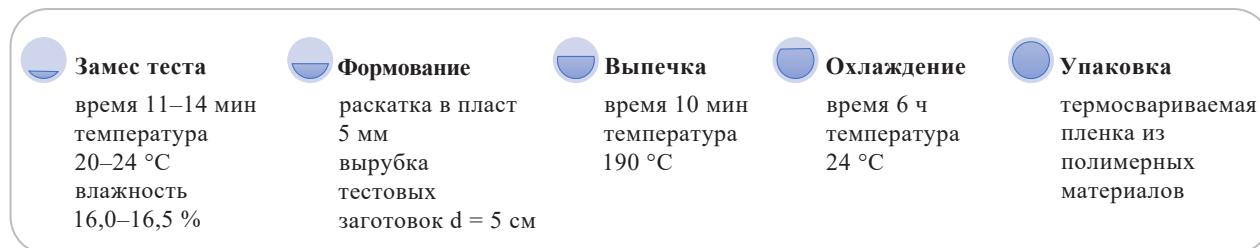


Рисунок 7. Технологическая схема лабораторной выработки рецептурных моделей печенья

Figure 7. Laboratory production of formulation models: technological scheme

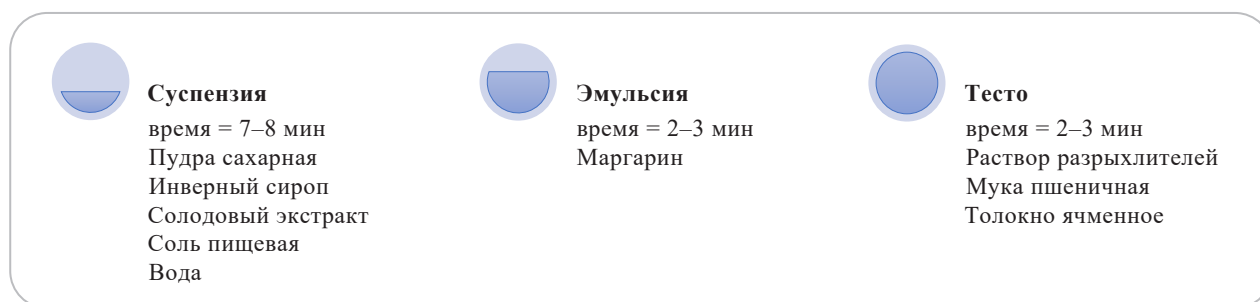


Рисунок 8. Технологическая схема приготовления теста для печенья по трехстадийной технологии

Figure 8. Technological scheme for biscuit dough: a three-stage technology

Таблица 4. Жирнокислотный состав жировой фракции муки пшеничной высшего сорта и толокна ячменного

Table 4. Fatty acid composition: top-grade wheat flour vs. barley tolokno

Жирная кислота	Жирнокислотный состав жировой фракции, %	
	Мука пшеничная в. с.	Толокно ячменное
Миристиновая C _{14:0}	0,2	0,3
Пальмитиновая C _{16:0}	18,6	25,4
Стеариновая C _{18:0}	2,0	2,1
Олеиновая C _{18:1}	15,9	21,1
Линолевая C _{18:2}	54,0	46,8
Линоленовая C _{18:3}	2,6	0,6
Арахидовая C _{20:0}	1,2	2,9

меньшим содержанием линолевой кислоты (ω -6) по сравнению с пшеничной мукой. Это позволило прогнозировать лучшую сохранность и низкую скорость окислительных процессов в печенье, приготовленном с его использованием.

На процесс получения сахарного печенья влияют физико-химические показатели муки пшеничной [26]. Исследовали качественные характеристики композитных смесей муки и установили основные тенденции их влияния на технологический процесс. Физико-химические показатели смесей в сравнении с мукой хлебопекарной пшеничной высшего сорта представлены в таблице 5.

Введение толокна ячменного в композитные смеси муки привело к изменению их химического состава. По сравнению с МТ₀ в образце МТ₅₀ наблюда-

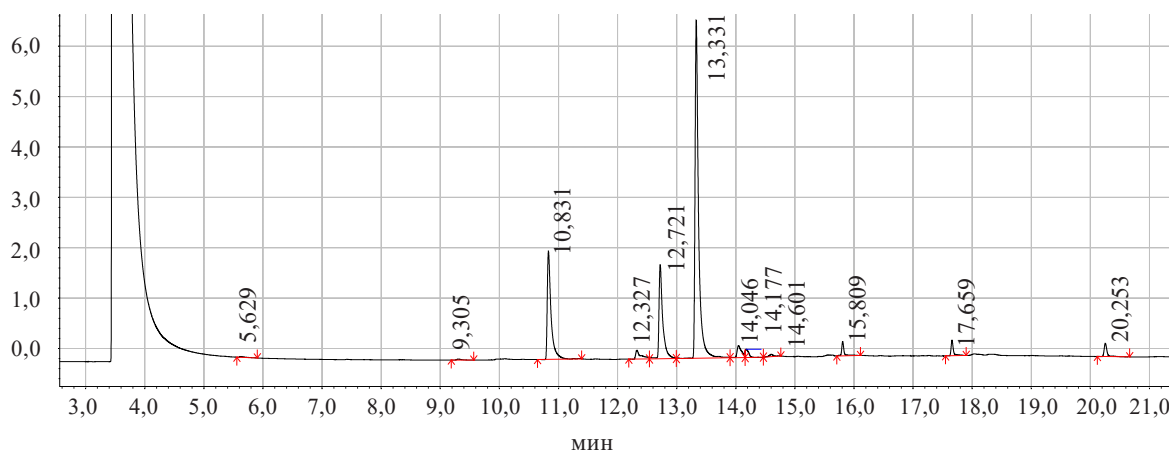


Рисунок 9. Хроматограмма жирных кислот жировой фракции пшеничной муки

Figure 9. Fatty acids in wheat flour fat

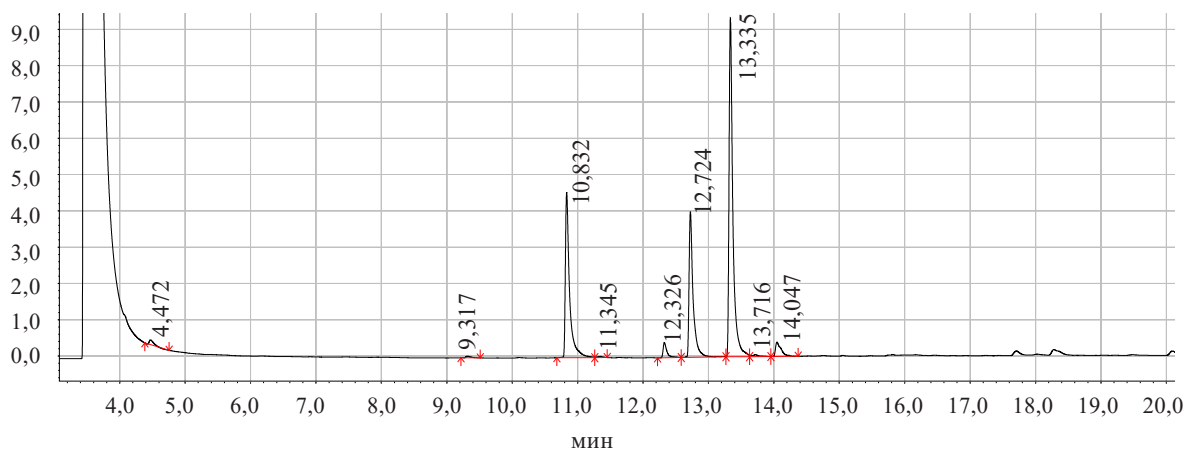


Рисунок 10. Хроматограмма жирных кислот жировой фракции ячменного толокна

Figure 10. Fatty acids in barley tolokno fat

Таблица 5. Физико-химические показатели муки пшеничной высшего сорта (MT_0) и композитных смесей мукиTable 5. Physical and chemical parameters: top-grade wheat flour (MT_0) vs. composite flour

Название показателя	Композитная смесь муки					
	MT_0	MT_{10}	MT_{20}	MT_{30}	MT_{40}	MT_{50}
Массовая доля влаги, %	10,0	9,8	9,7	9,7	9,6	9,6
Массовая доля белка, %	11,5	11,7	12,0	12,2	12,6	12,8
Массовая доля жира, %	1,4	1,6	1,9	2,2	2,4	2,7
Насыпная плотность, кг/м ³	676	658	617	568	526	481
Массовая доля пищевых волокон, %	3,7	5,3	6,9	8,5	10,1	11,8
Массовая доля золы, %	0,52	0,58	0,64	0,70	0,76	0,83

лось увеличение содержания белка на 11 %, жира – в 2 раза, общее количество пищевых волокон – в 3,2 раза.

Одной из базовых технологических характеристик муки как сыпучего материала является ее плотность. Насыпная плотность исследован-

ных образцов, обусловленная размером частиц и характером их взаимодействия, варьировалась в пределах 481–676 кг/м³. Насыпная плотность находится в обратной зависимости от размера частиц муки. Наименьшим размером частиц муки характеризовался контрольный образец MT_0

(625 кг/м³), наибольшим – МТ₅₀ (481 кг/м³), разница в них составила около 30 %. Высокая дисперсность муки может обуславливать интенсификацию химико-технологических процессов при замесе теста из-за наличия большей активной поверхности для межфазового взаимодействия.

На увеличение массовой доли золы в смесях может оказывать влияние большое количество минеральных веществ в толокне ячменном. Данный фактор может оказывать влияние на функционально-технологические свойства клейковины муки и приводить к снижению качества готовых изделий [27].

Количество белка в муке и его способность образовывать клейковину определенного качества влияют на формирование структуры теста. Для технологической оценки муки большое значение имеет качество клейковины, определяемое совокупностью реологических свойств (растяжимости, упругости, эластичности). Для получения сахарного печенья с высокими качественными характеристиками желательно использовать пшеничную муку со средней или слабой, легко растяжимой и не очень эластичной клейковиной. Изменение количества и качества клейковины, образованной белками пшеницы и ячменя, в композитных смесях муки при введении толокна ячменного представлено на рисунке 11.

Добавление в смеси муки толокна ячменного привело к снижению общего количества сырой клейковины, обусловленному количеством и свойствами проламинов ячменя. По сравнению с мукой пшеничной МТ₀ (28 %) количество клейковины уменьшалось в следующей последовательности: МТ₁₀ (26,4 %) > МТ₂₀ (24,7 %) > МТ₃₀ (23,1 %) > МТ₄₀ (20,6 %). Снижение количества клейковины может оказывать положительное влияние на

качество готового изделия, создавая оптимальные условия для формирования теста необходимой пластичной структуры. Добавление толокна ячменного привело к изменению качественных характеристик клейковины в смесях. Образцы МТ₀ (75 ед. ИДК), МТ₁₀ (70 ед. ИДК) и МТ₂₀ (63 ед. ИДК) имели клейковину I группы, характеризующуюся хорошей эластичностью, умеренной упругостью и средней растяжимостью. Снижение числового значения показателя свидетельствовало об укреплении клейковины. Образцы МТ₃₀ (42 ед. ИДК) и МТ₄₀ (40 ед. ИДК) характеризовались крепкой клейковиной II группы с удовлетворительной эластичностью и слабой растяжимостью. Использование пшеничной муки с крепкой клейковиной может отрицательно влиять на качественные характеристики сахарного печенья и приводить к снижению его пористости и рассыпчатости [28]. В данном исследовании клейковина образована белками пшеницы и ячменя, что может изменять ее свойства и не оказывать негативного влияния на качество готового изделия. В образце МТ₅₀ определение количества клейковины вызвало объективные трудности: она отмывалась в виде отдельных мелких частиц и плохо собиралась в комок, приводя к большим погрешностям в параллельных измерениях. В результате этого данный образец при сравнительных исследованиях количества и качества клейковины не рассматривался.

В процессе тестообразования важную роль играет процесс осмотического набухания низкомолекулярной фракции белков муки (глиадина), при котором происходит увеличение объема ее мицелл, связывание основного количества воды и формирование теста определенной вязкости, эластичности и упругости [28]. С целью прогнозирования основных реологических характеристик теста провели

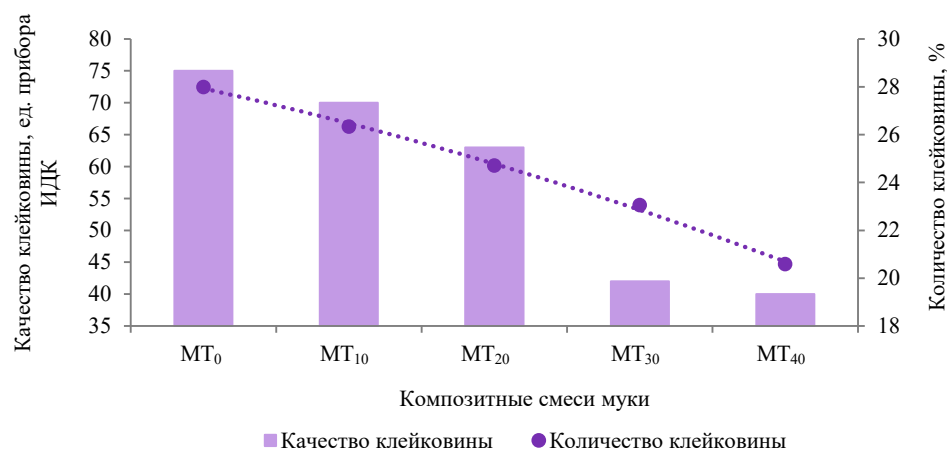


Рисунок 11. Изменение количества и качества клейковины в композитных смесях муки

Figure 11. Quantity and quality of gluten in composite flour

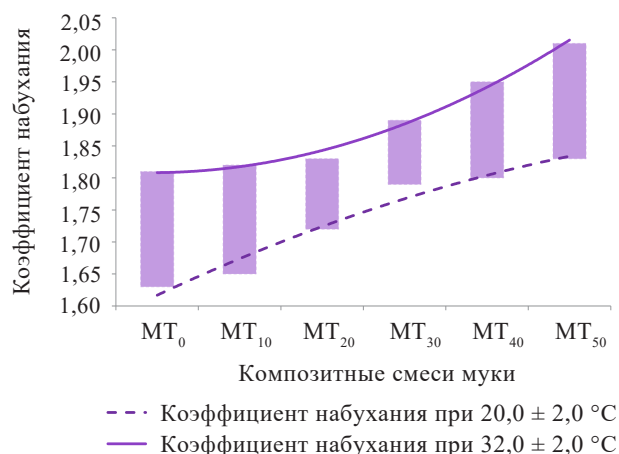


Рисунок 12. Изменение коэффициента набухания композитных смесей муки в зависимости от температуры

Figure 12. Effect of temperature on swelling coefficient of composite flour

исследование коэффициента набухания композитных смесей муки в разных диапазонах температур: $t_1 = 20,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ и $t_2 = 32 \pm 2,0^\circ\text{C}$ (рис. 12).

Установлено, что коэффициент набухания находился в прямой зависимости от количества толокна ячменного в смесях муки. Максимальные значения коэффициентов набухания демонстрировал образец MT₅₀: при t_1 – 1,81, при t_2 – 2,01. Это связано с преобладанием в составе толокна гидрофильных коллоидов, а также могло быть обусловлено синергетическим характером взаимодействия белков и полисахаридов муки и толокна при протекании процесса набухания. Коэффициенты набухания контрольного образца MT₀ (при t_1 – 1,63, при t_2 – 1,81) были ниже в среднем на 10 %. Таким образом, на стадии замеса образцы с толокном ячменным могут потребовать регулирования количества воды для образования теста требуемой консистенции. Установлено, что показатели коэффициента набухания образцов смесей находились в прямой зависимости от их температуры. Минимальные различия числовых значений в исследуемых диапазонах температур наблюдались в образцах MT₂₀ (при t_1 – 1,72, при t_2 – 1,83) и MT₃₀ (при t_1 – 1,79, при t_2 – 1,89).

Важным функциональным свойством в технологии пищевых продуктов является гидрофильные и липофильные свойства коллоидов зерновой муки, обуславливающие их способность вступать во взаимодействие с водой и жиром, что влияет на формирование реологических характеристик теста [29].

Исследована абсорбционная способность (АС) пшеничной муки и композитных смесей по воде (АС_в) и жиру (АС_ж) – показателям, характери-

зующим максимальное количество воды и жира, которое они могут связать и удержать при взаимодействии (рис. 13).

При увеличении массовой доли толокна ячменного в композитных смесях наблюдалась тенденция увеличения АС_в: в образце MT₅₀ составила 125 % и превысила значения в остальных образцах на 6 % для MT₄₀, 15 % для MT₃₀, 20 % для MT₂₀, 26 % для MT₁₀ и 35 % для MT₀. Это можно объяснить наличием в толокне ячменном большего количества гидрофильных коллоидов по сравнению с пшеничной мукой. АС_в является важной технологической характеристикой, оказывающей влияние на проведение процесса тестообразования и формирование реологических характеристик теста. Поэтому при использовании толокна ячменного в технологии сахарного печенья может потребоваться изменение технологических параметров и корректировка количества воды на стадии замеса.

АС_ж является важным технологическим свойством сыпучего сырья в производстве пищевых продуктов. Высокие значения данного показателя способствуют повышению стабильности изделий, снижению скорости окислительной порчи в процессе хранения и увеличению срока годности. Показатели АС_ж образцов смесей демонстрировали схожий характер: максимальную липофильную тенденцию имел образец с высоким содержанием толокна ячменного MT₅₀ – 65,7 %, затем следуют MT₄₀ (65,1 %) > MT₃₀ (64,8 %) > MT₂₀ (63,3 %) > MT₁₀ (62,8 %) > MT₀ (61,6 %). Можно предположить, что образцы с толокном ячменным будут более эффективно вступать во взаимодействие с жировой фракцией теста и способствовать ее удержанию в процессе хранения печенья.

Вторым этапом настоящей работы стало исследование динамики изменения качественных характеристик и реологических показателей модельных суспензий из композитных смесей муки пшеничной в. с. и толокна ячменного.

При проведении технологических процессов производства многокомпонентных кондитерских систем большое значение имеют их реологические свойства, определяющие реакцию дисперсных систем на внешние механические воздействия. Они являются наиболее показательными как по диапазону возможных изменений, так и по чувствительности к различным видам внешнего воздействия. Одними из важнейших реологических свойств дисперсных систем являются вязкость и текучесть. Следует учитывать, что эти показатели могут изменяться под действием механических факторов в результате изменения напряжения сдвига, скорости деформации и скорости изменения объема структуры [30, 31].

Исследование зависимости эффективной вязкости и предела текучести дисперсной системы с

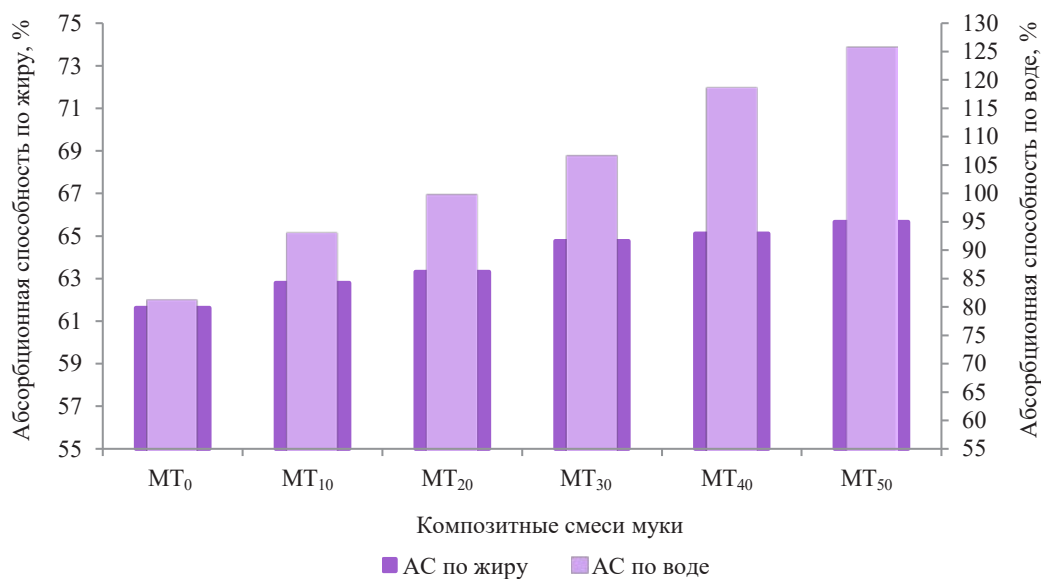


Рисунок 13. Абсорбционная способность композитных смесей муки по воде и жиру

Figure 13. Water and fat absorption capacity of composite flour mixes

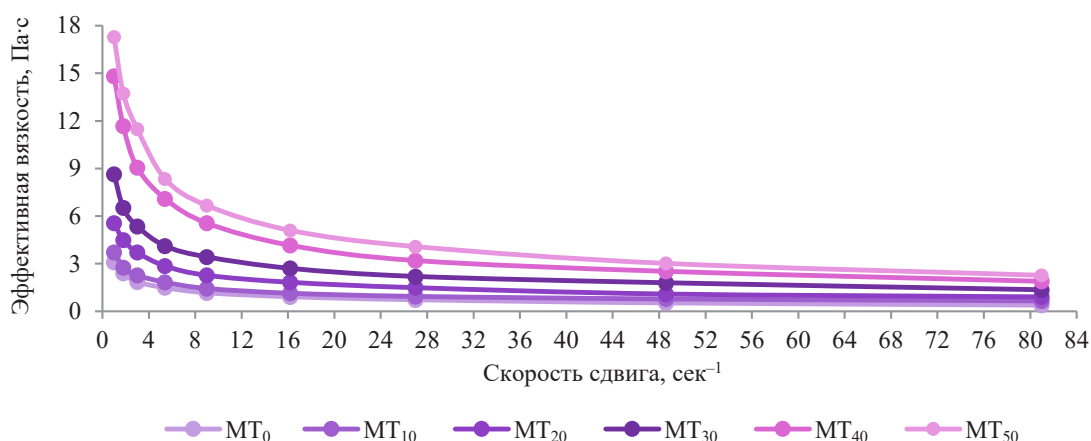


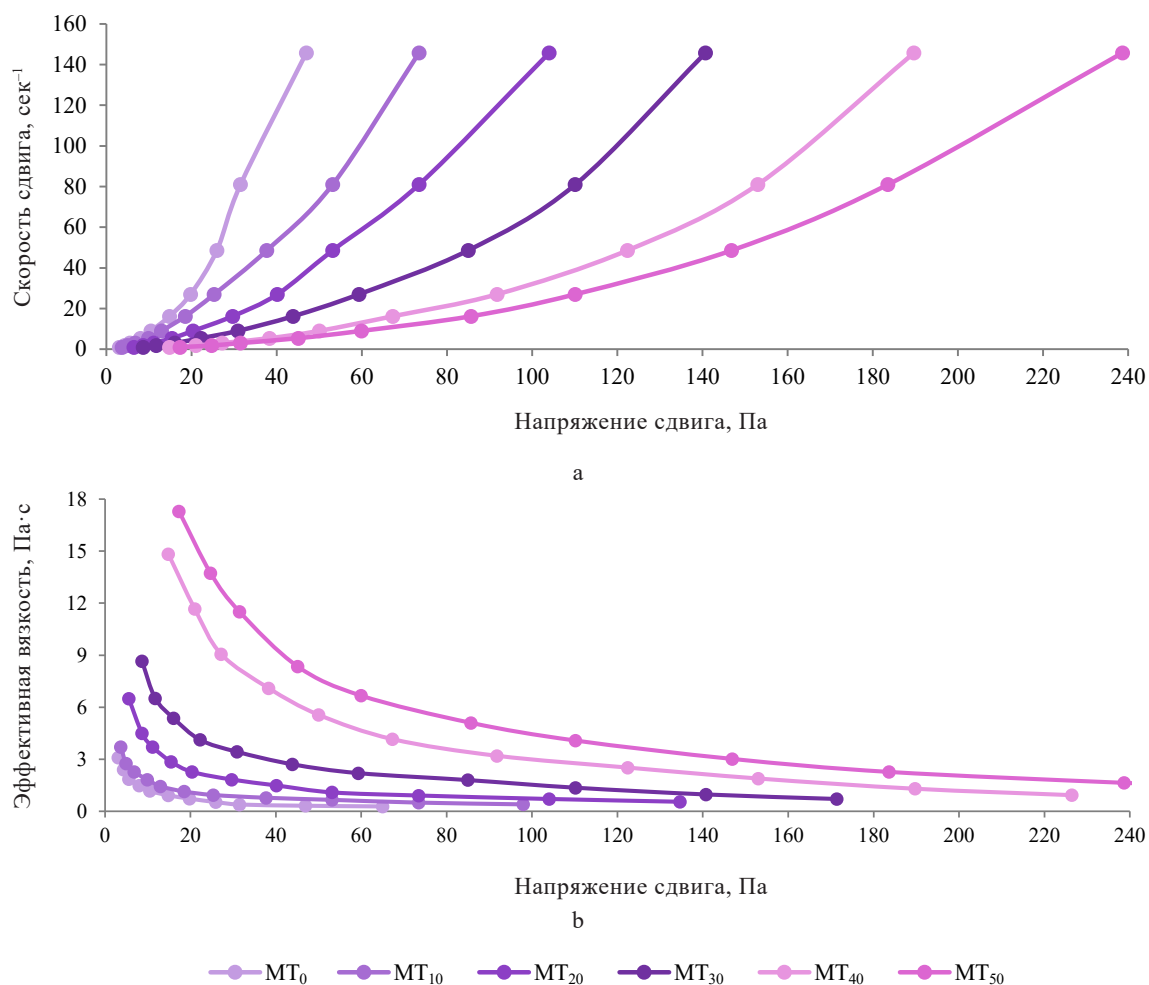
Рисунок 14. Характер зависимости эффективной вязкости модельных суспензий от скорости сдвига

Figure 14. Effect of shear rate on effective viscosity of model suspensions

толокном ячменным от скорости сдвига проводили на модельных суспензиях, состоящих из исследуемой композитной смеси муки и воды. Данный подход исключает влияние других видов сырья (сахара, инвертного сиропа, жира) на величину данных показателей и динамику их изменений, а также позволяет выявить направленность процесса и установить общие тенденции образования коллоидных структур с толокном ячменным. Для интенсификации коллоидных процессов и получения слабоструктурированной системы массовую долю влаги модельных суспензий принимали равной 68,5 %.

Контрольным образцом являлась модельная суспензия с использованием муки пшеничной высшего сорта. Кривые зависимости $\eta_{\text{эф}} = f(\dot{\gamma})$ представлены на рисунке 14.

При минимальной скорости сдвига, по сравнению с MT₀, наблюдаюся увеличение показателей вязкости суспензий с толокном ячменным в 5,5 раз для MT₅₀, в 4,8 раз для MT₄₀, в 2,8 раз для MT₃₀, в 1,8 раз для MT₂₀ и в 1,2 раза для MT₁₀, обусловленное наличием в его составе пищевых волокон и водорастворимых полисахаридов, упрочняющих коагуляционную структуру суспензий. Все образцы модельных суспензий демонстрировали сходный характер кривых течения, их вязкость падала с

Рисунок 15. Характер полных реологических кривых течения (а) и вязкости (б) модельных суспензий ($t = 25 \pm 1^\circ\text{C}$)Figure 15. Full rheological flow curves (a) and viscosity (b) of model suspensions ($t = 25 \pm 1^\circ\text{C}$)

увеличением скорости сдвига. Суспензии со всеми композитными смесями обладали нестойкой структурой, поскольку при повышении скорости сдвига наблюдалось резкое падение его вязкости при изменении малых скоростей. При изменении скорости сдвига от 1 до 3 с^{-1} вязкость модельных суспензий на всех композитных смесях снижалась почти на 40 %, а при повышении скорости сдвига с 48 до 50 с^{-1} снижение вязкости составляло около 5 %. При производстве сахарного печенья вязкость теста оказывает влияние на качественное проведение процесса формования на машине роторного типа. Следовательно, при использовании толочка ячменного необходим мониторинг и корректировка данного показателя при необходимости.

Полные реологические кривые течения и вязкости модельных суспензий, полученные в результате проведенных исследований, представлены на рисунке 15.

Течение материалов зависит от его физико-химических особенностей: от формы и расположения молекул, концентрации, температуры и массовой доли влаги [32, 33]. С увеличением концентрации растворенного вещества повышается вязкость среды и изменяется характер ее течения. Полученные в работе кривые течения модельных суспензий были характерны для структурированных систем. При малых скоростях сдвига суспензии имели постоянную максимальную вязкость: $\text{MT}_{50} (17,3 \text{ Па}\cdot\text{с}) > \text{MT}_{40} (14,8 \text{ Па}\cdot\text{с}) > \text{MT}_{30} (8,65 \text{ Па}\cdot\text{с}) > \text{MT}_{20} (5,6 \text{ Па}\cdot\text{с}) > \text{MT}_{10} (3,7 \text{ Па}\cdot\text{с}) > \text{MT}_0 (3,1 \text{ Па}\cdot\text{с})$. С повышением скорости сдвига и напряжения происходило постепенное разрушение структуры, и достигалась постоянная конечная вязкость. Это реологическое свойство дисперсных систем объясняют тем, что в неподвижной среде расположение частиц характеризуется хаотичностью, а под действием возрастающих сдвигающих сил происходит ориентация частиц в направлении течения. С повышением скорости

Таблица 6. Качественные характеристики готовых изделий

Table 6. Qualitative characteristics of finished products

Наименование показателя	Рецептурные модели					
	PM ₀ (контроль)	PM ₁	PM ₂	PM ₃	PM ₄	PM ₅
Массовая доля влаги, %	6,4	6,3	6,8	6,5	6,2	6,2
Намокаемость, %	190	190	200	221	227	190
Активность воды	0,557	0,408	0,382	0,360	0,323	0,310

также уменьшается взаимодействие между частицами [32, 33]. У исследованных образцов установлены два предела текучести: условный статический и условный динамический. Наибольший статический предел текучести, являющийся критическим для разрушения структуры напряжением, имел образец MT₅₀ (8,5 Па). Это свидетельствовало о большей прочности его пространственной структуры, сформированной коллоидами толокна и муки пшеничной. В остальных образцах показатель статического предела текучести уменьшался по мере снижения количества толокна: MT₄₀ (7,5 Па) > MT₃₀ (5,0 Па) > MT₂₀ (4,0 Па) > MT₁₀ (2,0 Па) > MT₀ (1,0 Па). Устойчивость суспензий с толокном к разрушению подтверждалась величиной динамического предела текучести, после превышения которой происходило резкое разрушение структуры образцов до наименьшего показателя вязкости, соответствующего полностью разрушенной структуре: MT₅₀ (30 Па) > MT₄₀ (24 Па) > MT₃₀ (14 Па) > MT₂₀ (10 Па) > MT₁₀ (5 Па) > MT₀ (2,0 Па). С увеличением количества толокна ячменного повышалась разница между показателями максимальной и минимальной вязкости модельных суспензий, что свидетельствовало о постепенном переходе высокомолекулярной системы к свойствам твердообразной структуры. Индекс течения у всех образцов был меньше 1, что характеризовало модельные суспензии с толокном ячменным как неньютоновские псевдопластичные системы.

Исследование качественных характеристик и органолептических показателей готовых изделий, выработанных с использованием композитных смесей муки пшеничной в. с. и толокна ячменного, стало третьим этапом исследования. Качественные характеристики готовых изделий представлены в таблице 6.

Значения показателей щелочности и массовой доли золы во всех образцах печенья находились в пределах, регламентируемых ГОСТ 24901.

Одной из составляющих оценки свойств сахарного печенья является его намокаемость, т. е. способность к впитыванию влаги структурой изделия. При введении в рецептуру толокна ячменного наблюдается положительная динамика изменения данного показателя, свидетельствующая об улучшении структуры печенья. Это может быть обусловлено

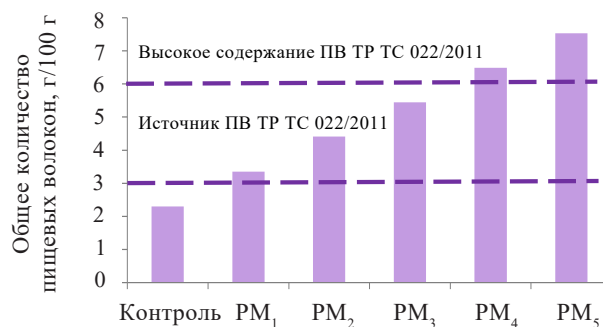


Рисунок 16. Содержание общего количества пищевых волокон в рецептурных моделях печенья

Figure 16. Total dietary fiber content in model formulations

снижением общего количества клейковины муки в изделии, способствующей формированию упруго-вязких свойств теста и отрицательно влияющей на качественные характеристики сахарного печенья.

Существует взаимосвязь между содержанием воды в продуктах питания и скоростью их порчи. Стабильность печенья при хранении связана не с общей массовой долей влаги, а с ее доступностью для участия в химических реакциях, приводящих к ухудшению качества изделия. Количество влаги в продуктах, непосредственно участвующей в различных химических реакциях, характеризует показатель активности воды (A_w). Установлена обратная зависимость показателя активности воды печенья от количества толокна ячменного: при увеличении содержания толокна ячменного активность воды печенья уменьшается с 0,557 до 0,310. Это обусловлено связыванием свободной влаги печенья с химическими компонентами толокна ячменного, такими как пищевые волокна и белки.

В работе проведены исследования количества пищевых волокон в печенье с толокном ячменным (рис. 16).

Введение толокна ячменного обеспечило увеличение количества пищевых волокон в готовых изделиях. По сравнению с контрольным образцом (2,3 %) количество пищевых волокон в печенье увеличилось в 1,5 раза для PM₁, 1,9 раза для PM₂, 2,4 раза для PM₃, 2,8 раза для PM₄ и 3,3 раза для PM₅. Техническим регламентом Таможенного Со-

юза 021/2011 закреплено понятие обогащенной пищевой продукции – это продукция, в которую добавлены пищевые вещества, не присутствующие в ней изначально либо присутствующие в недостаточном количестве или утерянные в процессе производства. Гарантированное изготовителем содержание каждого пищевого вещества, использованного для обогащения, должно быть доведено до уровня источника. В соответствии с требованиями ТР ТС 022/2011 в продукте, являющимся источником пищевых волокон, должно содержаться не менее 3 г пищевых волокон на 100 г продукта; высокое содержание пищевых волокон – 6 г на 100 г продукта. В связи с этим все образцы печенья с толокном ячменным относились к категории продукции, обогащенной пищевыми волокнами: образцы РМ₁–РМ₃ являлись источниками пищевых волокон, образцы РМ₄ и РМ₅ имели их высокое содержание.

Периодичность и методы контроля содержания пищевых волокон при производстве обогащенных ими мучных кондитерских изделий должны быть определены и закреплены в нормативной документации производителя. Регламентируемое количество пищевых волокон в обогащенных продуктах должно гарантировано обеспечиваться на конец их срока годности.

Важным аспектом, влияющим на формирование качества и восприятие пищевой продукции, являются органолептические характеристики. В данной работе оценку готовых изделий осуществляли с использованием количественного и качественного методов. При количественном методе тестируемый образец печенья оценили по 5-балльной системе по следующим критериям качества: форма, поверхность, цвет, вид в изломе, запах, вкус и текстура. Результаты исследований представлены на рисунке 17 и в таблице 7.

Результаты органолептических исследований показали, что исследуемые образцы печенья с толокном ячменным имели высокую дегустационную оценку по всем рассматриваемым дескрипторам. В изделиях присутствовал кремово-коричневый оттенок цвета, и наблюдалось усиление его интенсивности по мере увеличения количества толокна. Образец РМ₅ имел приятный светло-коричневый цвет. В образцах РМ₃–РМ₅ появлялся легкий зерновой оттенок во вкусе и запахе, без доминирующей ноты, но отличающий образцы от контрольного. Это обусловило снижение данного показателя на 0,25–0,5 балла. Установлено влияние толокна ячменного на текстуру изделия. Начиная с образца РМ₃, в изделиях появлялась упругость при разжевывании, обусловленная присутствием пищевых волокон, не влияющая отрицательно на органолептическую оценку печенья. Образец РМ₅ характеризовался меньшей рассыпчатостью, несколько рыхлой мягкой структурой, не оказывающей негативного влияния

на восприятие изделия. Образцы с толокном ячменным отличались равномерно развитой выраженной структурой пор. Всеми дегустаторами отмечено положительное восприятие изделий с ячменным толокном, их сбалансированный гармоничный вкус и мягкая разрыхленная текстура.

Выводы

Толокно ячменное является продуктом переработки цельного зерна ячменя, что обуславливает его высокую питательную ценность, сформированную за счет большого количества пищевых волокон, в том числе водорастворимых β -глюканов, α -токотриентола, незаменимых аминокислот и ряда других фитохимических веществ.

Введение толокна ячменного в композитные смеси муки привело к изменению их макронутриентного состава: увеличению содержания белка и жира и возрастанию общего количества пищевых волокон. Добавление толокна ячменного в рецептурный состав сахарного печенья приводит к увеличению содержания линолевой и уменьшению линолевой кислот в жировой фракции, что может обуславливать повышение его сохранности по сравнению печеньем, изготовленным с использованием пшеничной муки. Установлено снижение насыпной плотности композитных смесей муки с толокном, что связано с большим размером частиц толокна по сравнению с мукой пшеничной высшего сорта. Добавление ячменного толокна в композитные смеси муки обусловило снижение общего количества сырой клейковины и изменение ее качественных характеристик. Снижение количества клейковины

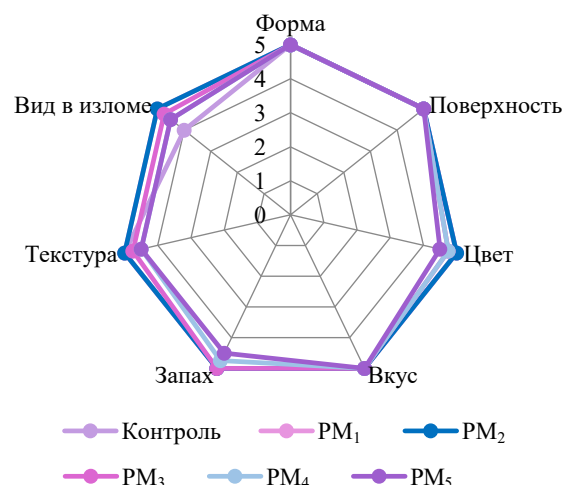


Рисунок 17. Органолептическая оценка контрольного образца и рецептурных моделей печенья с использованием количественного метода

Figure 17. Sensory profile: experimental biscuits with tolokno vs. control

Таблица 7. Органолептическая оценка контрольного образца и рецептурных моделей печенья с использованием качественного метода

Table 7. Sensory evaluation by qualitative method: experimental biscuits with tolokno vs. control

Наименование показателя	Рецептурные модели					
	PM ₀ (контроль)	PM ₁	PM ₂	PM ₃	PM ₄	PM ₅
Форма	Правильная, круглая, равномерная по всей толщине, без вздутий и повреждений края					
Поверхность	Гладкая, ровная, сухая, без трещин и прочих дефектов					
Цвет	Равномерный по всему объему изделия, насыщенный светло-соломенный	Равномерный по всему объему, светло-соломенный со слегка кремовым оттенком	Равномерный по всему объему, соломенный с кремовым оттенком	Равномерный по всему объему, соломенный с кремово-коричневым оттенком	Равномерный по всему объему, соломенный с коричневым оттенком	Равномерный по всему объему, светло-коричневый
Вкус и запах	Свойственные выпеченному изделию, характерно выраженные	Свойственные выпеченному изделию, характерно выраженные, приятные, гармоничные	Свойственные выпеченному изделию, характерно выраженные, приятные, гармоничные	Свойственные выпеченному изделию, характерно выраженные. Легкий зерновой оттенок во вкусе и запахе	Свойственные выпеченному изделию, характерно выраженные. Легкий зерновой оттенок во вкусе и запахе	Свойственные выпеченному изделию, характерно выраженные. Легкий зерновой оттенок во вкусе и запахе
Текстура	При раскусывании или разламывании рассыпчатая, не требующая продолжительного жевания, сухая, песчанистая			При раскусывании или разламывании рассыпчатая, при разжевывании несколько упругая	При раскусывании или разламывании рассыпчатая, при разжевывании несколько упругая	При раскусывании или разламывании слегка рассыпчатая, при разжевывании несколько упругая, рыхлая, мягкая
Вид в изломе	Пропеченное по всему объему, без пустот и следов непромеса, с равномерной пористостью	Пропеченное по всему объему, без пустот и следов непромеса, с равномерно развитой мелкопористой структурой				Пропеченное по всему объему, без пустот и следов непромеса, со среднего размера равномерными выраженными порами

может выступать положительным фактором при использовании хлебопекарной пшеничной муки в производстве сахарного печенья, способствуя формированию вязко-пластичной структуры теста и получению продукта с требуемыми свойствами и структурой. Исследованные в работе показатели абсорбционной способности композитных смесей по воде и жиру положительно коррелировали с количеством толокна ячменного. Толокно ячменное обеспечивало увеличение вязкости и предела текучести модельных суспензий, обусловленное наличием в его составе пищевых волокон и водорастворимых полисахаридов, упрочняющих их коагуляционную структуру. Введение толокна яч-

менного в рецептуру сахарного печенья, в зависимости от концентрации, приводит к повышению намокаемости и снижению показателя активности воды готовых изделий. Введение толокна ячменного обеспечило увеличение содержания количества пищевых волокон в готовых изделиях. Это позволило отнести такие изделия к категории обогащенной пищевой продукции. Оптимальным количеством для сахарного печенья стало введение 40 % толокна ячменного взамен части муки пшеничной, обеспечивающее сохранение его традиционной сухой рассыпчатой текстуры. Данное количество толокна позволило повысить содержание пищевых волокон в 100 г изделия до 6,5 г и отнести печенье

к категории изделий с их высоким содержанием. Дальнейшее увеличение количества ячменного толокна изменяло текстуру изделия: снижало рассыпчатость, увеличивало мягкость и сдобность. Это не сказывалось отрицательно на приемлемости и органолептических характеристиках образца, но не позволяло отнести его к группе сахарного печенья.

Использование толокна ячменного взамен части муки в рецептуре сахарного печенья открывает широкие перспективы для создания мучных кондитерских изделий, являющихся источником пищевых волокон в соответствии требованиями ТР ТС 022/2011.

Критерии авторства

С. Ю. Мистенева – 45 %, Н. А. Щербакова – 30 %, Н. Б. Кондратьев – 25 %.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

S.Yu. Misteneva – 45%, N.A. Shcherbakova – 30%, N.B. Kondrat'ev – 25%.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Galanakis CM. Functionality of food components and emerging technologies. *Foods*. 2021;10(1). <https://doi.org/10.3390/foods10010128>
2. Martini D, Tucci M, Bradfield J, Di Giorgio A, Marino M, Del Bo' C, *et al*. Principles of sustainable healthy diets in worldwide dietary guidelines: Efforts so far and future perspectives. *Nutrients*. 2021;13(6). <https://doi.org/10.3390/nu13061827>
3. Bakery confectionery market in Russia in 2016–2020, forecast for 2021–2025 Retail structure. Assessing the Impact of the COVID-19 epidemic. Moscow: RBK press; 2021. 125 p. (In Russ.). [Анализ рынка мучных кондитерских изделий в России в 2016–2020 гг, прогноз на 2021–2025 гг. Структура розничной торговли. Оценка влияния коронавируса. М.: РБК пресс, 2021. 125 с.].
4. Goubgou M, Songré-Ouattara LT, Bationo F, Lingani-Sawadogo H, Traoré Y, Savadogo A. Biscuits: A systematic review and meta-analysis of improving the nutritional quality and health benefits. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2021;3. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00071-z>
5. de Cassia Nogueira A, Steel CJ. Protein enrichment of biscuits: A review. *Food Reviews International*. 2018;34(8):796–809. <https://doi.org/10.1080/87559129.2018.1441299>
6. Swaminathan S, Dehghan M, Raj JM, Thomas T, Rangarajan S, Jenkins D, *et al*. Associations of cereal grains intake with cardiovascular disease and mortality across 21 countries in Prospective Urban and Rural Epidemiology study: Prospective cohort study. *BMJ*. 2021;372. <https://doi.org/10.1136/bmj.m4948>
7. Rico D, Peñas E, García MC, Martínez-Villaluenga C, Rai DK, Birsan RI, *et al*. Sprouted barley flour as a nutritious and functional ingredient. *Foods*. 2020;9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030296>
8. Cereals and wholegrain foods [Internet]. [cited 2022 Apr 26]. Available from: <https://www.betterhealth.vic.gov.au/health/healthyliving/cereals-and-wholegrain-foods>
9. Cena H, Calder PC. Defining a healthy diet: Evidence for the role of contemporary dietary patterns in health and disease. *Nutrients*. 2020;12(2). <https://doi.org/10.3390/nu12020334>
10. Iannucci A, Suriano S, Codianni P. Genetic diversity for agronomic traits and phytochemical compounds in coloured naked barley lines. *Plants*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/plants10081575>
11. Idehen E, Tang Y, Sang S. Bioactive phytochemicals in barley. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2017;25(1):148–161. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.08.002>
12. Barber TM, Kabisch S, Pfeiffer AFH, Weickert MO. The health benefits of dietary fibre. *Nutrients*. 2020;12(10). <https://doi.org/10.3390/nu12103209>
13. O'Keefe SJ. The association between dietary fibre deficiency and high-income lifestyle-associated diseases: Burkitt's hypothesis revisited. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2019;4(12):984–996. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30257-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30257-2)
14. Nirmala Prasadi VP, Joye JJ. Dietary fibre from whole grains and their benefits on metabolic health. *Nutrients*. 2020;12(10). <https://doi.org/10.3390/nu12103045>
15. Zurbau A, Noronha JC, Khan TA, Sievenpiper JL, Wolever TMS. The effect of oat β -glucan on postprandial blood glucose and insulin responses: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2021;75:1540–1554. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00875-9>
16. Johnson J, Wallace T. Whole grains and their bioactives: Composition and health. John Wiley and Sons; 2019. 512 p. <https://doi.org/10.1002/9781119129486>

17. Punia Bangar S, Siroha A, Kumar M. Handbook of cereals, pulses, roots, and tubers. Functionality, health benefits, and applications. Boca Raton: CRC Press; 2021. 652 p. <https://doi.org/10.1201/9781003155508>
18. Aoe S. Beta-glucan in foods and health benefits. *Nutrients*. 2021;14(1). <https://doi.org/10.3390/nu14010096>
19. Zehiroglu C, Ozturk Sarikaya SB. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*. 2019;56(11):4757–4774. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03952-x>
20. Adebo OA, Medina-Meza IG. Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: A mini review. *Molecules*. 2020;25(4). <https://doi.org/10.3390/molecules25040927>
21. Barley Council of Canada (BCC) [Internet]. [cited 2022 Apr 26]. Available from: https://gobarley.com/wp-content/uploads/2018/03/en-2015-gb_ancient_grain_modern_world_report_p411.pdf
22. Zeng Y, Pu X, Du J, Yang X, Li X, Mandal SN, *et al.* Molecular mechanism of functional ingredients in barley to combat human chronic diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020;2020. <https://doi.org/10.1155/2020/3836172>
23. Kazakov ED, Karpilenko GP. Biochemistry of grain and bakery products. St. Petersburg: GIORД; 2005. 512 p. (In Russ.). [Казиков Е. Д., Карпиленко Г. П. Биохимия зерна и хлебопродуктов. СПб.: ГИОРД, 2005. 512 с.]
24. Chebotarev ON, Shazzo AYU, Martynenko YaF. Technology of flour, cereals, and animal feed. Moscow: MarT, Rostov-on-Don: MarT; 2004. 688 p. (In Russ.). [Чеботарев О. Н., Шаззо А. Ю., Мартыненко Я. Ф. Технология муки, крупы и комбикормов. М.: МарТ, Ростов-на-Дону: МарТ, 2004. 688 с.]
25. Demchenko EA, Savenkova TV, Mizinchikova II. Effects of oils and fats on the quality characteristics, nutritional value, and storage capacity of cookies. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(4):674–689. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-674-689>
26. Savenkova TV, Soldatova EA, Misteneva SYu, Taleisnik MA. Technological properties of flour and their effect on quality indicators of sugar cookies. *Food Systems*. 2019;2(2):13–19. (In Russ.). <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-2-13-19>
27. Cauvain SP, Clark RH. Baking technology and nutrition: Towards a healthier world. John Wiley & Sons; 2019. 222 p.
28. Dragilev AI, Marshalkin GA. Основы кондитерского производства. Moscow: DeLi print; 2005. 531 p. (In Russ.). [Драгилев А. И., Маршалкин Г. А. Основы кондитерского производства. М.: ДеЛи принт, 2005. 531 с.]
29. Dhillon B, Choudhary G, Sodhi NS. A study on physicochemical, antioxidant and microbial properties of germinated wheat flour and its utilization in breads. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;57(8):2800–2808. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04311-x>
30. Joyner HS. Rheology of semisolid foods. Cham: Springer; 2019. 413 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-27134-3>
31. Norton IT, Spyropoulos F, Cox P. Practical food rheology. An interpretive approach. John Wiley & Sons; 2019. 264 p.
32. Kan J, Chen K. Essentials of food chemistry. Singapore: Springer; 2021. 564 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-0610-6>
33. Fennema OR. Chemistry of food. Edition 2. St. Petersburg: Professiya; 2020. 982 p. (In Russ.). [Феннема О. Р. Химия пищевых продуктов. Издание 2-е. СПб.: Профессия, 2020. 982 с.]

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2418>
<https://elibrary.ru/DHXSAX>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Ферментативный гидролиз соевого белка



Д. В. Соколов^{ID}, Б. А. Болхонов^{ID}, С. Д. Жамсаранова^{ID},
С. Н. Лебедева*^{ID}, Б. А. Баженова^{ID}

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления^{ROR},
Улан-Удэ, Россия

Поступила в редакцию: 13.01.2023
Принята после рецензирования: 31.01.2023
Принята к публикации: 07.02.2023

*С. Н. Лебедева: lebedeva1959@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-5664-6028>
Д. В. Соколов: <https://orcid.org/0000-0002-1499-5841>
Б. А. Болхонов: <https://orcid.org/0000-0002-1822-4980>
С. Д. Жамсаранова: <https://orcid.org/0000-0002-0574-1575>
Б. А. Баженова: <https://orcid.org/0000-0001-7380-5959>

© Д. В. Соколов, Б. А. Болхонов, С. Д. Жамсаранова,
С. Н. Лебедева, Б. А. Баженова, 2023



Аннотация.

Соя занимает одно из первых мест среди источников растительного белка. Структурно модифицированные белки сои и продукты их переработки применяются при создании специализированных продуктов питания. Получение ферментативных гидролизатов пищевых белков, обладающих разной степенью гидролиза и функциональной активностью, является актуальным. Целью исследования стало определение оптимальных показателей двухстадийного процесса ферментативной конверсии соевого белка на основе математических методов планирования эксперимента, а также оценка антиоксидантной активности гидролизата.

Провели серию двухфакторных экспериментов в отношении максимального значения степени гидролиза соевого белкового изолята в присутствии ферментов (пепсина и трипсина). Изучили два параметра ферментативной конверсии соевого белка – время гидролиза и фермент-субстратное соотношение. Провели оптимизацию результатов с применением методологии поверхности отклика в профессиональной программе MathCad 15. Суммарная антиоксидантная активность гидролизата в процессе гидролиза была определена на хроматографе Цвет-Яуза-01-АА амперометрическим методом.

Установили оптимальные технологические параметры одностадийного гидролиза: при обработке пепсином – время 7 ч и соотношение фермент:субстрат 1:22, при обработке трипсином – время 7 ч и соотношение фермент-субстрат 1:30. В результате использования математических методов планирования эксперимента определили оптимальные параметры двухстадийного процесса ферментативного гидролиза соевого белка: первая стадия – гидролиз пепсином в течение 5 ч при соотношении фермент-субстрат 1:20, вторая стадия – гидролиз трипсином в течение 3 ч при соотношении фермент-субстрат 1:19. Получили гидролизат со степенью гидролиза 88 %. Наибольшая суммарная антиоксидантная активность отмечена через 5 ч гидролиза и составила около 250 мг/100 мл.

Полученный ферментативный гидролизат соевого белка может быть использован как компонент продуктов питания или кормовая добавка антиоксидантного действия. Полученные пептиды могут стать матрицей для иммобилизации эссенциальных микроэлементов (Zn, I и Se) и разработки поливалентного комплекса. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение остаточной антигенности гидролизата и других показателей его функциональной активности.

Ключевые слова. Соя, протеин, пепсин, трипсин, гидролизат, степень гидролиза, пептиды, антиоксидантная активность

Финансирование. Работа выполнена за счет средств гранта Российского научного фонда (РНФ)^{ROR} № 23-26-00058.

Для цитирования: Ферментативный гидролиз соевого белка / Д. В. Соколов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 86–96. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2418>

Enzymatic Hydrolysis of Soy Protein

**Dmitry V. Sokolov^{ID}, Bulat A. Bolkhonov^{ID},
Sesegma D. Zhamsaranova^{ID}, Svetlana N. Lebedeva*^{ID},
Bayana A. Bazhenova^{ID}**

East Siberia State University of Technology and Management^{ROR}, Ulan-Ude, Russia

Received: 13.01.2023
Revised: 31.01.2023
Accepted: 07.02.2023

*Svetlana N. Lebedeva: lebedeva1959@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-5664-6028>
Dmitry V. Sokolov: <https://orcid.org/0000-0002-1499-5841>
Bulat A. Bolkhonov: <https://orcid.org/0000-0002-1822-4980>
Sesegma D. Zhamsaranova: <https://orcid.org/0000-0002-0574-1575>
Bayana A. Bazhenova: <https://orcid.org/0000-0001-7380-5959>

© D.V. Sokolov, B.A. Bolkhonov, S.D. Zhamsaranova,
S.N. Lebedeva, B.A. Bazhenova, 2023



Abstract.

Soy continues to be one of the top sources of vegetable protein. Structurally modified soy proteins and processed products are used as part of functional foods. Enzymatic hydrolysates of food proteins have different degrees of hydrolysis and functional profiles, hence the constant search for the optimal hydrolysis parameters. The present research objective was to design a two-stage enzymatic conversion process of soy protein using mathematical methods, as well as to evaluate the antioxidant properties of the hydrolysate in laboratory conditions.

Soy protein isolate was tested to define the maximal value of the hydrolysis degree. It underwent a series of two-factor experiments in the presence of pepsin and trypsin. The study focused on the hydrolysis time and the enzyme-substrate ratio. The results were optimized using the response surface methodology in MathCad 15. The total antioxidant activity of the hydrolysate during hydrolysis was determined on a Tsvet-Yauza-01-AA chromatograph using the amperometric method.

For the pepsin test, the processing time was 7 h and the enzyme-to-substrate ratio was 1:22. For the trypsin test, the time was 7 h and the ratio was 1:30. The mathematical modeling revealed the following optimal parameters. The first stage involved hydrolysis with pepsin for 5 h at an enzyme-to-substrate ratio of 1:20; the second stage involved hydrolysis with trypsin for 3 h at an enzyme-to-substrate ratio of 1:19. The resulting hydrolysate demonstrated 88% hydrolysis. The highest summary antioxidant activity was registered after 5 h of hydrolysis and amounted to about 250 mg/100 mL.

The resulting enzymatic hydrolysate of soy protein can be used as a food component or an antioxidant feed additive. The obtained peptides can immobilize essential microelements, e.g., Zn, I, and Se, as well as produce polyvalent complexes. Further studies will be aimed at the residual antigenicity of the hydrolysate and other functional indicators.

Keywords. Soy, protein, pepsin, trypsin, hydrolysate, degree of hydrolysis, peptides, antioxidant activity

Funding. The research was supported by the grant of the Russian Science Foundation (RSF)^{ROR} No. 23-26-00058.

For citation: Sokolov DV, Bolkhonov BA, Zhamsaranova SD, Lebedeva SN, Bazhenova BA. Enzymatic Hydrolysis of Soy Protein. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):86–96. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2418>

Введение

Актуальной проблемой для здоровья современного человека является развитие нарушений обмена веществ, т. н. метаболический синдром. Метаболический синдром формирует кластер метаболических нарушений, включая резистентность к инсулину, атерогенную дислипидемию, центральное ожирение и артериальную гипертензию, а также связан с нарушениями углеводного, липидного и пуринового обменов. Метаболический синдром

способствует повышенному риску развития диабета и сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Наряду с использованием фармакологических средств в профилактике и терапии метаболического синдрома особая роль принадлежит изменению образа жизни, особенно диетических привычек [2]. Эффективность методов лечения и профилактики метаболического синдрома может быть повышена включением в персонализированную диетотерапию пищевых

продуктов, целенаправленно корректирующих те или иные нарушения за счет использования функциональных пищевых ингредиентов и биологически активных добавок различной природы, отвечающих современным требованиям безопасности и эффективности. Такие пищевые продукты относятся к категории специализированной пищевой продукции диетического профилактического и диетического лечебного питания [3, 4].

Среди растительных белков для целей диетической коррекции и профилактики широко используются белки сои. Соевые изоляты содержат более 80 % белка, отличаются высокой усвояемостью и оказывают гипохолестеринемическое и антиатерогенное действие. Из-за высокого содержания белка и универсальности соевые белки являются основным источником белков растительного происхождения и широко потребляются различными группами населения во всем мире. Соевый белок содержит хорошо сбалансированный аминокислотный состав (за исключением серосодержащих, таких как метионин), что делает его похожим на животный белок [5–7].

Актуальной является разработка продуктов питания специализированного назначения, включающих источник полноценного белка, которые не вызывают пищевую непереносимость, являются легкоусвояемыми и обладают хорошими органолептическими показателями. Исследования последних лет направлены на получение ферментативных гидролизатов пищевых белков, которые обладают разной степенью гидролиза и функциональной активностью [8]. По сравнению с кислотным и щелочным гидролизом ферментативный гидролиз предпочтителен, т. к. протекает в «щадящих» для белков условиях и с высокой скоростью [9]. В результате ферментативного гидролиза сохраняется максимально возможная питательная ценность и получается продукт с требуемой степенью гидролиза. Стоит учитывать, что ферменты обладают высокой избирательной способностью, поэтому необходим их предварительный подбор для осуществления направленного гидролитического воздействия на определенные химические связи в молекулах белка [10]. Ферментативный гидролиз белков такими протеазами, как пепсин, трипсин и химотрипсин повторяет естественный процесс их расщепления в организме при пищеварении [11]. Аминокислотный состав в гидролизате, полученном методом ферментативного гидролиза, идентичен аминокислотному составу исходного белка. По сравнению с нативными белками гидролизаты обладают такими преимуществами, как быстрое усваивание организмом, доступность для питания людей с различными нарушениями и заболеваниями органов пищеварения и отсутствие нативных

белков, которые способны вызвать аллергенные реакции. Кроме того, гидролиз белков способствует модификации их функциональных свойств: растворимости, вязкости, пенообразования и эмульгирования, а также повышает их биологическую ценность [12].

Большое количество научных работ и патентных разработок посвящено получению ферментативных гидролизатов на основе белков коровьего молока (казеина, сывороточных белков и цельного белка), поскольку они обладают хорошей растворимостью в воде, сбалансированным составом аминокислот, хорошими органолептическими показателями и являются незаменимыми компонентами продуктов питания специализированного назначения. Большой интерес для исследований вызывают коммерчески доступные яичные белки и белки сои. Для яичных белков характерен сбалансированный аминокислотный состав, а для белков сои – гипоаллергенные, антиоксидантные и гипохолестеринемические свойства. На основании ряда исследований соевые гидролизаты рекомендованы для коррекции и профилактики нарушений липидного обмена и сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения и т. д. [8, 13–17].

Актуальность приобретают разработки технологий получения ферментативных гидролизатов (ферментализатов) белков с применением различных источников пищевого сырья. Эти технологии должны быть простыми в плане аппаратного обеспечения и использовать коммерчески доступные и распространенные белковые субстраты и ферменты. Также они должны обеспечивать возможность изменения белковых субстратов для получения гидролизатов, которые будут обладать необходимыми специальными функциями (изготовление профилактических продуктов антиоксидантной, гипоаллергенной или иммуномодулирующей направленности), а также предназначены для питания лиц с проблемами функционирования желудочно-кишечного тракта, которые не связаны с аллергическими или другими заболеваниями [18].

Пептиды с короткой цепочкой абсорбируются в пищеварительном тракте быстрее и полнее, чем смеси свободных аминокислот [19]. Пептидные смеси, получаемые в процессе протеолиза, имеют преимущества, по сравнению со смесями свободных аминокислот: меньшую осмолярность, способность проявлять различную полезную биологическую активность при приеме с пищей или напитками, стимулировать активность ферментов пищеварения и увеличивать усвоение некоторых эссенциальных минеральных веществ [20]. Исследованиями установлено, что через энтероцитарный барьер кишечной стенки вместе с отдельными аминокислотами могут проходить и некоторые корот-

коцепочечные пептиды. При попадании в кровь последние могут проявлять различную биологическую активность [21]. В ряде исследований показано, что эффективность усвоения аминокислот из гидролизатов пептидов была более высокой, чем всасывание их аналогов из смесей свободных аминокислот [22]. Эти данные повышают интерес исследователей и производителей к технологиям получения белковых гидролизатов и их использования.

По результатам проведенных исследований одной из причин тяжелых хронических заболеваний человека называют окислительный стресс, в основе которого лежат накопление активных форм кислорода и дисбаланс между их образованием и нейтрализацией. Заболевания и расстройства, вызванные окислительным стрессом, включают сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания, хроническую обструктивную болезнь легких, хроническую болезнь почек, рак и др. [23]. Окислительный стресс является основной причиной индукции клеточного апоптоза, повреждения тканей и патологических изменений в организме [24].

Вредное воздействие свободных радикалов, образующихся в результате окислительного стресса, можно снизить путем систематического употребления пищевых продуктов, напитков и БАД, обладающих высокой антиоксидантной активностью. Антиоксидантная способность пептидов, полученных из пищевых белков, в том числе растительных, путем ферментативной модификации, была описана в большом количестве исследований. Именно растительные белки рассматриваются как новый источник антиоксидантных пептидов, которые улучшают лечение заболеваний, связанных с окислительными процессами [9, 25, 26].

Клеточные исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что антиоксидантные биоактивные пептиды обладают клеточной антиоксидантной активностью, снижают биомаркеры окислительного стресса (например, перекисное окисление липидов, внутриклеточные уровни активных форм кислорода, апоптоз), повышают активность различных антиоксидантных ферментов и модулируют уровни антиоксидантных молекул [27]. Антиоксидантные пептиды действуют путем инактивации активных форм кислорода, поглощения свободных радикалов, хелатирования прооксидантных переходных металлов и стимулирования активности внутриклеточных антиоксидантных ферментов. Эти пептиды модулируют физиологические функции организма в зависимости от их первичной структуры, состава и последовательности аминокислот [28]. Большинство биоактивных пептидов, полученных из пищевых белков, имеют от 2 до 20 аминокислотных остатков, хотя описаны некоторые более длинные пептиды [29]. Антиоксидантные пептиды часто содержат гидро-

фобные остатки, такие как Leu или Val, некоторые остатки ароматических аминокислот (Phe, Trp и Tyr) и имидазольные кольца His. Эти структуры считаются основой сильной антиоксидантной способности пептидов [30].

Интерес исследователей направлен на изучение антиоксидантной активности и отдельных аминокислот. Установлено, что серосодержащие аминокислоты, например, цистеин, метионин и таурин, обладают антиоксидантным действием [31]. В исследовании J. Liu и др. было изучено антиоксидантное действие 20 аминокислот. Высокие показатели отмечены для Tyr, Trp, Cys, Lys, His, Arg, Val, Phe и Met. Между аминокислотами был отмечен антиоксидантный синергетический эффект, который можно использовать для подавления окислительного стресса [32].

Несмотря на достигнутый успех в выделении и идентификации биоактивных пептидов, доступная информация связана с лабораторными данными и наличием ограниченного количества клинических испытаний для обоснования их производства и использования в качестве нутрицевтиков или функциональных пищевых компонентов. Будущие исследования должны быть сосредоточены на крупномасштабном коммерческом производстве антиоксидантных пептидов, полученных из различных белков, изучении взаимосвязи их структуры и активности, глубоком понимании антиоксидантного механизма и проверке их эффективности для здоровья человека в естественных условиях [25].

Таким образом, получение экзогенных средств антиоксидантной направленности (в том числе гидролизатов различных белковых субстратов) является актуальным. Антиоксиданты в организме способствуют снижению уровня повреждения тканей, ускорению процесса выздоровления и противостоянию различным заболеваниям, а также увеличивают продолжительность жизни.

В работе С. Д. Жамсарановой и др. представлено получение ферментативного гидролизата соевого белка и проведено его хроматографирование методом гель-фильтрации, а также определена суммарная антиоксидантная активность полученных трех основных фракций (высоко-, средне- и низкомолекулярной) [33].

Целью настоящего исследования стало определение оптимальных показателей двухстадийного процесса ферментативной конверсии соевого белка на основе математических методов планирования эксперимента и антиоксидантной активности гидролизата в процессе гидролиза.

Объекты и методы исследования

Объектом для получения пептидов стал протеин соевый (изолят, Китай). Для проведения ферментативной конверсии соевого белка были

использованы ферментные препараты: пепсин говяжий из слизистых оболочек желудка свиней (ТУ 9219-564-00419779-2000) и трипсин из поджелудочной железы крупного рогатого скота (Spofa, Чехия).

Гидролиз соевого белка пепсином проводили в 0,1 М HCl (pH = 1,6). При проведении 2-ой стадии гидролиза (гидролиз трипсином) изменяли pH реакционной смеси до 7,8 добавлением 10 % NaOH.

Содержание аминного азота в негидролизованном сырье и белковом гидролизате определяли методом формольного титрования (метод Серенса) (ОФС.1.2.3.0022.15). Сущность метода состоит в защите формальдегидом свободных аминогрупп (образование оснований Шиффа) и алкалиметрическом титровании эквивалентного количества карбоксильных групп.

Концентрацию общего азота определяли с реактивом Несслера по ОФС. 1.7.2.0027.15. Метод основан на способности реактива Несслера давать цветную реакцию с ионами аммония, которые образуются после минерализации белковых продуктов.

Протеолитическую активность ферментных препаратов определяли по ГОСТ 34430-2018. Количество белка, превращенного в низкомолекулярные пептиды и аминокислоты, определяли по реакции свободных аминокислот с реактивом Фолина и измерению оптической плотности на фотоэлектроколориметре при длине световой волны $\lambda = 670$ нм.

Степень гидролиза (СГ) белка определяли по формуле:

$$СГ = \frac{(N_{AA} - N_{AA_0})}{(N_{OA} - N_{AA_0})} \times 100 \% \quad (1)$$

где N_{OA} – содержание общего азота, %; N_{AA_0} – содержание азота в негидролизованном сырье, %; N_{AA} – содержание аминного азота в гидролизате после гидролиза в течение некоторого периода времени, %.

Обработку результатов экспериментов по оптимизации параметров ферментативного гидролиза осуществляли с использованием стандартных программ MS Excel и Mathcad 15. Математическое планирование эксперимента проводили в соответствии с композиционным планом двухфакторного эксперимента на трех уровнях [34]. Для получения коэффициентов уравнения регрессии применили профессиональную программу обработки данных Statistica 10. На основании полученных регрессионных уравнений строились графические зависимости параметров отклика от исследуемых факторов. Значения функции желательности рассчитывали по значениям функции отклика с использованием формулы Харрингтона [35].

Суммарную антиоксидантную активность гидролизата оценивали на хроматографе Цвет-Яуза-

01-АА (НПО «Химавтоматика», Москва) амперометрическим методом [36]. Массовую концентрацию антиоксидантов определяли с использованием градуировочного графика зависимости выходного сигнала от концентрации кверцетина. Сущность данного метода заключается в измерении силы тока, который возникает при окислении антиоксидантных молекул на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале, преобразующегося в цифровой сигнал после усиления.

Экспериментальные данные обрабатывали с применением расчета средних значений (M), стандартной ошибки среднего (m) и параметрического критерия оценки (t -критерия Стьюдента). Результаты считали достоверными при достижении уровня значимости различий ($p \leq 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Для исследования выбрали ферментные препараты пепсин и трипсин, поскольку они являются доступными на российском рынке и относительно не дорогими. Еще одним фактором в пользу их выбора послужило то, что они повторяют естественный процесс расщепления в организме при пищеварении. По своей субстратной специфичности они являются протеазами (эндопептидазами), катализирующими гидролиз внутренних пептидных связей (пепсин – в желудке, трипсин – в кишечнике).

Чтобы оптимизировать процесс ферментативного гидролиза соевого белка, необходимо было получить экспериментальные данные и определить протеолитическую активность выбранных ферментных препаратов (ед/г): пепсин – 198,3, трипсин – 1150.

Для оценки эффективности ферментов степень гидролиза протеина определяли по динамике накопления аминного азота. Гидролиз пепсином проводили в следующих условиях: pH = 1,6 и $t = 39$ °C с разным фермент-субстратным соотношением: 1:30, 1:20 и 1:10. Продолжительность гидролиза составила от 1 до 5 ч. Гидролиз трипсином проводили в следующих условиях: pH = 7,8 и $t = 39$ °C с разным фермент-субстратным соотношением: 1:30, 1:20 и 1:10. Продолжительность гидролиза составила от 1 до 5 ч.

Полученные экспериментальные данные, отражающие степень гидролиза белка сои ферментами пепсин и трипсин, представлены в таблице 1.

Как следует из представленных данных, во всех трех вариантах гидролиза соевого белка пепсином наблюдалось достоверное увеличение степени его гидролиза. Наибольшее значение получено для второго варианта (фермент-субстратное соотношение 1:20) при продолжительности процесса 5 ч.

Во всех трех вариантах гидролиза соевого белка трипсином наблюдалось достоверное уве-

Таблица 1. Динамика степени гидролиза соевого белка пепсином и трипсином ($M \pm m$)Table 1. Soy protein hydrolysis with pepsin and trypsin ($M \pm m$)

Время гидролиза, ч	Степень гидролиза, %					
	пепсином			трипсином		
	1 вариант (1:30)	2 вариант (1:20)	3 вариант (1:10)	1 вариант (1:30)	2 вариант (1:20)	3 вариант (1:10)
1	24,22 $\pm$ 0,10	27,85 $\pm$ 0,15	31,48 $\pm$ 0,18	24,22 $\pm$ 0,31	31,48 $\pm$ 0,39	15,74 $\pm$ 0,36
3	36,33 $\pm$ 0,46 ^{*1}	43,59 $\pm$ 0,28 ^{*1}	43,59 $\pm$ 0,45 ^{*1}	31,48 $\pm$ 0,47 ^{*1}	36,33 $\pm$ 0,50 ^{*1}	39,96 $\pm$ 0,44 ^{*1}
5	55,70 $\pm$ 0,53 ^{*1,3}	60,50 $\pm$ 0,90 ^{*1,3}	54,49 $\pm$ 0,71 ^{*1,3}	55,70 $\pm$ 0,58 ^{*1,3}	48,44 $\pm$ 0,71 ^{*1,3}	48,44 $\pm$ 0,75 ^{*1,3}

^{*1, *1,3} – различия достоверны относительно 1-го или 3-х часового процесса гидролиза соответственно ($p \leq 0,05$).

^{*1, *1,3} – differences are significant relative to the one- or three-hour hydrolysis process, respectively ($p \leq 0.05$).

Таблица 2. Динамика степени гидролиза трипсином при двухстадийном процессе ($M \pm m$)Table 2. Two-stage soy protein hydrolysis by trypsin ($M \pm m$)

Время, ч	Степень гидролиза, %		
	1 вариант (1:30)	2 вариант (1:20)	3 вариант (1:10)
1	68,06 $\pm$ 0,55	70,56 $\pm$ 0,78	65,23 $\pm$ 0,75
2	79,18 $\pm$ 0,68 ^{*1}	84,96 $\pm$ 0,81 ^{*1}	74,58 $\pm$ 0,82 ^{*1}
3	82,64 $\pm$ 0,76 ^{*1,2}	88,22 $\pm$ 0,85 ^{*1,2}	80,74 $\pm$ 0,85 ^{*1,2}

^{*1, *1,2} – различия достоверны относительно 1-го или 2-х часового процесса гидролиза соответственно ($p \leq 0,05$).

^{*1, *1,2} – differences are significant relative to the one- or two-hour hydrolysis process, respectively ($p \leq 0.05$).

Таблица 3. Уровни изучаемых факторов

Table 3. Factor levels

Фактор	Уровень		
	1	2	3
X_1 , Продолжительность гидролиза, ч	1	3	5
X_2 , Фермент-субстратное соотношение	1:10	1:20	1:30

Таблица 4. Уровни изучаемых факторов при двухстадийном гидролизе сначала пепсином 5 ч (при фермент-субстратном соотношении 1:20), а затем трипсином 3 ч

Table 4. Factor levels during two-stage hydrolysis: with pepsin for 5 h at an enzyme-substrate ratio of 1:20 and with trypsin for 3 h

Фактор	Уровень		
	1	2	3
X_1 , Продолжительность гидролиза трипсином, ч	1	2	3
X_2 , Фермент-субстратное соотношение	1:10	1:20	1:30

личение степени его гидролиза. Наибольшее значение отмечено для первого варианта гидролиза (фермент-субстратное соотношение 1:30) при продолжительности процесса 5 ч.

С целью увеличения степени гидролиза и разработки двухстадийного процесса было проведено последовательное внесение выбранных ферментов: сначала вносили пепсин, потом – трипсин при соотношении фермент-субстрат 1:30, 1:20 и 1:10. Одновременный вариант внесения ферментов не рассматривался, т. к. условия оптимальной активности данных протеаз (значения pH) разные [37].

При двухстадийном процессе гидролиз соевого протеина сначала проводили пепсином в течение 5 ч при фермент-субстратном соотношении 1:20 (табл. 1), затем – трипсином в течение 3-х ч. Полученные данные двухстадийного процесса гидролиза представлены в таблице 2.

Как следует из данных, представленных в таблице 3, использование двухстадийного процесса гидролиза способствовало достоверному увеличению его степени до максимального значения (88,22 %) во втором варианте: при последовательном внесении пепсина (фермент-субстратное соотношение 1:20) в течение 5 ч, а затем трипсина (фермент-субстратное соотношение 1:20) в течение 3 ч.

На основании полученных данных для оптимизации ферментативного гидролиза соевого белка использовали факторные эксперименты с применением математических методов.

Основными параметрами оптимизации явились время гидролиза и соотношение фермент: субстрат.

Результаты двухфакторного эксперимента. На основании запланированных уровней изучаемых факторов (табл. 3 и 4) была разработана матрица для двухфакторного эксперимента, с использованием которой было проведено 9 опытов. При составлении данной структуры матрицы было учтено, что при выполнении экспериментов каждый уровень любого фактора встречается с каждым уровнем всех остальных факторов только один раз.

Результаты регрессионного анализа функции отклика. С целью получения функции отклика была проведена множественная нелинейная регрессия с

помощью полинома второго порядка в программе Statistica 10 и получены уравнения 2–4.

Функция отклика, характеризующая степень гидролиза пепсином:

$$Y(X_1, X_2) = 0,301X_1^2 - 301,167X_2^2 + 5,457X_1 + 700,617X_2 - 382,96 \quad (2)$$

Функция отклика, характеризующая степень гидролиза трипсином:

$$Y(X_1, X_2) = 0,353X_1^2 - 282,667X_2^2 + 4,62X_1 + 690,5X_2 - 400,857 \quad (3)$$

Функция отклика, характеризующая степень гидролиза пепсином и трипсином:

$$Y(X_1, X_2) = -3,655X_1^2 - 617,5X_2^2 + 22,618X_1 + 1497,55X_2 - 854,747 \quad (4)$$

Оценка качества уравнений регрессии представлена в таблице 6.

Из показателей, приведенных в таблице 6, следует, что полученные уравнения регрессии обладают высокой точностью и статистически надежны.

На рисунке 1 представлено сравнение наблюдаемых и предсказанных значений, из которого следует их высокая корреляция.

Результаты решения экстремальной задачи.

Для нахождения максимального значения функции отклика и соответствующих ему значений факторов была выполнена стандартная процедура нахождения максимума функции двух переменных при условиях ограниченной области определения. В процессе решения экстремальной задачи были получены данные, представленные в таблице 7.

Влияние технологических параметров на степень гидролиза ферментными препаратами можно оценить при использовании контуров «желательности» в зависимости от значений этих факторов. Значения функции желательности рассчитывали по значениям функции отклика с использованием формулы Харрингтона [35]. В основе построения этой обобщенной функции лежит идея преобразования натуральных значений частных откликов в безразмерную шкалу желательности или предпоч-

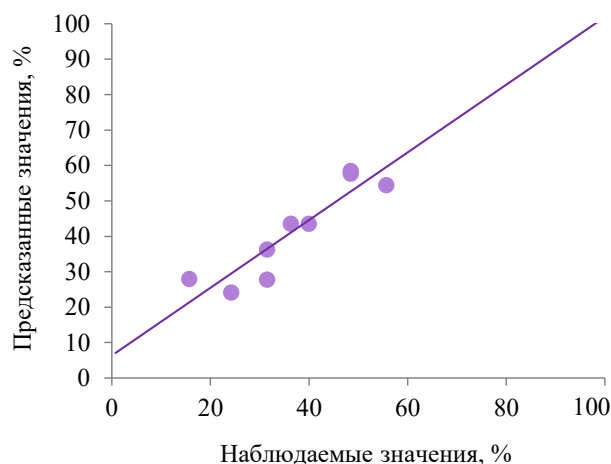


Рисунок 1. Сравнение наблюдаемых и предсказанных значений (степень гидролиза, %)

Figure 1. Experimental vs. predicted values (hydrolysis degree, %)

тительности. Назначение шкалы желательности – это установление соответствия между числовыми параметрами и их оценкой. Под числовыми параметрами понимаются возможные отклики, характеризующие функционирование исследуемого объекта, а под их оценкой – субъективные оценки экспериментатора желательности (предпочтительности) того иного значения отклика (табл. 8). Значение $d = 0,37$ используется в качестве границы допустимых значений.

Полученные контуры желательности процессов гидролиза пепсином и трипсином, а также двухстадийный гидролиз, в зависимости от продолжительности гидролиза и фермент-субстратного соотношения, представлены на рисунках 2–4. Как следует из данных рисунков, максимальный уровень показателей находится в допустимом и достаточном уровне желательности. Чем больше значение у функции желательности, тем выше степень гидролиза соевого белка (значение функции отклика Y в точке максимума, табл. 7).

На основании полученных экспериментальных и расчетных данных следует, что с использованием математических методов планирования эксперимента

Таблица 6. Оценка качества уровней регрессии

Table 6. Quality of regression levels

Показатели качества уравнения регрессии	Гидролиз пепсином	Гидролиз трипсином	Двухстадийный гидролиз
Индекс множественной корреляции	$R = 0,987$	$R = 0,967$	$R = 0,9922$
Коэффициент детерминации	$R^2 = 0,974$	$R^2 = 0,935$	$R^2 = 0,984$
Критерий Фишера	$F = 38,67$ $p < 0,002$	$F = 30,12$ $p < 0,002$	$F = 63,88$ $p < 0,001$

Таблица 7. Результаты решения экстремальных задач

Table 7. Extremum problems

Ферменты	Значение факторов в точке максимума	Значение функции отклика в точке максимума, %
Пепсин	$X_1 = 7$ ч, $X_2 = 1:22$	$Y = 77,631$
Трипсин	$X_1 = 7$ ч, $X_2 = 1:30$	$Y = 79,92$
Пепсин (5 ч, фермент-субстратное соотношение 1:20) + трипсин	$X_1 = 3$ ч, $X_2 = 1:19$	$Y = 88,275$

Таблица 8. Числовые интервалы шкалы Харрингтона

Table 8. Numerical intervals of the Harrington scale

Лингвистическая оценка	Интервалы значений функции желательности $d(x)$	Практическая характеристика уровня
Очень хорошо	1,00–0,80	Допустимый и превосходный уровень
Хорошо	0,80–0,63	Допустимый и хороший уровень
Удовлетворительно	0,63–0,37	Допустимый и достаточный уровень
Плохо	0,37–0,20	Недопустимый уровень
Очень плохо	0,20–0,00	Недопустимый уровень

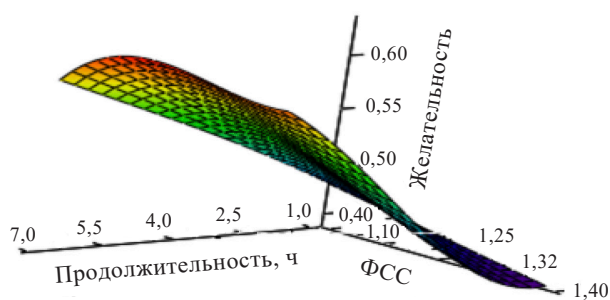


Рисунок 2. Контур желательности степени гидролиза пепсином в зависимости от продолжительности процесса и фермент-субстратного соотношения (ФСС)

Figure 2. Effect of processing time and enzyme-to-substrate ratio on hydrolysis with pepsin: desirability loop

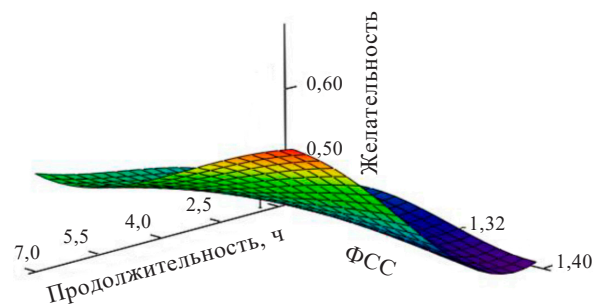


Рисунок 3. Контур желательности степени гидролиза трипсином в зависимости от продолжительности процесса и фермент-субстратного соотношения (ФСС)

Figure 3. Effect of processing time and enzyme-to-substrate ratio on hydrolysis with trypsin: desirability loop

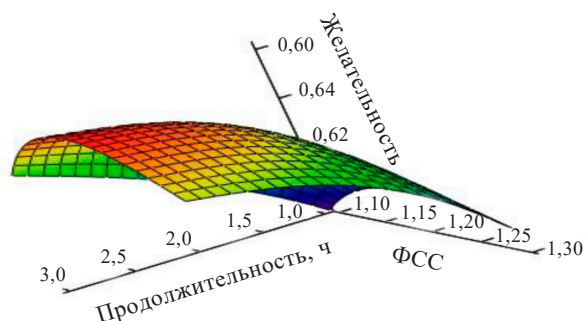


Рисунок 4. Контур желательности степени двухстадийного гидролиза сначала пепсином и затем трипсином в зависимости от продолжительности процесса и фермент-субстратного соотношения (ФСС)

Figure 4. Effect of processing time and enzyme-to-substrate ratio on two-stage hydrolysis with pepsin and trypsin

были определены оптимальные показатели двухстадийного процесса ферментативной конверсии соевого белка с высокой степенью гидролиза субстрата. Сначала осуществляли гидролиз пепсином продолжительностью 5 ч при соотношении фермент-субстрат 1:20, а затем трипсином продолжительностью 3 ч при фермент-субстратном соотношении 1:19.

Как было отмечено ранее, гидролизаты пищевых белков обладают целым спектром биологических активностей, в том числе антиоксидантными свойствами [18]. Была определена динамика изменения суммарной антиоксидантной активности гидролизата в процессе двухстадийного гидролиза. Полученные данные представлены на рисунке 5.

Как следует из рисунка 5, показатели суммарной антиоксидантной активности носили нелинейный характер. Наибольшая антиоксидантная активность

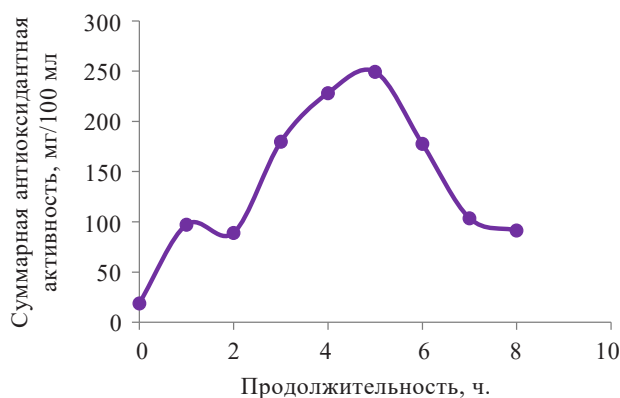


Рисунок 5. Динамика суммарной антиоксидантной активности соевого гидролизата в процессе двухстадийного гидролиза

Figure 5. Total antioxidant activity of soy hydrolyzate in the process of two-stage hydrolysis

была отмечена через 5 ч процесса ферментативного гидролиза и составила около 250 мг/100 мл.

Таким образом, использование оптимизированного двухстадийного ферментолиза позволило получить гидролизат с высокой степенью гидролиза белка (88 %), т. н. «глубокий гидролизат» [13].

Как следует из литературных данных, для получения ферментативных гидролизатов применяется целый ряд ферментов и коммерческих препаратов различного происхождения (животного, микробного или грибкового) [12–14]. Они позволяют получить гидролизаты разной степени гидролиза (в среднем от 40 до 80 %). Выбранные в исследовании протеазы пепсин и трипсин и двухстадийный процесс ферментолиза, повторяющий «естественный» процесс переваривания белка в организме человека, позволил получить гидролизат с высокой степенью гидролиза, который обладает антиоксидантной активностью.

Полученный гидролизат может быть использован в различных направлениях. Если целью будет являться получение ингредиента (компонент продукта или кормовая добавка) антиоксидантной направленности, то гидролиз может быть ограничен только 5 ч (практически – только гидролиз пепсином). Для получения гидролизата с высокой степенью гидролиза белка наиболее приемлем апробированный авторами двухстадийный процесс. Полученные пептиды также могут стать матрицей для иммобилизации эссенциальных микроэлементов (Zn, I и Se) и разработки поливалентного комплекса.

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение других показателей функциональной активности полученного гидролизата, а именно его

остаточной антигенности. Такой гидролизат будет перспективен в качестве пищевого ингредиента функциональных продуктов питания гипоаллергенной и антиоксидантной направленности.

Выводы

В ходе проведенных экспериментов и обработки данных выявили факторы, способствующие интенсификации ферментативной конверсии соевого белка, и выбрали оптимальные параметры процесса. При одностадийном процессе в условиях гидролиза пепсином оптимальная продолжительность процесса составила 7 ч, фермент-субстратное соотношение – 1:22. При гидролизе трипсином оптимальная продолжительность составила 7 ч, фермент-субстратное соотношение – 1:30.

Для двухстадийного процесса ферментолиза оптимальными параметрами стали: сначала гидролиз пепсином продолжительностью 5 ч при соотношении фермент-субстрат 1:20, а затем трипсином продолжительностью 3 ч при фермент-субстратном соотношении 1:19.

Использование оптимизированного двухстадийного ферментолиза позволило получить гидролизат с высокой степенью гидролиза белка (88 %).

Изменение показателей суммарной антиоксидантной активности в процессе гидролиза носило нелинейный характер. Наибольшая антиоксидантная активность отмечена через 5 ч процесса гидролиза и составила около 250 мг/100 мл.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Идея и анализ принадлежат С. Д. Жамсарановой. С. Н. Лебедева, Б. А. Баженова, Д. В. Соколов и Б. А. Болхонов собрали данные, провели анализ и написали статью.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в связи с публикацией этой статьи.

Contribution

All authors participated in the work in a substantial way and are prepared to take public responsibility for the work and manuscript contents. S.D. Zhamsaranova designed the research and analysis. S.N. Lebedeva, B.A. Bazhenova, D.V. Sokolov, and B.A. Bolkhonov collected the data, analyzed the results, and wrote the manuscript.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Fahed G, Aoun L, Zerdan MB, Allam S, Zerdan MB, Bouferraa Y, *et al.* Metabolic syndrome: Updates on pathophysiology and management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(2). <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>
2. Castro-Barquero S, Ruiz-León AM, Sierra-Pérez M, Estruch R, Casas R. Dietary strategies for metabolic syndrome: A comprehensive review. *Nutrients*. 2020;12(10). <https://doi.org/10.3390/nu12102983>
3. Vorobyeva VM, Vorobyeva IS, Kochetkova AA, Mazo VK, Zorin SN, Sharafetdinov KhKh. Specialised hypocholesteremic foods: Ingredients, technology, effects. *Foods and Raw Materials*. 2020;8(1):20–29. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-1-20-29>
4. Sadovoy VV, Shchedrina TV, Trubina IA, Morgunova AV, Franko EP. Cooked sausage enriched with essential nutrients for the gastrointestinal diet. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(2):345–353. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-345-353>
5. Sui X, Zhang T, Jiang L. Soy protein: Molecular structure revisited and recent advances in processing technologies. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2021;12:119–147. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-062220-104405>
6. Zhang T, Dou W, Zhang X, Zhao Y, Zhang Y, Jiang L, *et al.* The development history and recent updates on soy protein-based meat alternatives. *Trends in Food Science and Technology*. 2021;109:702–710. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.060>
7. Qin P, Wang T, Luo Y. A review on plant-based proteins from soybean: Health benefits and soy product development. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2022;7. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100265>
8. Wu Y-HS, Chen Y-C. Trends and applications of food protein-origin hydrolysates and bioactive peptides. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2022;30(2):172–184. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.3408>
9. Ewert J, Eisele T, Stressler T. Enzymatic production and analysis of antioxidative protein hydrolysates. *European Food Research and Technology*. 2022;248:2167–2184. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04022-x>
10. Agarkova EYu, Kruchinin AG. Enzymatic conversion as a method of producing biologically active peptides. *Vestnik of MSTU. Scientific Journal of Murmansk State Technical University*. 2018;21(3):412–419. <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2018-21-3-412-419>
11. Cruz-Casas DE, Aguilar CN, Ascacio-Valdés JA, Rodríguez-Herrera R, Chávez-González ML, Flores-Gallegos AC. Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry: Molecular Sciences*. 2021;3. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100047>
12. Sviridenko YuYa, Myagkonosov DS, Abramov DV, Ovchinnikova EG. Theoretical and practical aspects of development technology of manufacturing protein hydrolyzates for special nutrition use. Part 1. Technology of production and technical characteristics of hydrolysates. *Food Industry*. 2017;(5):48–51. (In Russ.). [Научно-методические подходы к развитию технологии белковых гидролизатов для специального питания. Часть 1. Технология производства и технические характеристики гидролизатов / Ю. Я. Свириденко [и др.] // Пищевая промышленность. 2017. № 5. С. 48–51.]
13. 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>
14. Sidorova YuS, Mazo VK, Kochetkova AA. Experimental evaluation of hypolipidemic properties of soy and rice proteins and their enzyme hydrolysates. *Problems of Nutrition*. 2018;87(2):77–84. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10021>
15. Grishin DV, Podobed OV, Gladilina YuA, Pokrovskaya MV, Aleksandrova SS, Pokrovsky VS, *et al.* Bioactive proteins and peptides: Current state and new trends of practical application in the food industry and feed production. *Problems of Nutrition*. 2017;86(3):19–31. (In Russ.). [Биоактивные белки и пептиды: современное состояние и новые тенденции практического применения в пищевой промышленности и кормопроизводстве / Д. В. Гришин [и др.] // Вопросы питания. 2017. Т. 86. № 3. С. 19–31.]
16. Caponio GR, Wang DQ-H, Di Ciaula A, De Angelis M, Portincasa P. Regulation of cholesterol metabolism by bioactive components of soy proteins: Novel translational evidence. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;22(1). <https://doi.org/10.3390/ijms22010227>
17. Ashaolu TJ. Applications of soy protein hydrolysates in the emerging functional foods: A review. *International Journal of Food Science and Technology*. 2020;55(2):421–428. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14380>
18. Nasri M. Protein hydrolysates and biopeptides: Production, biological activities, and applications in foods and health benefits. A Review. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2017;81:109–159. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.003>
19. Morgan PT, Breen L. The role of protein hydrolysates for expertise-induced skeletal muscle recovery and adaptation: A current perspective. *Nutrition and Metabolism*. 2021;18(44). <https://doi.org/10.1186/s12986-021-00574-z>
20. Kim M-S, Kim B, Park H, Ji Y, Holzapfel W, Kim D-Y, *et al.* Longterm fermented soybean paste improves metabolic parameters associated with non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018;495(2):1744–1751. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.12.003>

21. Tutelian VA, Khavinson VKh, Ryzhak GA, Linkova NS. Short peptides as components of nutrition: Molecular bases of homeostasis regulation. *Uspekhi Sovremennoi Biologii*. 2014;134(3):227–235. (In Russ.). [Короткие пептиды как компоненты питания: молекулярные основы регуляции гомеостаза / В. А. Тутельян [и др.] // Успехи современной биологии. 2014. Т. 134. №3. С. 227–235.].
22. Yu YM, Fukagawa NK. Protein and amino acid. In: Marriott BP, Birt DF, Stallings VA, Yates AA, editors. *Present knowledge in nutrition. Volume 1: Basic nutrition and metabolism*. Academic Press; 2020. pp. 15–35. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-66162-1.00002-0>
23. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, et al. Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells*. 2022;11(3). <https://doi.org/10.3390/cells11030552>
24. Lv R, Dong Y, Bao Z, Zhang S, Lin S, Sun N. Advances in the activity evaluation and cellular regulation pathways of food-derived antioxidant peptides. *Trends in Food Science and Technology*. 2022;122:171–186. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.026>
25. Wen C, Zhang J, Zhang H, Duan Y, Ma H. Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2020;105:308–322. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.019>
26. Montesano D, Gallo M, Blasi F, Cossignani L. Biopeptides from vegetable proteins: New scientific evidences. *Current Opinion in Food Science*. 2020;31:31–37. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.008>
27. Aguilar-Toalá JE, Liceaga AM. Cellular antioxidant effect of bioactive peptides and molecular mechanisms underlying: Beyond chemical properties. *International Journal of Food Science and Technology*. 2020;56(5):2193–2204. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14855>
28. Elam E, Feng J, Lv Y-M, Ni Z-J, Sun P, Thakur K, et al. Recent advances on bioactive food derived anti-diabetic hydrolysates and peptides from natural resources. *Journal of Functional Foods*. 2021;86. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104674>
29. Daroit DJ, Brandelli A. In vivo bioactivities of food protein-derived peptides – a current review. *Current Opinion in Food Science*. 2021;39:120–129. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.01.002>
30. Nwachukwu ID, Aluko RE. Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides. *Journal of Food Biochemistry*. 2019;43(1). <https://doi.org/10.1111/jfbc.12761>
31. Kim J-H, Jang H-J, Cho W-Y, Yeon S-J, Lee C-H. In vitro antioxidant actions of sulfur-containing amino acids. *Arabian Journal of Chemistry*. 2020;13(1):1678–1684. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.12.036>
32. Liu J, Zhang D, Zhu Y, Wang Y, He S, Zhang T. Enhancing the *in vitro* Antioxidant Capacities via the interaction of amino acids. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2018;30(3):224–231. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i3.1641>
33. Zhamsaranova SD, Lebedeva SN, Bolkhonov BA, Sokolov DV. Enzymatic food protein conversion and assessment of antioxidant activity of peptides. *Bulletin of ESSTUM*. 2021;83(4):5–14. (In Russ.). https://doi.org/10.53980/24131997_2021_4_5
34. Babin AV, Rakipov DF. Organization and mathematical planning of the experiment. Ekaterinburg: Ural Federal University; 2014. 113 p. (In Russ.). [Бабин А. В., Ракипов Д. Ф. Организация и математическое планирование эксперимента. Екатеринбург: УрФУ, 2014. 113 с.].
35. Dorovskikh VI, Milushev RK, Shulaev GM, Zharikov VS. Using a generic function the Harrington's desirability in the evaluation of quality of feed additives. *Science in the Central Russia*. 2020;45(3):79–85. (In Russ.). <https://doi.org/10.35887/2305-2538-2020-3-79-85>
36. Yashin AY, Yashin YaI, Chernousova NI, Pakhomov VP. TsvetYauza-01AA: A new device for the determination of antioxidants in medicines, dietary supplements, foods, and drinks. Moscow: NPO "Khimavtomatika": 2005. 100 p. (In Russ.). [Новый прибор для определения антиоксидантов в лекарственных препаратах, биологически активных добавках, пищевых продуктах и напитках ЦветЯуза-01AA / А. Я. Яшин [и др.]. М.: НПО «Химавтоматика», 2005. 100 с.].
37. Milentyeva IS, Davydenko NI, Rasshchepkin AN. Casein proteolysis in bioactive peptide production: Optimal operating parameters. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(4):726–735. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-726-735>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2419>
<https://elibrary.ru/DVBEZS>

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

Biotechnology of Lactulose Production: Progress, Challenges, and Prospects



Svetlana A. Ryabtseva^{*}, Andrey G. Khramtsov,
Maria A. Shpak, Alexey D. Lodygin, Georgy S. Anisimov,
Serafima N. Sazanova, Yulia A. Tabakova

North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

Received: 14.09.2022
Revised: 02.11.2022
Accepted: 06.12.2022

^{*}Svetlana A. Ryabtseva: ryabtseva07@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-9803-8709>
Andrey G. Khramtsov: <https://orcid.org/0000-0002-5188-4657>
Maria A. Shpak: <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>
Alexey D. Lodygin: <https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>
Georgy S. Anisimov: <https://orcid.org/0000-0001-9257-9571>
Serafima N. Sazanova: <https://orcid.org/0000-0002-8200-3007>
Yulia A. Tabakova: <https://orcid.org/0000-0002-0077-2778>

© S.A. Ryabtseva, A.G. Khramtsov, M.A. Shpak,
A.D. Lodygin, G.S. Anisimov, S.N. Sazanova, Yu.A. Tabakova, 2023



Abstract.

Lactulose is a prebiotic that has found a wide application in medicine and food industry. Commercial lactulose is usually synthesized by isomerization in alkaline media at high temperatures. Enzymatic methods offer a more sustainable alternative and require more moderate processing conditions.

This review covers 44 years of scientific publications (1978–2022) on the enzymatic synthesis and purification of lactulose. The materials were retrieved from Scopus, Web of Science, PubMed, and Elibrary databases.

The enzymatic approach to lactose-to-lactulose conversion has two methods: isomerization (direct) and transgalactosylation (via hydrolysis). Isomerization exploits cellulose-2-epimerases, but their safety status is still rather vague. As a result, cellulose-2-epimerases are not commercial. Epilactose is a by-product of isomerization. Transgalactosylation involves β -galactosidases with an official international safety status (GRAS). It is available on the market, and its action mechanism is well understood. This article systematizes various data on the conditions for obtaining the maximal yields of lactulose by different enzymes. The *Kluyveromyces lactis* yeast and the *Aspergillus oryzae* mold are the main sources of β -galactosidases in lactulose production. The yield can reach 30% if the processing conditions are optimal. Fructose remains the main problem in the production process. No scientific publications revealed a direct relationship between the maximal yields of lactulose and the molar fructose-to-lactose ratios. Cellobiose epimerases make it possible to achieve high yields of lactulose (70–80%). However, these enzymes are associated with genetic engineering and mutagenesis, which challenges their safety status. The most promising trends in lactulose biotechnology include secondary dairy raw materials, immobilized enzymes, membrane reactors, complex production processes, lactose-to-lactulose conversion, and purification of final product.

Keywords. Lactulose, lactose, bioconversion, enzymes, yield, β -galactosidase, *Kluyveromyces*, *Aspergillus*, cellobiose-2-epimerase, trends

Funding. The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka) as part of a comprehensive high-tech production project on the topic “The first Russian high-tech production of lactulose prebiotic and functional dairy ingredients for import substitution in medicine, veterinary, baby food, and medical preventive products for people and animals”, Decree No. 218 of the Government of the Russian Federation of April 9, 2010. The subsidies were allocated from the Federal Budget for the development of cooperation between state scientific institutions and the real sector of the economy as part of a comprehensive high-tech production project No. 075-11-2022-021 of 04/07/2022. The research was conducted on the premises of the North-Caucasus Federal University (NCFU).

For citation: Ryabtseva SA, Khramtsov AG, Shpak MA, Lodygin AD, Anisimov GS, Sazanova SN, *et al.* Biotechnology of Lactulose Production: Progress, Challenges, and Prospects. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):97–122. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2419>

Биотехнология лактулозы: современные достижения, проблемы и перспективы



С. А. Рябцева*, А. Г. Храмцов, М. А. Шпак, А. Д. Лодыгин,
 Г. С. Анисимов, С. Н. Сазанова, Ю. А. Табакова

Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

Поступила в редакцию: 14.09.2022

Принята после рецензирования: 02.11.2022

Принята к публикации: 06.12.2022

*С. А. Рябцева: ryabtseva07@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-9803-8709>

А. Г. Храмцов: <https://orcid.org/0000-0002-5188-4657>

М. А. Шпак: <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>

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

Г. С. Анисимов: <https://orcid.org/0000-0001-9257-9571>

С. Н. Сазанова: <https://orcid.org/0000-0002-8200-3007>

Ю. А. Табакова: <https://orcid.org/0000-0002-0077-2778>

© С. А. Рябцева, А. Г. Храмцов, М. А. Шпак, А. Д. Лодыгин,
 Г. С. Анисимов, С. Н. Сазанова, Ю. А. Табакова, 2023



Аннотация.

Лактулоза является пребиотиком, который широко применяется в медицине и пищевой промышленности. Производство лактулозы основано на изомеризации лактозы в щелочных средах при высоких температурах. Альтернативой являются ферментативные способы, которые считаются более экологически чистыми и позволяют проводить процессы в более мягких условиях.

Объектом исследования стали научные публикации по вопросам синтеза и очистки лактулозы с использованием ферментов. Для поиска информации были использованы базы данных Scopus, Web of Science, PubMed и Elibrary за период с 1978 по 2022 гг.

Рассмотрели два основных пути ферментативного превращения лактозы в лактулозу: изомеризация (прямой) и трансгалактозилирование (с промежуточным гидролизом). Для первого применяют целлюлозо-2-эпимеразы, которые пока не имеют статуса безопасности и их не производят в промышленных масштабах, а побочным продуктом их реакции является эпилактоза. Для трансгалактозилирования применяют β -галактозидазы, которые имеют международный статус безопасности (GRAS) и доступны на рынке, с хорошо изученным механизмом действия. Систематизировали данные об условиях получения максимальных выходов лактулозы при использовании разных ферментов.

Основными продуцентами β -галактозидаз для получения лактулозы являются дрожжи *Kluyveromyces lactis* и плесени *Aspergillus oryzae*. Выход лактулозы достигает 30 % в оптимальных условиях. Основной проблемой является необходимость внесения фруктозы. Прямой зависимости между максимальными выходами лактулозы и молярными соотношениями фруктоза:лактоза не выявлено. Применение целлюлозо-эпимераз позволяет достигать высоких выходов лактулозы (70–80 %), но для получения этих ферментов используют методы генной инженерии и мутагенеза, что ставит под сомнение их безопасность. К наиболее перспективным тенденциям развития биотехнологии лактулозы можно отнести использование вторичного молочного сырья и иммобилизованных ферментов, применение разных моделей реакторов, в т. ч. мембранных, и разработку комплексных взаимосвязанных процессов получения ферментов, конверсии лактозы в лактулозу и очистки готовых продуктов.

Ключевые слова. Лактулоза, лактоза, биоконверсия, ферменты, выход, β -галактозидаза, *Kluyveromyces*, *Aspergillus*, целлюлозо-2-эпимераза, тенденции

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России) в рамках реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства по теме «Создание первого в России высокотехнологичного производства пребиотика лактулозы и функциональных молочных ингредиентов для импортозамещения в медицине, ветеринарии, детском питании, производстве лечебно-профилактических продуктов для людей и животных» (Соглашение о предоставлении из федерального бюджета субсидии на развитие кооперации государственного научного учреждения и организации реального сектора экономики в целях реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства № 075-11-2022-021 от 07.04.2022 г.) и в рамках Постановления Правительства РФ от 9 апреля 2010 г. № 218 на базе Северо-Кавказского федерального университета (СКФУ).

Для цитирования: Биотехнология лактулозы: современные достижения, проблемы и перспективы / С. А. Рябцева [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 97–122. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2419>

Introduction

Lactulose (β -D-galactopyranosyl-(1,4)- β -D-fructofuranose) is the best known indigestible prebiotic disaccharide. It can selectively stimulate the growth and/or metabolism of beneficial intestinal microflora, especially bifidobacteria and lactobacilli. Its positive effect on human health has been confirmed by numerous studies. Lactulose-based pharmaceutical preparations have been used for more than 50 years to treat chronic constipation and hepatic encephalopathy. Nowadays, lactulose is also used to treat osteoporosis, food poisoning, and various infections [1, 2]. This unique carbohydrate has a potential to strengthen immune system, reduce inflammation, and prevent carcinogenesis [3–5].

Medicine employs lactulose in fairly high concentrations, e.g., ≥ 10 –15 g/day. However, even 2 g of lactulose per day has a positive effect. This dose boosts useful metabolites, improves absorption of minerals in the intestine, and has no side effects [6]. Small doses of lactulose turn various foods into functional products and render them a number of additional economic and technological advantages, such as a shorter fermentation time, more viable starter cultures, a longer shelf life, a better sensory profile, etc. In addition, lactulose results in a lower caloric value of the finished product because it allows for partial sugar replacement. Naturally, lactulose is popular in the dairy, confectionery, and bakery food industries. Lactulose can be incorporated in the shells of micro- and nanocapsules that deliver probiotics, vitamins, and other beneficial substances to the lower intestine [1, 7].

Lactulose is one of the most valuable derivatives of lactose, which is the main carbohydrate of milk. Lactose makes up a significant proportion of solids in by-products of cheese, curd, casein, and butter production. Therefore, lactulose is a processed food raw material with a high added value and has a good potential for sustainable economy: it can provide a sustainable and green processing cycle [8].

The modern industrial production of lactulose relies mainly on isomerization in alkaline media (pH = 11) at high temperatures (70–80°C). This reaction produces by-products of caramelization and saccharic acids, as well as melanoidins that appear in the presence of proteins and peptides. The maximal degree of isomerization is 30% if sodium or calcium hydroxides serve as catalysts. Hydroxides are removed by electrodialysis, and the remaining lactose is usually crystallized. However, this process is slow because the resulting mix has a complex composition. The yield of lactulose can be brought up to 70–80% using complexing catalysts, e.g., aluminates or borates. Unfortunately, they are toxic, and their complete removal requires a selective ion exchange treatment. The resulting lactulose syrups contain residues of lactose, glucose, galactose, fructose, epilactose, and other carbohydrates, which have to be purified by chromatography [9, 10].

Some isomerization methods use electroactivated solutions (catholytes), where an alkaline medium appears without new reagents [9, 10]. A recent study reported 37% isomerization of lactose to lactulose as a result of optimization and electroactivation of ultrafiltrated whey permeate [11]. However, the same study also reported that electroactivation foamed secondary dairy raw materials, and the unreacted lactose, other sugars, and by-products had to be removed.

Enzymatic processing is an alternative to chemical production and purification. Enzymes are proteins that catalyze metabolic reactions in a living cell. Industrial enzymes of microbial origin are common in pharmaceutical and food biotechnology. Enzymatic processing is environmentally friendly, because enzymes are reusable, biodegradable, and produced from renewable resources. Enzymes are able to catalyze reactions under close-to-physiological conditions, which is beneficial in terms of energy consumption [10, 12].

Another advantage of lactulose biosynthesis is that lactose can be obtained from secondary dairy raw materials, e.g., cheese whey and/or curd whey, ultrafiltration permeates of skim milk and whey, etc. In addition, enzymes are selective in action; they require no extreme temperatures or pH, and, as a result, produce fewer by-products. Thus, lactulose purification is cheap and meets modern requirements for environmentally friendly technologies and natural products [13, 14].

Experts believe that lactulose production will increase, driven by bad dietary habits, as well as by the needs of athletes and senior population. High R&D investments in the food industry will sustain the growth of the global lactulose market through 2022–2028 [15]. In Russia, the growing demand for lactulose depends on foreign suppliers, and the development of domestic lactulose industry remains an urgent task [1].

The research objective was to systematize and analyze the data on enzymatic lactulose production in order to determine the promising research areas.

Study objects and methods

The research featured English and Russian scientific publications on the enzymatic production of lactulose. All the articles under analysis were registered in Scopus, Web of Science, PubMed, and Elibrary in the period between 1978, when the earliest publication appeared, and August 1, 2022. The pool included available review and research articles on the enzymatic lactulose synthesis, as well as individual articles that substantiated the relevance of the topic, described the properties and mechanisms of enzymes, identified prospective research areas, etc. The focus action was on articles published in scientific peer-reviewed journals with a high citation index over the past five years. The review did not include conference proceedings and book chapters.

Results and discussion

1. Processes, enzymes, and mechanisms of lactulose formation. The biotechnology of lactulose, like that of other functional carbohydrates, includes three interrelated processes: enzyme production, enzymatic synthesis, and subsequent processing [16]. Most publications featured ready-made commercially purified enzyme preparations, free or immobilized, while some of them described the preparation of the necessary enzymes with varying purification degrees.

Theoretically, the bioconversion of lactose to lactulose has two main routes: the direct one and the one with intermediate hydrolysis. The direct route requires isomerase, which transforms the glucose residue of lactose into fructose. A similar ability was discovered about ten years ago in cellulose-2-epimerases (hereinafter referred to as epimerases) of various origins. However, these enzymes have no safety status and are not produced on an industrial scale. This reaction also yields epilactose as a by-product.

The second and a more complex route looks as follows. Enzymes break down lactose into galactose and glucose, and then add galactose residue to fructose, i.e., transgalactosylation. Some glycosidases possess all the required properties, as well as an international safety status and market availability [10, 12, 14]. The enzymatic synthesis of lactulose via hydrolysis has attracted scientific attention for more than 20 years and still remains relevant, as evidenced by the growing number of publications on this topic. As for the prospects of epimerase-related bioconversion, they remain rather vague (Fig. 1).

According to the international classification of enzymes, glycosidases are marked as EC 3.2.1, i.e., they belong to the class of *Hydrolases*, the subclass of *Glycosylases*, and the subgroup of proteins that

catalyze the hydrolysis of O- and S-glycosyl compounds. The biosynthesis of lactulose usually involves beta-galactosidases (β -galactosidases, lactases, EC 3.2.1.23), which can hydrolyze the terminal non-reducing residues of beta-D-galactose in beta-D-galactosides. These enzymes are common in nature. In fact, 593 species are capable of producing them, including various types of bacteria, fungi, plants, and animals [17].

β -Galactosidases are used in the dairy industry to hydrolyze lactose in order to obtain low-lactose and lactose-free foods for people with lactase deficiency. They can also prevent lactose crystallization in the production of condensed foods, sweet glucose-galactose syrups, and prebiotic galactooligosaccharides. The most popular commercial β -galactosidases come from such safe sources as *Kluyveromyces* yeasts (*Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*) and *Aspergillus* molds (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*). Galactooligosaccharide production also uses such commercial preparations as β -galactosidases from *Bacillus circulans* and *Escherichia coli*. The synthesis can employ *Rhodotorula minuta* yeasts, lactic cocci and lactobacillus, bifidobacteria, and other microorganisms [18–21].

The technology of beta-galactosidase production includes the following processes. A pure culture is cultivated in elective media under optimal conditions, followed by isolation and purification of the enzyme. The cultivation process consists of three stages. First, the inoculum is obtained and activated, i.e., inoculation. The second stage involves the cultivating and growth of the inoculum biomass. The third stage is the main fermentation, which covers both the growth of microorganisms and the biosynthesis of the enzyme. The enzyme isolation process consists of pre-treatment, solid-liquid separation, filtration, concentration, stabilization, and final purification. If the enzyme accumulates inside cells, the cells of the producer are lysed. If the enzyme is released into the fermentation medium, it is separated from the cells of the producer during the separation of the solid and liquid phases. The cellular material is usually separated from the enzymes by a membrane filtration, e.g., ultrafiltration. To obtain a liquid enzyme preparation, it is stabilized, e.g., with glycerol. When the dry enzyme preparation is obtained, the ultrafiltration concentrate is spray-dried and granulated, e.g., with maltodextrin or flour. The finished product falls under the general specifications for commercial enzyme preparations [20].

The action mechanism of β -galactosidase includes three stages. During the first stage, it forms a complex with lactose. The second stage yields a galactosyl complex with the enzyme, and glucose is released. During the third stage, the galactose is transferred to a nucleophilic acceptor that contains a hydroxyl group. Galactose is formed if water serves as an acceptor. If it is the carbohydrate, the reaction results in transoligosaccharides. β -Galactosidase is able to accept nucleophiles other than

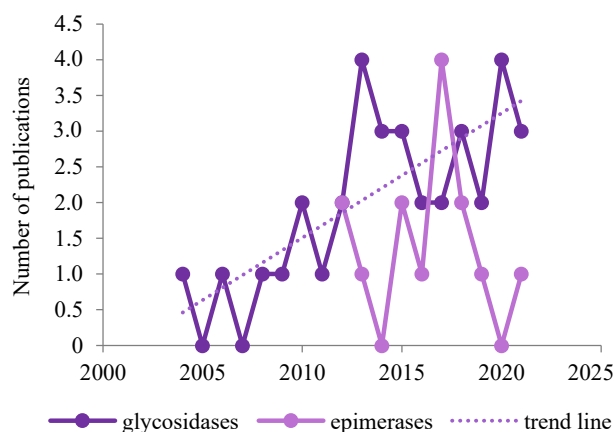


Figure 1. Publications on the biosynthesis of lactulose, by years

Рисунок 1. Распределение количества публикаций о биосинтезе лактулозы по годам

water in the active site. Lactulose may be formed in the presence of fructose, or the process may yield more complex transoligosaccharides. This ability depends on several factors: (1) the tertiary structure of the enzyme and the amino acids that form the active center, (2) the concentration of lactose, which is the donor for the formation of the galactosyl-enzyme complex, and (3) the concentration of fructose, which is the acceptor of galactosyl [22].

Processes where hydrolase enzymes serve as pseudotransferases are a kinetically controlled synthesis. Such reactions give short-term maximal yields that depend on the ratio of the synthesis rate of the target product and the hydrolysis rate of the activated donor. The result totally depends on the properties of the biocatalyst; that is why the choice of the enzyme and the form is critical. Immobilization can simplify the recovery of its application and makes it possible to reuse the enzyme, as well as increase its stability, activity, and specificity [23].

β -Glucosidase (EC 3.2.1.21) is another glycosidase enzyme that can facilitate the biosynthesis of lactulose [24, 25]. It is rather common in nature and targets beta-D-glucosides. In fact, 467 species can produce β -glucosidase. It is a key enzyme for lignocellulose degradation that participates in commercial synthesis of glycoconjugates and oligosaccharides [17].

Epimerases are fundamentally different enzymes. They belong to the class of isomerases. Cellobiose-2-epimerase (EC 5.1.3.11) belongs to a subgroup of enzymes that catalyze the interconversion between D-glucose and D-mannose. It residues at the reducing end of β -1,4-linked disaccharides by epimerization of the hydroxyl group in the C-2 position of the glucose residue [17]. Cellobiose-2-epimerase was first discovered in the culture fluid of the *Ruminococcus albus* anaerobic ciliated bacteria. It owes its name to its ability to catalyze the epimerization of cellobiose with the formation of 4-O- β -D-glucopyranosyl-D-mannose. Cellobiose-2-epimerase can catalyze the mutual transformations of monosaccharides, disaccharides, and trisaccharides. In addition, it is the only epimerase known that affects unsubstituted disaccharides [26].

Cellobiose epimerases have recently entered the focus of scientific attention. So far, they have been found only in anaerobic and aerobic bacteria. Most cellobiose epimerases exhibit nothing but epimerization activity. However, those that come from thermophilic microorganisms, e.g., *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, *Caldicellulosiruptor obsidiansis*, *Dictyoglomus turgidum*, or *Spirochaeta thermophila*, possess isomerization activity. They can convert glucose or mannose disaccharides into fructose, and, therefore, can be used to synthesize lactulose from lactose [27]. Some recent studies report that mesophilic epimerases also exhibit isomerization activity and can be used for lactulose bioconversion [28]. The exact mechanism of this

reaction remains unknown. However, the isomerization of most cellobiose epimerases is much lower than their epimerization ($\leq 10\%$), and lactose is first converted to epilactose and only then to lactulose. Cellobiose epimerases seem to be the only exceptions: their site-directed mutagenesis reduces the yield of epilactose or completely blocks its formation [29–31].

Cellobiose epimerase producers are bacteria with a dubious safety status. Their production usually involves genetic engineering and includes the following steps. First, the genomic DNA of the enzyme is isolated from producer cells. Then, the gene enters host cells, e.g., *E. coli* or *Bacillus subtilis*. The resulting culture grows in elective media under optimal conditions. After that, the enzyme is isolated and purified to obtain the enzyme preparation. The cultivation of recombinant *E. coli* and *B. subtilis* cells occurs in an elective medium. Kanamycin or ampicillin are added until the required optical density ($OD_{600} = 0.6–0.8$), after which isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) enters the reaction to inactivate the lac repressor and induce the cellobiose epimerase synthesis. Cellobiose epimerase is an intracellular enzyme. At the end of fermentation, the cells are destroyed by ultrasound or lysozyme. After that, the solid and liquid phases are separated. Affinity chromatography purifies the enzymes, but sometimes ultrafiltration may be used instead. Purification of the enzyme increases the costs and complicates the technology. Therefore, unpurified enzymes or whole bacterial cells have more commercial prospects. The finished enzyme preparation is tested for purity by polyacrylamide gel electrophoresis in the presence of sodium dodecyl sulfate to determine its activity [28, 29, 31–37].

Publications on epimerases in lactulose production occupied less than a quarter of all application identified publications on the topic, and all of them featured epimerases of a bacterial origin (Fig. 2). More than 60% of publications focused on β -galactosidase

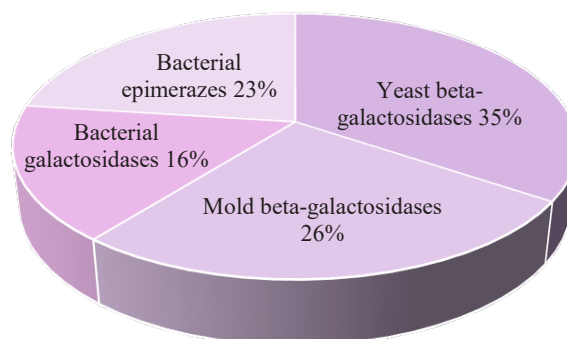


Figure 2. Publications on the biosynthesis of lactulose by enzymes and their producers

Рисунок 2. Распределение количества публикаций о биосинтезе лактулозы по ферментам и их продуцентам

of fungal origin as glycosidase producers. Enzymes from unicellular budding micromyzet (yeast) turned out to be a more popular research subject than from mycelial fungi (molds). Of all the works on bacterial glycosidase, eight articles described β -galactosidase, and only two featured beta-glucosidase.

Lactulose biosynthesis is a complex process that can be accompanied by other enzymatic reactions that produce various carbohydrates. Under certain conditions, some glycosidases can also catalyze reactions that transfer galactose residue into lactose and produce galactooligosaccharides and/or transfer galactose residue into lactulose and produce fructogalactooligosaccharides. The resulting lactulose can be hydrolyzed to galactose and fructose. The amount of fructose necessary for biosynthesis can be introduced into the reaction mix as a separate substance or obtained by using glucoisomerases to isomerize glucose formed during the lactose hydrolysis [10, 12, 14].

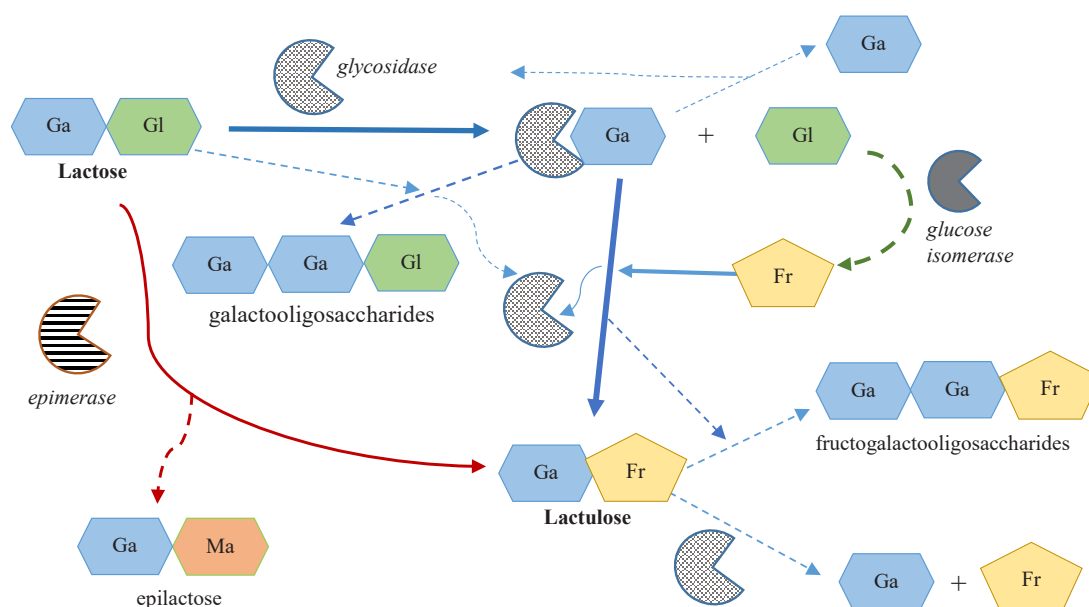
Figure 3 illustrates the main pathways for the enzymatic production of lactulose with possible side reactions.

The final process of lactulose biotechnology is its isolation from the reaction solution which contains the enzyme (protein) and a lactose residue. Depending on the raw materials and the reaction conditions, the solution may also contain minerals, nitrogenous substances, monosaccharides (glucose, galactose, fructose), oligosaccharides (epilactose, galactooligosaccharides, fructogalactooligosaccharides), and other by-products. In the biosynthesis of functional oligosaccharides, the

downstream processing accounts for 50–70% of the total production costs. High-purity products are even more expensive [16].

The lactulose yield affects the cost of purification and depends on a lot of factors, e.g., the properties of the substrates and enzymes, the reaction conditions, etc. Different publications use different units of measurement to describe the conditions of lactulose biosynthesis, as well as various indicators to evaluate the reaction results, which makes their comparison a complicated task. Some publications that attempt to generalize the available data on lactulose biotechnology report incomplete, fragmentary, and/or contradictory information [7, 10, 12, 13, 38, 39]. This situation required additional efforts to clarify the conditions for the maximal yield of lactulose and to identify the most important factors associated with different enzymes.

2. β -Galactosidases of micromycetes (yeasts and molds). The earliest publication that introduced biosynthesis of lactulose using yeast β -galactosidase appeared in 1978 [40]. In 2004, Lee *et al.* reported the potential of commercial β -galactosidases of various origins for lactulose synthesis [41]. They tested yeasts (*K. lactis*, *K. fragilis*), mold (*A. oryzae*), and bacteria (*E. coli*). The enzyme obtained from *K. lactis* gave the highest yield of lactulose. Since that time, more than 30 articles have been published on the processes of lactulose biosynthesis using micromycetic β -galactosidases. Most of these studies featured *Kluyveromyces* and *Aspergillus*.



Ga – galactose, Gl – glucose, Fr – fructose, Ma – mannose; target reactions are shown by solid lines, additional and side reactions are dotted.

Figure 3. Bioconversion pathways from lactose to lactulose

Рисунок 3. Основные пути биоконверсии лактозы в лактулозу

Table 1. Conditions for the maximal yields of lactulose using micromycetic β -galactosidases
 Таблица 1. Условия получения максимальных выходов лактулозы с использованием β -галактозидаз микромицет

Producer	Enzyme (preparation, form)	Substrate composition, % weight/volume	Processing conditions	Y_{ly} , %*	Source
<i>Kluyveromyces yeasts</i>					
<i>K. fragilis</i>	Free	Lactose solution 12% and fructose 20%	pH = 7.2, 37°C Periodic**	7.5	[40]
<i>K. lactis</i>	Novo Nordisk Free	Lactose solution 15% and fructose 5%	pH = 6.5, 37°C, 2 h Periodic	6.1	[41]
<i>K. fragilis</i>	Sigma Free	Lactose solution 15% and fructose 5%	pH = 7.3, 30°C, 5 h Periodic	3.5	[41]
<i>K. lactis</i> ATCC 8585	Free, from untreated cells; from cells permeabilized with 50% (v/v) ethanol	Lactose solution 40% and fructose 20%	pH = 7.0, 60°C, 3 h Periodic	4 5	[41]
<i>K. lactis</i>	Maxilact 2000 Free	Lactose solution 20% and fructose 15%	pH = 6.5, 40°C, 1 h Periodic	16.5	[42]
<i>K. fragilis</i>	Lactozym 2000L Free	Lactose solution 20% and fructose 15%	pH = 6.5, 40°C, 45 min Periodic	18.5	[42]
<i>K. lactis</i>	Lactozym 3000L Free	Lactose solution 10% and fructose 30%	pH = 6.7, 40°C, 2 h Periodic	12.4	[43]
<i>K. lactis</i>	Produced by Novozyme Free	Lactose solution 80% and fructose 50% in a two-phase medium cyclohexane:water 95:5	pH = 7, 30°C, 2 h Periodic	13	[44]
<i>K. lactis</i>	Lactozym 3000L HP G Free	Lactose solution 33% and fructose 17%	pH = 6.5, 40°C Periodic	15.3	[45]
<i>K. lactis</i>	Maxilact 5000 Free	Lactose solution 20% and fructose 20%	pH = 6.8, 38°C Periodic	7.7	[46]
<i>K. lactis</i>	Sigma, immobilized on carbon nanotubes	Lactose whey 20% and fructose 20%	pH = 7.5, 47°C Continuous**	7.1	[47]
<i>K. lactis</i>	Sigma, immobilized on silica gel	Lactose solution 40% and fructose 20%	pH = 7.5, 47°C Periodic	3.9	[48]
<i>K. lactis</i>	Sigma, immobilized on silica gel	Lactose whey 20% and fructose 20%	pH = 7.5, 47°C Periodic Continuous	5.4 9.6	[49]
<i>K. lactis</i>	Maxilact 5000 Free	Lactose solution 25% and fructose 10%	pH = 7.5, 40°C Periodic	12	[50]
<i>K. lactis</i>	Lactozym 3000L HP G Free	Lactose solution 12% and fructose 36%	pH = 6.7, 40°C Periodic	8.7	[51]
<i>K. lactis</i>	Lactozym 2600L Free	Lactose solution 24.5% and fructose 25.5%	pH = 6.8, 40°C Periodic Continuous	6.9 5.2	[52, 53]
<i>K. lactis</i>	Lactozym 2600L Free	Lactose solution 12% and fructose 36%	pH = 6.8, 40°C Continuous	6.2	[54]
<i>K. lactis</i>	Biolactase-NL Enzeco Lactase NL Maxilact L200 Lactozym Pure 2600L All free	Lactose solution 1.68% and fructose 38.2%	pH = 7.0, 40°C Periodic	19 23 24 20	[55]
<i>K. lactis</i>	Maxilact 5000 Free Free + Mg ²⁺ immobilized on chitosan with glutaraldehyde	Lactose solution 15% and fructose 3% Cheese whey and fructose 30%	pH = 7.5, 40°C Periodic	6.9 15.1 11.5	[56]
<i>K. lactis</i>	Biolactase Free Lactozym Free	Ultrafiltrated permeate, lactose 5.2% and fructose 9%	pH = 6.0, 6°C, 72 h Periodic	21 22	[57]
<i>K. lactis</i>	Lactozym Free Biolactase Free	Ultrafiltrated permeate, lactose 5.5% and fructose 11.7% Lactose solution 4.4% + and fructose 9%	pH = 6.6, 6°C, 48 h Periodic pH = 6.6, 6°C, 72 h	17.5 21	[58]

Continuation of Table 1.

Producer	Enzyme (preparation, form)	Substrate composition, % weight/ volume	Processing conditions	Y_{ly} , %*	Source
<i>Kluyveromyces</i> yeasts					
<i>K. lactis</i>	Crude, immobilized on chitosan with glutaraldehyde	Cheese whey lactose 6.5% and fructose 30%	pH = 7, 50°C Periodic.	26.7	[59]
<i>K. lactis</i>	Lactozym, immobilized on chitosan with agarose and polyethyleneimine	Lactose solution 10% and fructose 10%	pH = 7, 50°C Periodic	13.8	[23]
		Cheese whey lactose 10% and fructose 10%		28	
<i>Aspergillus</i> molds					
<i>A. oryzae</i>	Sigma Free	Lactose solution 15% and fructose 5%	pH = 4.5, 30°C, 6 h Periodic	1.7	[41]
<i>A. oryzae</i>	Sigma-Aldrich Free	Lactose solution 3.4% and fructose 27%	pH = 5, 37°C Periodic	30.3	[24]
<i>A. oryzae</i>	Ha-Lactase Free	Ultrafiltrated permeate, lactose 20% and fructose 15%	pH = 6.5, 40°C, 50 min Periodic	32.8	[42]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase Free	Lactose solution 3.1% and fructose 46.9%	pH = 4.5, 40°C Periodic	28.2	[45]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase, Fungal lactase for alternative strains, Tolerase All free	Lactose solution 1.68% and fructose 38.2%	pH = 4.5, 40°C Periodic	25	[55]
				25	
<i>A. niger</i>	Klerzyme 150 (DSM) Free Rapidase (DSM) Free	Lactose solution 1.68% and fructose 38.2%	pH = 3.5, 40°C Periodic	20	[55]
				23	
<i>A.aculeatus</i>	Pectinex Ultra (Novozymes) Free	Lactose solution 1.68% and fructose 38.2%	pH = 3.5, 40°C Periodic	20	[55]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase Free immobilized with glutaraldehyde	Lactose solution 2.1% and fructose 47.9%	pH = 4.5, 50°C Periodic	31	[60]
				25.4	
<i>A. oryzae</i>	Sigma-Aldrich Free	Lactose solution 16% and fructose 34%	pH = 4.6, 40°C Periodic	5.5	[61]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase Free immobilized on: glyoxyl-agarose, amino-glyoxyl-agarose, chelate-glyoxyl-agarose	Lactose solution 4% and fructose 46% (1:20)	pH = 4.5, 50°C Periodic	34	[62]
				30	
				28	
				32	
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase Free immobilized on glyoxyl-agarose	Lactose solution 5.3% and fructose 44.7% (1:16)	pH = 4.5, 50°C Periodic	32	[63]
				34	
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase immobilized on glyoxyl-agarose	Lactose solution 7% and fructose 43% (1:12)	pH = 4.5, 50°C Periodic	60	[64]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase Free	Ultrafiltrated permeate, lactose 5.2% and fructose 9%	pH = 6, 6°C, 48 h Periodic	27	[57]
<i>A. niger</i>	Maxilact A4 Free	Ultrafiltrated permeate, lactose 5.2% and fructose 9%	pH = 4.5, 6°C, 48 h Periodic	13	[57]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase Free	Ultrafiltrated permeate, lactose 5.8% and fructose 23%	pH = 4.6, 6°C, 48 h Periodic	17.8	[58]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactaseimmobilized on glyoxyl-agarose	Lactose solution 9.6% and fructose 40.4% (1:8)	pH = 4.5, 50°C Periodic	54	[65]

Continuation of Table 1.

Producer	Enzyme (preparation, form)	Substrate composition, % weight/ volume	Processing conditions	Y_{ly} , %*	Source
<i>Aspergillus</i> molds					
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase immobilized by aggregation and cross-linking using ethanol and propanol	Lactose solution 9.6% and fructose 40.4% (1:8)	pH = 4.5, 50°C Periodic	24	[66]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase immobilized on quaternary ammonium agarose	Lactose solution 7% and fructose 43% (1:12)	pH = 6, 50°C Periodic	24	[67]
<i>A. oryzae</i>	Enzeco® fungal lactase Free	Lactose solution 9.6% and fructose 40.4% (1:8)	pH = 4.5, 50°C Periodic	21	[68]

* lactulose yield, % of initial lactulose, calculated value is based on published data;

** Periodic – periodic method, Continuous – continuous fermentation.

* выход лактулозы, % от исходной лактозы, расчетное значение по данным публикации;

** Periodic – периодический способ, Continuous – непрерывный способ ферментации.

The result of enzyme-catalyzed reactions depends both on their properties, e.g., origin and form, and the reaction conditions, e.g., composition and concentration of the initial substrate, temperature and pH, fermentation time, etc. Table 1 summarizes the data on the processing conditions that yield the maximal concentrations of lactulose. Hereinafter, the presentation in the tables is structured according to the year of publication.

Table 1 shows that the main producers of β -galactosidases are the *K. lactis* yeast and the *A. oryzae* mold. Although the yields of lactulose vary considerably for enzymes from different producers, mold-produced β -galactosidases usually give higher lactulose yields.

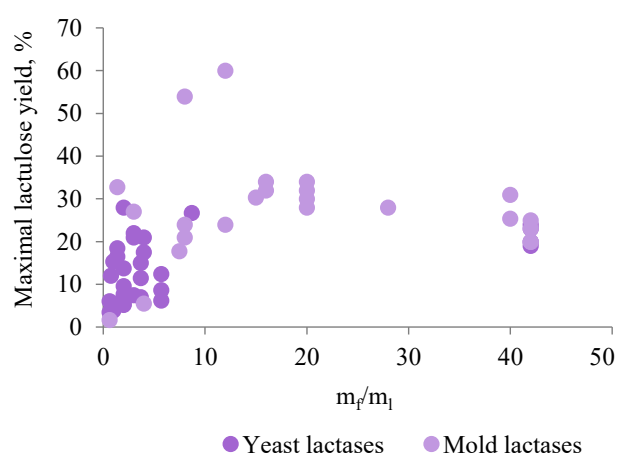


Figure 4. Maximal lactulose yield and the ratio of molar concentrations (m_f/m_l) when using micromycetic β -galactosidases

Рисунок 4. Зависимость максимального выхода лактулозы от отношения молярных концентраций фруктозы и лактозы (m_f/m_l) при использовании β -галактазидаз из микромицет

Their difference may be associated with the differences in the structure of the enzymes. Lactulose synthesis mainly relies on commercial preparations of β -galactosidase, since most of them have a safety status issued by GRAS or its equivalent and are produced on an industrial scale in the USA, the EU, Brazil, or China.

The maximal yield of lactulose with yeast lactases of 28% is a relatively new achievement [23]. Only *K. lactis* β -galactosidase provided the best enzymatic synthesis (50.3%), which even exceeded the results of chemical synthesis. The maximal lactulose yield catalyzed by sulfite and sodium hydroxide was 10.3%, by boric acid and triethylamine – 4.7% [69]. Unfortunately, the publication provided no exact conditions that provided such high rates of biosynthesis, so it was not included in Table 1. All other publications agree that enzymatic methods remain less effective than those based on lactose isomerization in alkaline media with complexing reagents, e.g., aluminates and borates.

As for mold-based enzymes, *A. oryzae* achieved the maximal yield of 60% [64]. However, the result was short-term, and the yield did not exceed the standard 30% for mold enzymes during the remaining reaction time.

The carbohydrate composition of the initial substrate is an important factor that affects the yield of lactulose, especially the ratio of lactose and fructose in the solution. Theoretically, as the concentration of fructose increases, so does the chance that fructose, and not water or lactose, will act as the galactosyl acceptor. The yield of lactulose was reported to increase three times as the molar ratio of fructose to lactose (m_f/m_l) rose from 1 to 8 [45]. The highest yields of lactulose ($\geq 30\%$) were obtained when the ratio of m_f/m_l reached 8, 12, 16, and 20 [27, 62, 64, 65, 67]. However, no direct relationship was detected between the maximal yields of lactulose in [23, 24, 40–68] and the molar ratios of fructose and

lactose (Fig. 4). These data can be represented as a single diagram, despite the fact that the experiments had different reaction conditions, e.g., pH, temperature, total carbohydrate concentration, etc. In fact, the nature of the kinetically controlled reaction means that the main factor is the origin of the enzyme, not the conditions [23, 45, 55].

Figure 4 shows that when the values of m_f/m_l reach ≥ 20 , the lactulose yield does not increase. Moreover, low m_f/m_l ratios (≤ 5) are more financially promising. A larger amount of fructose increases the cost of raw materials, while most of the fructose does not become involved in the synthesis of lactulose and remains in the solution, which complicates the purification. The publications on yeast enzymes mostly involved lower m_f/m_l values than those that used mold enzymes, which characterizes the former as more practical.

One of the earliest works on yeast β -galactosidases revealed that when m_f/m_l rose from 0.5 to 1, the maximal yield of lactulose increased by 1.6 times. But when m_f/m_l reached 2, no further increase in yield followed [41]. An increase in the total concentration of carbohydrates from 37.5 to 60% led to a 1.5-fold increase in the yield of lactulose and protected the enzyme from denaturation at 60°C. However, it reduced the reaction rate because the viscosity of the solution also increased. The same publication was the first to report the idea that the ratio of lactulose and galactooligosaccharides could be regulated [41]. This possibility is important, since lactulose and galactooligosaccharides can have a synergistic effect on the prebiotic index [1].

Table 1 shows that the maximal yields of lactulose were obtained at different pH values that did not always coincide with the optimal values for this type of enzyme. It ranged 6.0–7.5 in the case of *K. lactis* β -galactosidases, the optimal pH being 7.0 [55]. For *A. oryzae* enzymes, it was 3.5–6.6, the optimal pH being 4.5 [55]. The reaction temperatures also varied. For *K. lactis* β -galactosidases, it ranged from 37 to 60°C, the optimal temperature being 50°C [55]. For *A. oryzae* enzymes, it was between 30 and 50°C with 65°C as the optimal temperature [55]. Some experiments were carried out at 6°C in order to increase the microbiological purity of the products and gave an unexpectedly high yield of lactulose ($\leq 27\%$) [57, 58].

The enzyme concentration also affects the selectivity of the lactose bioconversion reaction. When the concentration of the enzyme was high (≥ 15 U/mL), both primary (lactose hydrolysis) and secondary hydrolysis (lactulose degradation) were faster [61]. As a kinetically controlled reaction, secondary hydrolysis does not stop after it reaches the maximal lactulose concentration. This phenomenon has often been described in publications that featured free (native) or immobilized enzymes [41, 44, 49, 52].

Continuous process might solve the problem of lactulose hydrolysis, e.g., in an enzymatic membrane

reactor, a microchannel, or a packed-bed reactor [25, 47, 52–54, 61]. For instance, an enzymatic membrane system made it possible to remove the new lactulose, thus limiting its breakdown. The specific productivity remained constant at 0.7 mg of lactulose per enzyme unit per hour [52]. However, the enzymatic membrane reactor eventually reduced the enzyme activity as a result of electrostatic interaction between the enzyme and the membrane surface, as well as due to mechanical and thermal inactivation. On day 7, the concentration of lactulose decreased by 31% in an experiment with *K. lactis* β -galactosidase [54].

An automated control of the enzyme feed may be a way out. Researchers added new portions of *A. oryzae* β -galactosidase, i.e., 10% of the initial amount every 48 h, and the output lactulose concentration maintained constant at 8.8 g/L (5.5% yield) for 28 days [61]. The lactulose concentration increased 3.3 times when the packed-bed reactor operated in the continuous mode compared to the multiple batch operation mode, although in the latter case the catalyst could be reused as many as 10 times [48].

Some publications compare different enzymes. Guerrero *et al.* compared eleven different commercial β -galactosidases of various origins [55]. They tested four yeasts and six molds for catalytic potential for hydrolysis and transgalactosylation, as well as their affinity for galactose donors and acceptors. All the β -galactosidases were able to use lactose and lactulose as galactose acceptors and donors. However, the yeast lactases showed a higher hydrolytic than transgalactosylating activity, which was greater for lactose than for lactulose. When the concentrations of carbohydrates in the solution exceeded 10%, transgalactosylation prevailed over hydrolysis. When the concentration exceeded 40%, the hydrolysis of lactose and lactulose was more prominent. The maximal yields of lactulose obtained from *A. oryzae* β -galactosidases were by 5% higher than those obtained from *A. niger* and *Aspergillus aculeatus* β -galactosidases and by 1–6% higher than those obtained with *K. lactis* β -galactosidases. The concentration and composition of the obtained galactooligosaccharides depended on the type of enzyme. *A. oryzae* enzymes yielded mainly tri- and tetrasaccharides, while *A. niger* and *K. lactis* yielded di- and trisaccharides. These data confirmed that the origin of the enzyme determines its transgalactosylation potential and the ability to use various molecules as acceptors of the galactose residue. In addition, the origin of the enzyme determines the molecular structure of transgalactosylated oligosaccharides, e.g., composition, hexose units, types of bonds, etc.

Schmidt *et al.* tested seven different β -galactosidases for their ability to produce lactulose at 6°C [57]. Three enzyme preparations of micromycetic origin (Biolactase, Lactozym, Enzeco) produced high yields of lactulose ($\geq 20\%$) within 24 h. Enzeco proved highly active at pH 4.5–6.5, while Lactozym and Biolactase were effec-

tive at pH 6.0–6.5. Low-temperature synthesis guarantees the microbiological purity of the resulting products and a long interval of high lactulose concentration, which provides an industrial-scale inactivation.

Other studies described various forms and types of β -galactosidase immobilization for lactulose biosynthesis: silica gel, nanotubes, chitosan with glutaraldehyde, agarose and polyethyleneamine, glutaraldehyde, and various agarose derivatives [23, 48, 49, 56, 59, 60, 62–65, 67, 71].

Neto *et al.* immobilized different commercial *K. lactis* β -galactosidases using different methods [23]. The immobilization affected the properties of β -galactosidases in kinetically controlled synthesis. The enzyme sample that was immobilized on glyoxylagarose appeared inactive in the production of lactulose at 25, 37, and 50°C. The sample immobilized on agarose coated with polyethyleneimine produced lactulose only at 50°C. The sample immobilized on chitosan activated with glutaraldehyde was effective at all three temperature modes. When they applied whey instead of pure lactose and fructose, the yield increased in the agarose sample and decreased in the chitosan sample.

Serey *et al.* immobilized the enzyme obtained from *A. oryzae* in quaternary ammonium agarose (QAA) [67]. The sample with repeated batch operation provided better results for total lactulose yield and cumulative specific productivity than the sample with the free enzyme. They were able to reduce the economic costs by reusing the quaternary ammonium agarose, which neither change its maximal enzymatic capacity nor reduced the productivity and selectivity of lactulose synthesis. Ramírez *et al.* increased the efficiency of biocatalysts by repeated periodic feeding [68].

Guerrero *et al.* used cross-linked aggregates of *A. oryzae* β -galactosidase for lactulose synthesis [60]. Although they recorded a 17% reduction in the yield relative to free enzyme, they managed to reuse the catalyst 100 times, so that the accumulated mass of product per mass unit of the used catalyst increased by a factor of twelve.

Lactulose technology is more economical if microorganism cells serve as sources of biocatalysts, not purified enzymes. Lee *et al.* synthesized lactulose in solutions of lactose and fructose using a cellular suspension of *K. lactis* permeabilized with ethanol [41]. They cultivated *K. lactis* on a thick nutrient medium and activated it in an elective liquid nutrient medium at 28°C for 24 h. After that, they transferred 1% of the inoculum to a fermentation medium and cultivated it there under the same conditions. The resulting inoculum was centrifuged at 8000 rpm for 5 min. The separated cells were resuspended in a potassium phosphate buffer (pH 7.0). To permeabilize the cells, they were resuspended in 50% (v/v) ethanol, stirred for 15 min at 4°C, rinsed twice with distilled water, and resuspended in the potassium phosphate buffer with lactose and

fructose to produce lactulose. The reaction was stopped by boiling. The maximal lactulose concentration of 14.8 g/L occurred when the concentration of permeabilized cells was 8 g/L. However, the productivity (1.64 g/L·h) was lower than when the cell concentration was 10.4 g/L (2.0 g/L·h), which was eventually assessed as optimal. The samples with untreated cells demonstrated the maximal concentration of synthesized lactulose of 17 g/L, which was comparable to the results of the permeabilized samples (19 g/L). However, the control sample needed 5 h to reach this concentration, whereas the experimental sample needed only 3 h. Therefore, the productivity of the sample with permeabilized cells was higher [41].

Some scientists tried using secondary dairy raw materials in an attempt to reduce the production costs. As a rule, they turned to whey and ultrafiltrated permeates [23, 42, 47, 49, 56–59]. The optimal process conditions turned out to be 48 h at 6°C. For acid whey, the process involved Enzeco enzyme from *A. oryzae* with an activity of 2.0 μ kat/kg at pH 4.4, 1.28 mol/kg fructose, and 0.17 mol/kg lactose. For sweet whey, it was Lactozym from *K. lactis* with an activity of 2.8 μ kat/kg at pH 6.6, 0.74 mol/kg fructose, and 0.19 mol/kg lactose [58].

De Freitas *et al.* used *K. lactis* β -galactosidase using cheese whey and immobilization on 2.0% (w/v) glutaraldehyde-activated chitosan [59]. They obtained a highly active and stable biocatalyst capable of simultaneously hydrolyzing lactose (42.8% conversion rate) and produced lactulose at a level of 17.3 g/L. They used clarified whey to increase the β -galactosidase activity of yeast and for the main cultivation. The processes occurred at 30°C and presupposed 24 h of stirring at 180 rpm. The cell mass was separated by centrifugation, washed, and suspended in a potassium phosphate buffer with MnCl_2 , Mg^{2+} and Mn^{2+} ($\leq 5 \times 10^{-3}$ mM) activated the resulting β -galactosidase, while Ca^{2+} (≥ 1 mg/L) and Zn^{2+} (≥ 0.011 mg/L) inhibited it. As an intracellular enzyme, yeast β -galactosidase can be extracted by various methods. When the cells were destroyed by shaking with glass beads for 30 min at 2000 rpm, the process was 87% more effective than when the yeast cells were destroyed with ultrasonic waves for 40 min at 25°C.

Another important aspect is the possibility of forming different conformations of lactulose. Enzymatic transgalactosylation may trigger such bonds as $\beta 1 \rightarrow 4$ or $\beta 1 \rightarrow 1$, $\beta 1 \rightarrow 3$, $\beta 1 \rightarrow 5$, and $\beta 1 \rightarrow 6$ [39]. Two main isomers appear as a result of enzymatic synthesis of lactulose. Lactulose $\beta 1 \rightarrow 4$ is formed during the chemical isomerization of lactose to lactulose. Lactulose $\beta 1 \rightarrow 1$, also called 1-lactulose or allolactulose, appears exclusively during enzymatic transgalactosylation. 1-lactulose is the main product of this reaction. All yeast β -galactosidases form > 0.75 of this isomer while mold β -galactosidases form only

about 0.6. Shen *et al.* performed structural studies for a certain *K. lactis* β -galactosidase by high performance liquid chromatography [46]. They used the method of nuclear magnetic resonance to detect an additional peak generated by similar reactions that corresponded to 1-lactulose [52].

In general, the maximal yields of lactulose for biosynthesis with micromycetic β -galactosidases (20–30%) were comparable with the results of alkaline isomerization (30%), but much lower than in chemical synthesis with complexing borates (70%). Most studies used expensive highly-purified commercial preparations of β -galactosidases to obtain lactulose, which significantly increases the production cost. Crude enzyme preparations could solve this problem. Any culture of non-pathogenic lactose-fermenting yeast can serve as a source of β -galactosidases, not only *K. lactis*, but also *Kluyveromyces marxianus*. *K. marxianus* is a promising source of enzymes for the food industry and biotechnology because some of its strains can produce both endo- and exo-enzymes [72]. Lactase-producing yeasts have long been the favorites with Russian scientists [73]. Such strains of *K. marxianus* as VKM Y-453, VKM Y-459, VKM Y-460, VKM Y-1338, VKM Y-1341, and VKM Y-1342 have great prospects since their high β -galactosidase activity was confirmed by independent experiments [74]. Lactic acid microorganisms can also serve as producers of β -galactosidases, e.g., those that have long been used as starter cultures. A joint cultivation of yeast and lactic acid microorganisms is a promising method of obtaining complex enzyme preparations of β -galactosidases [75].

Another important and rather new trend is to use affordable and inexpensive secondary dairy raw materials. Cheese and curd whey have a good record for β -galactosidase production, while ultrafiltrates of skim milk and whey can be used in lactulose synthesis. The yields depend on the optimal pH level for the enzymes: sweet whey works best with *K. lactis* β -galactosidases, while acid whey requires *A. oryzae* β -galactosidases.

Fructose is necessary to obtain lactulose with β -galactosidases. This stage can be called the bottleneck of this method because:

- fructose is introduced in high concentrations ($\geq$ lactose), which increases the costs;
- a significant part ($\leq 90\%$) of fructose does not participate in the synthesis and remains in the solution; its high solubility makes it difficult to remove it from the reaction mix.

As a result, the reaction conditions should be such that require a minimum dose of fructose and provide a maximal yield of lactulose. Section 4 of this article introduces another prospective method: the biotransformation of glucose formed during the hydrolysis of lactose into fructose.

3. Applying bacterial glycosidases. Micromycetes are not the only ones with the ability to produce

β -galactosidases. Many bacteria can do that, e.g., *Bacillus* (*Bacillus acidocaldarius*, *B. circulans*, *Bacillus coagulans*, *B. subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus stearothermophilus*), *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus sporogenes*, *Lactobacillus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*), *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*), as well as *Arthrobacter*, *Bacteriodes*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Propioionibacterium*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Streptococcus*, *Sulfolobus*, *Thermoanaerobacter*, *Thermus*, *Trichoderma*, *Vibrio*, and *Xanthomonas* [17, 76].

Bacterial β -galactosidases are proteins of intracellular localization that differ in molecular weight, number of subunits, affinity for various substrates, optimal pH, and thermal stability. *E. coli* β -galactosidase is very well represented in scientific literature. It can be toxic and, therefore, cannot be used in the food industry: it usually serves as a model for understanding the catalytic mechanism of the enzyme action. Like yeast, bacterial β -galactosidases exhibit maximal activity at pH 6.5–7.5 [55].

Some bacterial β -galactosidases need high temperature and thermal stability. Only a few publications provide data on β -galactosidases of meso- and psychrophilic bacteria that are active at low temperatures. For example, mesophilic bacteria *Xanthomonas* sp. and *B. subtilis* demonstrated the catalytic activity at 10°C. Guerrero *et al.* registered the highest catalytic activity of the enzyme at 39.7% of the maximum detected at 40°C [45]. They explained it as a consequence of the fact *Bacillus* sp. produces at least two molecular forms of the that enzyme protein. β -Galactosidase obtained using *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAE 79b had the optimal activity at 26°C and exhibited at least 33% activity at 4°C, while the *Pseudoalteromonas* sp. demonstrated only 20% of the maximum recorded at 40°C.

Although a lot of bacteria can produce β -galactosidases, *B. circulans* is the most popular strain in industrial production, while *Streptococcus thermophilus* and *B. stearothermophilus* are considered as potential sources [21, 76].

The method for obtaining bacterial glycosidase is similar to those described for isolating β -galactosidase from micromycetes. It includes cultivating in elective media under optimal conditions, isolating and purifying the enzyme, and obtaining the enzyme preparation. The main task in the production of enzymes associated with the cell wall is to extract them without losing their activity. The destruction of bacterial cells makes it possible to obtain a sufficiently high yield and activity of β -galactosidase. The most effective methods include ultrasonic treatment, high-speed bead mills, and high-pressure homogenizers. The most effective purification

methods applied to β -galactosidase are ultrafiltration, gel permeation, ion-exchange, and affinity chromatography [77, 78].

The earliest publication on lactulose biosynthesis with *E. coli* β -galactosidase appeared in 1987 [79]. The first research to feature β -glycosidase obtained from thermophilic archaea *Pyrococcus furiosus* was published in 2004 [24]. Other publications mentioned commercial β -galactosidases from *B. circulans* and some other bacterial species. Table 2 demonstrates the optimal processing conditions for lactulose production.

The glycosidases in Table 2 can be divided into two groups: (1) thermostable with an optimal temperature of 50–85°C and (2) mesophilic with maximal activity at 37–40°C. The first enzymes are very often used for lactulose biosynthesis because thermostable glycosidases have a lot of industrial advantages. They ensure good substrate solubility, high yield and reaction rate, low inhibition, and low contamination risk. These enzymes are often obtained with the help of genetic engineering [24, 25, 83]. For instance, thermostable

Caldvirga maquilingensis glycoside hydrolase has 100% β -galactosidase activity (50% glycosidase and 25% xylosidase). According to Letsididi *et al.*, it provided excellent lactose conversion at 85°C, and the yield of lactulose increased together with temperature [83]. However, further heating above 90°C led to a significant decrease in the activity of glycoside hydrolase, probably as a result of its inactivation. The resulting glycoside hydrolase remained highly active even at pH = 4–5. It was synthesized in a slightly acidic medium to reduce the chances of the Maillard reaction.

The genomic DNA of *Sulfolobus solfataricus* that encoded the synthesis of β -galactosidase was cloned and inserted into *E. coli* ER2566. The resulting β -galactosidase had an optimal pH that ranged from 5.0 to 7.0, while retaining $\geq 90\%$ of its initial activity. The enzyme exhibited first order thermal inactivation kinetics; half-lives ($t_{1/2}$) at 75, 80, 85, 90, and 95°C were 91, 48, 35, 2.6, and 0.72 h, respectively. The β -galactosidase was the most active at 80°C. At $\leq 80^\circ\text{C}$, the transgalactosylation reaction proceeded faster, and

Table 2. Biosynthesis of lactulose with bacterial glycosidases

Таблица 2. Биосинтез лактулозы с использованием бактериальных гликозидаз

Producer	Enzyme (preparation, form)	Substrate, % weight/volume	Processing conditions	Y _{ly} , %*	Source
β-galactosidases					
<i>Escherichia coli</i>	Immobilized on Eupergit	Lactose solution 10% and fructose 50%	pH = 6.8, 37°C Periodic**	6.3	[79]
<i>Sulfolobus solfataricus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> cells Free	Lactose solution 40% and fructose 20%	pH = 6.0, 80°C Periodic	12.5	[80]
<i>Bacillus circulans</i>	Lactoles L3 Free	Lactose solution 32.8% and fructose 17.4%	pH = 5.5, 45°C Periodic	1.5	[45]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Free	Lactose solution 40% and fructose 20%	pH = 7.0, 40°C Periodic	6.25	[81]
<i>Bacillus circulans</i>	Biocon NTL 3000 Free	Lactose solution 13.3% and fructose 26.6%	pH = 6.0, 60°C Periodic	9	[55]
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Spores immobilized on the surface of <i>Bacillus subtilis</i> spores	Lactose solution 20% and fructose 10%	pH = 6.0, 75°C Periodic	4.4	[82]
β-glucosidases					
<i>Pyrococcus furiosus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> cells Free	Lactose solution 3.42% and fructose 27%	pH = 5.0, 75°C Periodic	44	[24]
	Immobilized on Eupergit C			45	
<i>Pyrococcus furiosus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 3.4% and fructose 27%	pH = 5.0, 75°C Continuous**	41	[25]
	Immobilized on Eupergit C			43	
	Immobilized on Amberlite IRA-93			43	
				43	
Glycoside hydrolase					
<i>Caldivirga maquilingensis</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> cells Free	Lactose solution 14% and fructose 56%	pH = 4.5, 85°C Periodic	77	[83]

* lactulose yield, % of initial lactulose, calculated value is based on published data;

** Periodic – periodic method, Continuous – continuous fermentation.

* выход лактулозы, % от исходной лактозы, расчетное значение по данным публикации;

** Periodic – периодический способ, Continuous – непрерывный способ ферментации.

the yield of lactulose increased. At $\geq 80^{\circ}\text{C}$, the amount of lactulose decreased because β -galactosidase grew less stable. Extra Fe^{2+} cations increased the amount of lactulose by 10%, while extra Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , and Co^{2+} had no effect on the yield. The composition of the substrate and the amount of the enzyme had a significant impact on the biosynthesis of lactulose. The yield of lactulose increased together with the substrate concentration. This effect required a greater activity of the introduced enzyme [80]. However, this β -galactosidase yielded little lactulose.

Such lactic acid microorganisms as *L. acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, and *S. thermophilus* are known to produce β -galactosidase [17]. However, few publications describe their use in the lactose-to-lactulose bioconversion. The transgalactolizing activity of *L. acidophilus* NRRL 4495 β -galactosidase was tested for the synthesis of lactulose and oligosaccharides under various conditions. The prebiotic yield depended on the reaction time, the concentration of the enzyme, and the composition of the substrate. The maximal amount of lactulose was obtained after 7 h (6.89 g/L); it decreased between 17–24 h. The content of other oligosaccharides after 7 and 10 h was 17.2 and 19.68 g/L, respectively, which exceeded the amount of lactulose obtained. The concentration of the introduced enzyme was another factor that affected the lactulose yield. When its content was raised from 2 to 8 U/mL, the amount of lactulose reached 25 g/L (3.6 times more than the control) and 15.4 g/L (2 times more than the control) after 7 and 10 h, respectively. A further increase in the enzyme concentration to 10 U/mL inhibited the production of lactulose. When the bioconversion occurred at pH 7.0 and the enzyme content was 2, 4, 6 U/mL, it increased the production of tetraoligosaccharides. At 8 and 10 U/mL, it was pentaoligosaccharides; at pH 5.5 and 8 U/mL, it was trisaccharides. The composition of the substrate was insignificant. The lowest yield of lactulose (5.05 g/L) was obtained from the reaction mix that contained 20% galactose, 20% lactose, and 20% fructose. However, these conditions provided a high yield of other oligosaccharides (17.25 g/L) [81].

Immobilization is another promising direction in the enzymatic synthesis of lactulose with bacterial β -galactosidases. Lactose releases monosaccharide D-galactose, which is a powerful inhibitor of many mesophilic β -galactosidases. Immobilization reduces this effect and facilitates further isolation of the enzyme from the reaction mix. Mayer *et al.* compared hyperthermostable *P. furiosus* β -glycosidase immobilized on Eupergit C (CelB) with industrial β -galactosidase *A. oryzae* (Sigma-Aldrich) [24]. β -Glycosidase yielded by 14% more lactulose than β -galactosidase. For both enzymes, a higher initial concentration of lactose in the reaction mix increased the absolute yield of the pro-

duct, but the average yield went down. A higher initial concentration of lactose resulted in more oligosaccharides differ from lactulose. Extra fructose brought the average yield of lactulose up to 48%. However, the reaction was inhibited when the fructose content reached 36%. The immobilized β -glycosidase was more stable and active during biosynthesis.

Mayer *et al.* also tested a continuous enzymatic process to produce lactulose with trans-galactosylation using free and immobilized *P. furiosus* β -glycosidase [25]. They obtained free β -glycosidase (CelB) heterologously in *E. coli* BL21. Next, they immobilized the enzyme on an anion exchange resin (Amberlite IRA-93) or on Eupergit C. The efficiency of the immobilization appeared to depend on the pH level (7.5) and temperature (30°C). The activity of β -glycosidase immobilized on Eupergit C (1500 $\mu\text{kat/g}$) was higher than in the case of Amberlite IRA-93 (920 nkat/g). The final yield of lactulose was approximately the same in all three cases (41–43%), but the immobilization increased the stability and lifespan of the enzyme.

Most bacterial β -galactosidases are intracellular enzymes. Nevertheless, some microorganisms are known to release them into the medium as a result of cell autolysis after the end of the cultivation process. Montanari *et al.* tested 32 lactose-fermenting strains of *L. brevis* and 15 strains of *L. plantarum* obtained mainly from fermented horse's milk (koumiss) and other products, e.g., fermented silage or sausages [84]. *L. brevis* were able to release intracellular β -galactosidase into the medium at the end of the cultivation process. The release of the enzyme began immediately after the end of reproduction and was associated with the autolysis of cells and the destruction of their walls. *L. plantarum* did not release β -galactosidase, since their autolysis occurred in a different way. Therefore, the screening of microorganisms capable of releasing enzymes into the medium still remains an urgent task and can significantly simplify lactulose production.

Bacterial enzymes allow for a wide temperature range, from 20°C (*Arthrobacter*) to 75°C (*Pyrococcus*) and even 80°C (*Sulfolobus*) [24, 25, 80, 85]. However, most bacterial β -galactosidases give a low yield of lactulose. Genetically engineered *P. furiosus* glycosidases (45% lactulose) and *C. maquilensis* glycoside hydrolases (77%) were an exception, but the synthesis was too complicated and expensive. *L. acidophilus* β -galactosidase gave an option of using safe lactic acid starter cultures, but this issue requires additional research. Some scientists [1, 85] used *f Arthrobacter* sp. Others [45, 55] proved that *B. circulans* β -galactosidase provided a low yield of lactulose, but a high yield of galactooligosaccharides and can be used for their biosynthesis.

Thus, the prospective directions in the biosynthesis of lactulose with bacterial glycosidases include: (1) enzymes that retain their stability at high ($\geq 75^{\circ}\text{C}$)

and low ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) temperatures, as well as low-acidic environmental conditions ($\text{pH} = 4\text{--}5$); (2) β -galactosidases of safe lactic acid microorganisms and bacteria that release the enzyme in the cultivation medium; (3) available and cheap methods of enzyme immobilization that require no extra expenditures on their isolation and stability increase but allow for secondary use.

4. Combined use of β -galactosidases and glucoisomerases. The main disadvantage of glycosidase-based synthesis of lactulose is that it is impossible without fructose in the substrate. Only a part of fructose enters the bioconversion reaction as an acceptor of galactosyl. Its residues have to be removed from the mix after the end of the reaction, which complicates the process and increases its cost. However, the new glucose can be isomerized into fructose, e.g., with commercial glucose isomerase (EC 5.3.1.18), which is used to obtain fructose. Table 3 summarizes the available data on the processing conditions that render the maximal concentrations of lactulose.

Hua *et al.* synthesized lactulose by a double enzymatic method in water-organic two-phase media from lactose and fructose [44]. They immobilized β -galactosidase by crosslinking it with magnetic microspheres ($5\text{--}10\text{ }\mu\text{m}$) that consisted of Fe_3O_4 and chitosan. Phosphate buffer served as the aqueous phase. The organo-aqueous media increased the transglycosylating activity of lactase and the lactulose yield. As the amount of water in the system increased, both the yield of lactulose and the rate of lactose conversion went down. No lactulose developed without water. At the onset of the reaction, the fructose concentration was low because the low glucose content was low, and extra fructose had to be added to the reaction mix. The lactulose yield reached its maximal value at 30°C . When the temperature reached 35°C , the yield dropped by half. The lactulose yield

peaked for 2–4 h at $\text{pH } 6.0\text{--}9.0$: all this time, the degree of lactose conversion remained 65%. This method has two main disadvantages. First, the concentrations of organic solvents to be removed are too high. Second, the immobilization process is too difficult to design.

Song *et al.* used whey to obtain lactose [87]. They produced fructose by glucose isomerization and did not add extra fructose to the substrate. They immobilized enzyme by adding activated silica gels to a pre-treated solution of β -galactosidase or glucose isomerase at 20°C for 12 h of constant stirring.

Song *et al.* assessed the effect of lactose concentration on lactulose synthesis using different concentrations of lactose in the reaction mix (w/v) [87]. The yield of lactulose increased as the concentration of lactose rose from 14 to 20%. At a higher concentration, the viscosity of the reaction mix increased sharply, which eventually inhibited the enzymes. The fructose concentration went up as the proportion of immobilized glucose isomerase increased. It reached its maximal concentration of 33.9 g/L after 2 h when the ratio of immobilized β -galactosidase and glucose isomerase was 1:6. The yield of lactulose increased in proportion to the fructose concentration until the enzyme ratio became 1:5. Probably, it happened because the mass transfer was limited when the viscosity of the reaction mix started to grow as the amount of the immobilized enzyme increased [87]. This method has the following disadvantages. First, purified enzyme preparations are expensive. Second, the immobilization process is too complex. Third, the yield of lactulose is too low.

Lorenzen *et al.* used the bi-enzyme system to treat condensed ultrafiltrated permeate of skimmed milk [86]. They introduced $0.5\% \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and incubated the mix with β -galactosidase and glucose isomerase at $\text{pH } 7.8$ and 45°C . The formation rate of transoligosaccharides was higher during the first hour of ferment-

Table 3. Biosynthesis of lactulose based on β -galactosidases and glucoisomerases

Таблица 3. Биосинтез лактулозы с использованием β -галактозидаз и глюкоизомераз

Producer	Enzyme (preparation, form)	Substrate composition, % weight/volume	Processing conditions	$Y_p, \%^*$	Source
<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Streptomyces murinus</i>	β -galactosidase Immobilized Glucoisomerase Immobilized (Novozyme)	Cyclohexane buffer system 95:5 (vol./vol.), lactose 80% an fructose 10%	$\text{pH} = 8, 30^{\circ}\text{C}, 2\text{ h}$ Periodic**	18.9	[44]
<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Streptomyces rubiginosus</i>	β -galactosidase Lactozym Free Glucoisomerase Gensweet Free	Condensed ultrafiltrated permeate of skimmed milk, lactose 40%	$\text{pH} = 7.8, 45^{\circ}\text{C}$ Periodic	1.1	[86]
<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Streptomyces rubiginosus</i>	β -galactosidase Immobilized Glucoisomerase Immobilized	Lactose solution 20%	$\text{pH} = 7.5, 53.5^{\circ}\text{C}$ Periodic	3.8	[87]

* lactulose yield, % of initial lactulose, calculated value is based on published data;

** Periodic – periodic method, Continuous – continuous fermentation.

* выход лактулозы, % от исходной лактозы, расчетное значение по данным публикации;

** Periodic – периодический способ, Continuous – непрерывный способ ферментации.

tation, when 16.4% galactooligosaccharides and 0.7% lactulose were obtained, and then decreased. After 4 h, the yield was 21.4 and 1.1%, respectively.

Thus, the combined use of β -galactosidases and glucoisomerases makes it possible to completely or partially solve the problem of introducing fructose into the substrate for lactulose synthesis. However, the process is complex and does not increase the yield of lactulose. Such methods require additional enzymes (glucoisomerases). The same problems arise with purified enzyme preparations, i.e., cost, economic sanctions, etc. Still, glucoisomerases can be produced by some types of yeast, in particular baker's yeast, e.g., *Saccharomyces cerevisiae*, and they might be introduced to obtain crude β -galactosidases. Another option is to use the natural symbiosis of kefir grains, which contains several types of lactic acid bacteria and yeast.

5. Applying bacterial cellobiose epimerases for lactulose production. Lactose turns into lactulose under the action of cellobiose epimerase. This reaction is based on isomerization, where the glucose fragment of lactose isomerizes into fructose [26]. The exact mechanism of lactose-to-lactulose transformation by using epimerases still remains unclear.

All known cellobiose epimerases have a near-neutral optimal pH. The optimal temperature depends on the source organism of the enzyme and ranges from 8 to 85°C [26]. However, Chen *et al.* reported that low temperatures in lactulose biosynthesis yielded epilactose as the main reaction product [33]. Epilactose has a beneficial biological effect on human health, promotes the development of bifidobacteria and lactobacilli, and improves the absorption of calcium and magnesium [26]. Several publications focused on epilactose as the main product of lactose conversion [33, 37, 88]. However, if the aim of the work was to increase the yield of lactulose, epilactose was considered undesirable as the final product of biosynthesis. Table 4 summarized the available data on the process conditions that render the maximal concentrations of lactulose.

Table 4 shows that the cellobiose-2-epimerase of *C. saccharolyticus* is the most popular raw material in lactulose synthesis. The yield of lactulose ranges from 43 to 88%. The highest value was obtained by adding boric acid to the reaction mix, probably, due to the formation of lactulose-borate complexes [36]. The binding affinity of borate for lactulose is 59 times higher than for lactose. By binding the new lactulose, borate contributes to its removal from the reaction mix, and the synthesis process continues. The greater the molar ratio of borate and lactose, the higher the degree of lactose isomerization. However, the ratio of 1:1 M results in a plateau, and the degree of lactose isomerization reaches its maximum. In addition, 10% of epilactose appeared as a by-product of the reaction

after 1 h. After 3 h, it decreased and remained below 2%. This method provides a high yield of lactulose and is simpler and more environmentally friendly than alkaline synthesis. Unfortunately, borate has to be removed using ion-exchange resins, which significantly increases the production costs.

Quite often, works on cellobiose epimerase as a catalyst for lactose bioconversion used a controlled or random mutagenesis. Most often, its goal was to increase the thermal stability of the enzyme [28, 31, 32, 35, 36, 89, 92]. Thermostable enzymes have a number of industrial advantages. For instance, solubility of the substrate and the rate of the enzymatic reaction increase at high temperatures. The recombinant cellobiose-2-epimerase of the thermophilic *C. obsidiansis* demonstrated high thermal stability up to 86.7°C. Its half-life was 8.1, 2.8, and 0.6 h at 75, 80, and 85°C, respectively. With lactose as substrate, epilactose appeared very rapidly. The highest yield of epilactose (55 g) was achieved already after 10 min of reaction, with only 10 g of lactulose formed, i.e., the initial epimerization rate was significantly higher than the isomerization rate. After 10 min, the output of epilactose slowly went down, and lactulose production remained steady for 4 h [32].

Shen *et al.* developed eight mutants with the *C. saccharolyticus* cellobiose-2-epimerase gene, and five of them had a prolonged inactivation half-life at 80°C [71]. Genetic engineering increased the maximal activity temperature of the enzyme from 80 to 87.5°C. Some E161D/S180P/S351G and E161D/N365P mutants retained ≥ 50 and $\geq 70\%$ of their activity, respectively, even at 95°C. In addition, the mutant enzymes were more resistant to chemical denaturation and exhibited a wider pH range. The authors believed that these mutants had good prospects for lactulose biosynthesis but gave no data on its yield.

Xiao *et al.* also confirmed that thermophilic bacterial cellobiose epimerases as catalysts produce the highest yield of lactulose [92]. They obtained cellobiose-2-epimerase from *Dictyoglomus thermophilum*, a thermophilic microorganism. The resulting enzyme had a significantly higher initial epimerization rate and a larger amount of epilactose produced in the first 10 min of the reaction. After that, the epilactose yield started to decrease, but the synthesis of lactulose went on, providing a sufficiently high yield even after 4 h. A greater amount of lactose in the substrate did not increase the degree of its conversion.

Kim & Oh worked with the *C. saccharolyticus* recombinant enzyme [89]. The experiment showed first order kinetics for thermal inactivation and half-lives (inactivation rate constants) of 74, 34, 16, and 5 h at 65, 70, 75, and 80°C, respectively. The yield of lactulose and epilactose grew together with the concentration of the enzyme until a plateau at 150 U/mL of cellobiose-2-epimerase. A higher concentration of lac-

Table 4. Biosynthesis of lactulose using cellobiose-2-epimerases
Таблица 4. Биосинтез лактулозы с использованием целлобиозо-2-эпимераз

Producer	Enzyme (preparation, form)	Substrate composition, % weight/volume	Processing conditions	Y_{ly} , %*	Source
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 70%	pH = 7.5, 80°C, 2 h Periodic**	58	[89]
<i>Dictyoglomus turgidum</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 34.2%	pH = 7.0, 70°C, 3 h Periodic	54.3	[35]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 70% + borate 12% Lactose solution 70%	pH = 7.5, 80°C, 3 h Periodic	88 58	[36]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Spores immobilized of <i>Bacillus subtilis</i>	Lactose solution 70%	pH = 7.0, 80°C, 4 h Periodic	56.4	[34]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	UHT milk: fat 1.5%, lactose 4.85%	pH = 7.5, 50°C, 24 h Periodic pH = 7.5, 8°C, 72 h Periodic	57.7 56.7	[37]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Mutant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 50%	pH = 7.5, 80°C, 4 h Periodic	76	[30]
<i>Flavobacterium johnsoniae</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 51%	pH = 8.4, 25°C Periodic	< 3	[28]
<i>Dyadobacter fermentans</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 51%	pH = 7.7, 40°C Periodic	6–9	[28]
<i>Ruminococcus albus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 51%	pH = 7.5, 20°C Periodic	6–9	[28]
<i>Rhodothermus marinus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 51%	pH = 6.3, 70°C Periodic	19	[28]
<i>Bacteroides fragilis</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 51%	pH = 7.5, 35°C Periodic	< 3	[28]
<i>Butyrivibrio</i> sp. AE2015	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 51%	pH = 7.0, 50°C Periodic	6–9	[28]
<i>Firmicutes bacterium</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 51%	pH = 7.5, 35°C Periodic	< 3	[28]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Recombinant in <i>Bacillus subtilis</i> WB800 Free	Cheese whey (lactose 20%)	pH = 7.0, 80°C Continuous**	58.5	[90]
<i>Caldicellulosiruptor obsidiansis</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 20%	pH = 7.5, 70°C, 4 h	55	[32]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Mutant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 20%	pH = 7.5, 65°C, 2 h Periodic	43	[29]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Immobilized in the form of cross-linked aggregates (CLEAs)	Lactose solution 25%	pH = 7.5, 80°C Continuous	58.8–61.7	[91]
<i>Dictyoglomus thermophilum</i>	Recombinant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 20% Lactose solution 40%	pH = 7.0, 80°C Periodic	50.7 46.7	[92]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Mutant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 27.4%	pH = 7.5, 70°C Periodic	75	[31]
<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	Mutant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 27.4%	pH = 7.5, 70°C Periodic	69	[31]
<i>Rhodothermus marinus</i>	Mutant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 27.4%	pH = 7.5, 70°C Periodic	82	[31]
<i>Ruminococcus albus</i>	Mutant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 27.4%	pH = 7.5, 70°C Periodic	69	[31]
<i>Spirochaeta thermophila</i>	Mutant in <i>Escherichia coli</i> Free	Lactose solution 27.4%	pH = 7.5, 70°C Periodic	56	[31]

* lactulose yield, % of initial lactulose, calculated value is based on published data; ** Periodic – periodic method, Continuous – continuous fermentation.

* выход лактулозы, % от исходной лактозы, расчетное значение по данным публикации; ** Periodic – периодический способ, Continuous – непрерывный способ ферментации.

tose in the substrate led to a proportional increase in lactulose and epilactose. This phenomenon distinguishes cellobiose epimerase from β -galactosidase, because the transgalactosylating activity of β -galactosidase increases together with the substrate concentration. Cellobiose-2-epimerase can produce lactulose even at low lactose concentrations in the reaction mix, which makes it possible to use dairy products with a low lactose content as a substrate.

For example, Rentschler *et al.* used UHT milk as a substrate for lactulose biosynthesis [37]. To maintain microbiological purity, they chose 8 and 50°C because these temperatures produce almost no undesirable organoleptic taste changes. The study involved two bioconversions with different initial activity of *C. saccharolyticus* cellobiose-2-epimerase: $4.16 \pm 0.21 \mu\text{kat}_{\text{epilactose}, 50^\circ\text{C}}$ and $39.5 \pm 1.4 \mu\text{kat}_{\text{epilactose}, 50^\circ\text{C}}$. In both cases, epilactose was the first rapidly formed lactose conversion product. Its maximal concentration was reached after 40 and 5 min, respectively. After that, its concentration decreased steadily for 6 h until the equilibrium. At a 9.5 times higher initial activity of the enzyme, the yield of epilactose (% wt./wt.) fell in relation to the initial milk lactose from 33.6 to 15.5%. Lactulose appeared with a delay. Another bioconversion was performed at 8°C with the initial activity of cellobiose-2-epimerase CsCE $27.8 \pm 1.3 \mu\text{kat}_{\text{epilactose}, 50^\circ\text{C}}$. Epilactose and lactulose developed according to the same pattern as at 50°C, but slower than expected. The maximal amount of lactulose was reached after 72 h, and the concentration of epilactose was 13.6%. The synthesis conducted at 8°C resulted in a higher residual cellobiose-2-epimerase activity of 72%, which was almost 10 times greater than when the temperature was 50°C. These data can be used to produce dairy products and fortify them with prebiotic lactulose *in situ*. However, this method involved genetically modified microorganisms, which causes concern and controversy among both food producers and consumers.

Wang *et al.* used whey with > 65% lactose and > 11% protein as a substrate for lactulose biosynthesis in the EMR system [90]. The method required *B. subtilis* as host cells to express the genomic DNA of *C. saccharolyticus* cellobiose-2-epimerase. Unlike *E. coli*, *B. subtilis* produces no toxins during growth and development and is recognized as safe for the food industry and pharmacy. In addition, genetically modified *B. subtilis* produced extracellular cellobiose epimerase, which reduced the costs and simplifies the process. The continuous synthesis of lactulose in the EMR system reduced the loss of enzyme, which could be reused. The yield of lactulose increased as a result of its continuous removal from the reaction mix. The lactose conversion rate was high during the first 30 min. However, it started to decrease when the sugar conversion exceeded 50% and reached its maximum

after 2 h. The short reaction time made it possible to reduce energy consumption and costs, which is of great importance for industrial production.

Another goal of cellobiose epimerase mutagenesis is to reduce its epimerization activity and, as a result, reduce the amount of epilactose, while simultaneously increasing the isomerization activity and the yield of lactulose. Shen *et al.* developed a G4-C5 mutant of cellobiose-2-epimerase obtained from *C. saccharolyticus* DSM 890 [30]. They used random mutagenesis, which had a 3.0-fold higher activity than the natural enzyme (WT) and did not compromise thermal stability. The G4-C5 mutant also retained higher activity at low temperatures and a wide range of pH activity compared to the natural WT enzyme. After 4 h, the yield of lactulose and epilactose, catalyzed by the natural WT enzyme, was approximately 57 and 16%, respectively. The lactulose concentration catalyzed by the G4-C5 mutant increased from 0 to 90 min and then gradually increased to a constant level of 76%. The G4-C5 mutant produced no epilactose.

Park *et al.* performed a rational genetic modification of *C. saccharolyticus* cellobiose-2-epimerase [29]. They used the superposition of three known structural models of this enzyme and identified two residues: Tyr114 and Asn184. Probably, these residues had an important role in epilactose binding. They modified these residues to prevent the epimerization of lactose to epilactose and compared the ability of the natural and mutant cellobiose-2-epimerases to synthesize lactulose. Enzyme Y114E made it possible to obtain 42% more lactulose and 80% less epilactose than the natural enzyme.

Wang *et al.* tried to increase the isomerization activity and thermal stability of *C. saccharolyticus* (CsCE) cellobiose-2-epimerase [31]. They designed four mutants by replacing flexible loops. They used CsCE enzyme as a protein scaffold and replaced the lower part of its flexible loops with the corresponding parts of four other enzymes, namely *Bacillus thermoamylovorans* (BtCE), *Rhodothermus marinus* (RmCE), *R. albus* (RaCE), and *S. thermophila* (StCE). All the cellobiose epimerase mutants except RmC showed low isomerization and epimerization activity. The isomerization activity of RmC (8.50 U/mg) increased by 2.2 times compared to CsCE (3.85 U/mg), while the epimerization activity of RmC (43.73 U/mg) approximated that of CsCE (44.22 U/mg). CsCE was the only variant with the maximal activity temperature to reach 75°C: in other mutants, this value dropped to 70°C. All enzymes exhibited first order kinetics for thermal inactivation. The half-life value ($t_{1/2}$) of StC was 38.29 h, which exceeded that of CsCE (29.07 h). Conversely, the $t_{1/2}$ values of RmC (19.22 h), RaC (17.08 h), and BtC (23.11 h) were lower than that of CsCE. Therefore, a better catalytic activity of an enzyme could lower its thermal

stability. All four mutants demonstrated lactose bioconversion similar to CsCE and yielded 56–82% lactulose and 7–10% epilactose.

Gu *et al.* described another promising direction in lactulose biosynthesis [34]. By immobilizing cellobiose epimerase, they increased the economic efficiency, simplified the process of isolation process, and increased its stability. In addition, they managed to make the enzyme highly reusable. They induced the *C. saccharolyticus* cellobiose-2-epimerase in *E. coli* BL21 and immobilized it on *B. subtilis* WB600 spores. The strength that bound the enzyme to the carrier was an important indicator. The amount of cellobiose epimerase adsorbed on spores was very sensitive to pH because the pH of the adsorption medium changed the ionization state of the enzyme and the spore surface. The highest ability of cellobiose-2-epimerase to bind to the spore surface was observed after 2 h of immobilization at pH 4.0–4.5 and 4°C. As a result, the enzyme remained active in a wider pH range. Its thermal stability increased, thus raising the stability of lactulose biosynthesis in general. As a result, the enzyme retained 70% of its activity when it was reused eight times. The initial biosynthesis stage had a higher rate of conversion under the action of the free enzyme than when the enzyme was immobilized, probably because the immobilized enzyme had a granular form and was less homogeneously distributed in the mix. After 4 h, the immobilized cellobiose epimerase yielded by 52% more lactulose than the sample with the free enzyme [34].

Wang *et al.* immobilized the cellobiose-2-epimerase of *C. saccharolyticus* using cross-linked enzyme aggregates (CLEA) [91]. They selected fructose-monosaccharide supported CLEA (Fru-CLEA) and sucrose-disaccharide supported CLEA (Suc-CLEA) as the most effective biocatalysts. CLEA showed no increase in the optimal operating temperature but had an extended temperature range (70–80°C) and retained higher activity at 50–90°C. A lower-temperature lactose conversion is more energy-efficient and preserves the final product. In this case, however, the process of lactulose biosynthesis with free cellobiose-2-epimerase and CLEA demonstrated no fundamental differences from other methods, and the epilactose content was 9.3–10.2%.

Cellobiose epimerases of mesophilic microorganisms are seldom used in lactulose bioconversion because the yield of the prebiotic is quite low. Kuschel *et al.* used mesophilic cellobiose-2-epimerase obtained from *Flavobacterium johnsoniae* (FjCE), *R. albus* (RaCE), *Dyadobacter fermentans* (DfCE), *Bacteroides fragilis* (BfCE), *R. marinus* (RmCE), *Firmicutes bacterium* CAG:534, and *Butyrivibrio* sp. AE2015 [28]. However, they failed to raise the lactulose yield. Moreover, the amount of epilactose was 30%, which exceeded that of lactulose. The isomerization activity of these cellobiose epimerases varied from 8.7 ± 0.1 to 1300 ± 37 μ kat/mg.

In general, when lactulose synthesis was catalyzed by cellobiose epimerases, the yield was rather high (38–88%) and comparable with alkaline and borate isomerization. Such high results mean that the method can be used for industrial production.

The type of cellobiose-epimerase producer affects the final yield of lactulose, as does the amount and form of the enzyme. A number of publications reported a stable and high lactulose yield of 54–58% provided by native, not genetically modified, cellobiose-2-epimerase of thermophilic bacteria *C. saccharolyticus*, *D. turgidum*, and *C. obsidiansis* [30, 35–37, 89, 90]. However, directed or random mutation can increase the activity of cellobiose epimerases, improve their thermal stability, and raise the lactulose yield. Mutant cellobiose epimerase were reported to yield 56–82% lactulose [31, 71].

Cellobiose epimerases have a great advantage over other methods of lactulose synthesis: they need a single substrate, i.e., lactose, in the reaction medium. As a rule, a greater concentration of lactose in the substrate leads to a proportional increase in lactulose. Cellobiose epimerases can synthesize lactulose from a lactose-poor substrate, if whey enters the reaction.

Unfortunately, cellobiose epimerases are not commercial. The problem is that cellobiose epimerases are produced from *Arthrobacter*, *Dictyoglomus*, and *Caldicellulosripter*, whose safety status remains vague. As a result, this method always involves genetic engineering of genes responsible for the production of cellobiose epimerases in the cells of other microorganisms, e.g., *B. subtilis* or *E. coli*. Genetically modified microorganisms not only complicate the production process but also raise public concerns.

Thus, the lactulose biosynthesis with cellobiose epimerases includes the following directions. First, genetic engineering and mutagenesis methods can be used to produce an enzyme with desired properties, e.g., a better thermal stability, a higher isomerization activity, etc. Second, immobilization can increase the stability and activity of the enzyme. This method allows for multiple use of the enzyme and simplifies the isolation process.

6. Purification of lactulose. Various chemical, physical, mechanical, and biological methods can be used to remove ballast substances from lactose-lactulose solutions. Some publications give a detailed description of physicochemical methods that isolate lactulose as a separate stage of purification [9, 10]. Electrodialysis and ion exchange are popular methods of demineralization. By-products of dark-colored melanoidin and caramelization are usually removed by refining, and lactose is removed by crystallization [9]. The choice of cleaning processes depends on the product requirements, production volume, and financial capabilities of the enterprise. Nutritional supplements with prebiotic oligosaccharides require rather cheap but promising methods, e.g., high-throughput cascade nanofiltration and/or activated carbon adsorp-

tion. These methods separate mono-, di-, and oligosaccharides because they have different hydrophobicity and spatial orientation of CH groups. Pharmaceutical preparations require expensive methods of highly selective chromatography. Complex and interrelated processes of conversion and purification make it possible to organize continuous work and reduce costs [16].

Botelho *et al.* used this approach to build a membrane bioreactor that provided simultaneous synthesis and fractionation of oligosaccharides [93]. They mixed β -galactosidase with a 15% lactose solution to decrease the permeability of ultrafiltration cellulose acetate membranes with respect to monosaccharides, disaccharides, and trisaccharides by 60, 20, and 75%, respectively. The ratio of synthesis and hydrolysis of galactooligosaccharides depended on the cross-flow rate and the operating pressure. The optimization increased the galactooligosaccharide yield by 60% compared to reactions without membrane processes.

Biological treatment methods have recently gained a lot of scientific attention. These methods rely on the fact that microorganisms ferment only certain carbohydrates, and at different rates. Once the cultures are selected, they can be used to remove particular mono- and/or disaccharides from oligosaccharide solutions. *S. cerevisiae*, *K. marxianus*, and *K. lactis* are the most popular yeast strains to be used. As a rule, biological treatment requires neither pretreatment of solutions nor special equipment. However, it may be expensive since it presupposes additional fermentation processes, as well as removal of utilized microorganisms and their metabolic products [16].

Biotreatment processes are popular in the field of galactooligosaccharide studies. Glucose removal methods can be used together with galactose removal or alone. They involve non-lactose-fermenting yeast species, as well as the removal of mono- and disaccharides. *Kluyveromyces* yeast strains with a high rate of glucose, galactose, and lactose metabolism make it possible to obtain 90% high-purity galactooligosaccharides [94].

Similar strategies can be applied in lactulose technology. Julio-Gonzalez used biological and physicochemical methods to purify commercial lactulose syrups. They used four commercial preparations of β -galactosidase for selective enzymatic hydrolysis of lactose and epilactose. The experiment revealed that β -galactosidases obtained from *B. bifidum* (Saphera® 2600 L) and *B. circulans* (Biolactas NTL*2) had the lowest activity towards lactulose and the highest activity towards lactose and epilactose. The samples with hydrolyzed lactose and epilactose were treated with activated carbon and an aqueous solution of ethanol to remove all monosaccharides. The research resulted in a high-purity product that contained > 94% lactulose [95].

Guerrero *et al.* used the *S. cerevisiae* and *K. marxianus* yeasts to purify a mix of transoligosaccharides obtai-

ned by enzymatic synthesis with the *A. oryzae* β -galactosidase [96]. The resulting product was monosaccharide-free and contained 28% lactulose and 20% oligosaccharides.

Co-fermentation is a promising trend in lactulose biotechnology. It can rely on a combined use of lactose-fermenting and non-fermenting enzymes from different types of yeast, as well as on the co-fermentation of yeast and lactic acid microorganisms. For example, Huang *et al.* used co-fermentation to improve the physicochemical and organoleptic properties of goat milk, while Ryabtseva *et al.* used it to obtain complex enzyme preparations of β -galactosidases [75, 97]. Co-immobilization of enzymes in lactulose production can also involve two or more enzymes, both at the stage of lactose conversion and purification. Wilson *et al.* produced lactofructose syrup from lactose based on simultaneous fermentation with coimmobilized β -galactosidases and glucose-(xylose)-isomerases [98].

Conclusion

Modern food science knows two ways of enzymatic lactose-to-lactulose conversion: isomerization (direct) and transgalactosylation (with intermediate hydrolysis). Isomerization requires cellulose-2-epimerases, which have no safety status and, as a result, cannot be produced on an industrial scale. The reaction produces epilactose as a by-product, and its exact mechanism remains unknown. Transgalactosylation involves glycosidases that break down lactose to galactose and glucose, as well as add a galactose residue to fructose. This method usually requires β -galactosidases, which are officially safe and market-available. Their mechanism of action is a highly researched matter. The publications dynamics indicates the high relevance of β -galactosidase-based lactulose biosynthesis.

β -Galactosidases are able to accept nucleophiles other than water in the active center. As a result, they can form not only lactulose, but also more complex oligosaccharides, including galactooligosaccharides of various structures. They owe this ability to the tertiary structure of the enzyme, as well as the concentration of lactose and fructose in the substrate. This reaction makes it possible to control the ratio of carbohydrates, which is important since lactulose and galactooligosaccharides are prebiotics and can have a synergistic effect. However, to obtain pure lactulose, other oligosaccharides have to be removed, which increases the production cost.

The *Kluyveromyces lactis* yeast and the *Aspergillus oryzae* mold are the main producers of β -galactosidases. Micromycetic enzymes produce a wide range of lactulose concentrations, but optimal conditions can result in a 30% lactulose yield, which makes it as effective as alkaline isomerization.

No publication has reported a direct relationship between the maximal yield of lactulose and the molar

ratio of fructose:lactose (m_f/m_l). The area of $m_f/m_l \leq 5$ proved to be the most cost-efficient one. Large amounts of fructose increased the cost of raw materials, while most of the fructose did not participate in the synthesis of lactulose and remains in solution, which makes purification processes difficult. Therefore, the optimal reaction conditions presuppose the minimal possible dose of fructose and the maximal yield of lactulose. The glucose formed during the lactose-to-fructose hydrolysis can be biologically transformed.

Cellobiose epimerases make it possible to raise the lactulose yields to 70–80%, which is the level of chemical catalysis with aluminates and borates. However, this method involves genetic engineering and mutagenesis, which improve the safety of enzymes but raise public concerns and complicate the technology. The chemical synthesis of lactose has the same problems. Cheap secondary dairy raw materials, e.g., whey, seem to be a more practical lactose production method.

The most promising methods of lactulose biotechnology are cheap and continuous. They include the following trends:

- secondary dairy raw materials can cultivate enzyme producers and synthesize lactulose;
- immobilization makes enzymes more stable, active, reusable, and easy to isolate from the reaction mix;
- different models of reactors, e.g., membrane installations, can provide simultaneous synthesis and fractionation of lactulose and galactooligosaccharides;

– complex and interrelated processes combine the production of enzymes, the conversion of lactose to lactulose, and the purification of finished products, including co-fermentation and co-immobilization.

Contribution

S.A. Ryabtseva developed the research idea, designed the study, collected publications, translated them, analyzed the data, and wrote the manuscript. A.G. Khramtsov analyzed the data and revised the article. M.A. Shpak, A.D. Lodygin, G.S. Anisimov, S.N. Sazanova, and Yu.A. Tabakova collected publications, translated them, analyzed the data, and wrote the manuscript.

Conflict of interest

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

Критерии авторства

С. А. Рябцева – идея и структура работы, поиск, перевод и анализ информации, написание статьи. А. Г. Храмцов – анализ информации, существенная переработка научного и интеллектуального содержания статьи. М. А. Шпак, А. Д. Лодыгин, Г. С. Анисимов, С. Н. Сазанова и Ю. А. Табакова – поиск, перевод и анализ информации, написание статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References/Список литературы

1. Ryabtseva SA, Khramtsov AG, Budkevich RO, Anisimov GS, Chuklo AO, Shpak MA. Physiological effects, mechanisms of action and application of lactulose. *Problems of Nutrition*. 2020;89(2):5–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10012>
2. Ait-Aissa A, Aider M. Lactulose: Production and use in functional food, medical and pharmaceutical applications. Practical and critical review. *International Journal of Food science and Technology*. 2014;49(5):1245–1253. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12465>
3. Hiraishi K, Zhao F, Kurahara L-H, Li X, Yamashita T, Hashimoto T, *et al.* Lactulose modulates the structure of gut microbiota and alleviates colitis-associated tumorigenesis. *Nutrients*. 2022;14(3). <https://doi.org/10.3390/nu14030649>
4. Chen H-B, Su X-Y. Efficacy and safety of lactulose for the treatment of irritable bowel syndrome. *Medicine*. 2019;98(39). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017295>
5. Kishor C, Ross RL, Blanchard H. Lactulose as a novel template for anticancer drug development targeting galectins. *Chemical Biology and Drug Design*. 2018;92(4):1801–1808. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13348>
6. Karakan T, Tuohy KM, Janssen-van Solingen G. Low-dose lactulose as a prebiotic for improved gut health and enhanced mineral absorption. *Frontiers in Nutrition*. 2021;8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.672925>
7. Nooshkam M, Babazadeh A, Jooyandeh H. Lactulose: Properties, technofunctional food applications, and food grade delivery system. *Trends in Food Science and Technology*. 2018;80:23–34. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.028>
8. Vera C, Guerrero C, Illanes A. Trends in lactose-derived bioactives: Synthesis and purification. *Systems Microbiology and Biomanufacturing volume*. 2022;2:393–412. <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00068-2>
9. Ryabtseva SA. Lactulose technology. Moscow: DeLi print; 2003. 232 p. (In Russ.). [Рябцева С. А. Технология лактулозы. М.: ДеЛи принт, 2003. 232 с.]

10. Sitanggang AB, Drews A, Kraume M. Recent advances on prebiotic lactulose production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016;32(9). <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2103-7>
11. Karim A, Aïder M. Contribution to the process development for lactulose production through complete valorization of whey permeate by using electro-activation technology *versus* a chemical isomerization process. *ACS Omega*. 2020;5(44): 28831–28843. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04178>
12. Silvério SC, Macedo EA, Teixeira JA, Rodrigues LR. Biocatalytic approaches using lactulose: End product compared with substrate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016;15(5):878–896. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12215>
13. Vera C, Illanes A. Lactose-derived nondigestible oligosaccharides and other high added-value products. In: Illanes A, Guerrero C, Vera C, Wilson L, Conejeros R, Scott F, editors. *Lactose-derived prebiotics. A process perspective*. Academic Press; 2016. pp. 87–110. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802724-0.00003-2>
14. Wang M, Wang L, Lyu X, Hua X, Goddard JM, Yang R. Lactulose production from lactose isomerization by chemo-catalysts and enzymes: Current status and future perspectives. *Biotechnology Advances*. 2022;60. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.108021>
15. Lactulose market – Global industry insights, trends, outlook and opportunity analysis, 2022–2028 [Internet]. [cited 2022 Aug 11]. Available from: <https://www.coherentmarketinsights.com/market-insight/lactulose-market-590>
16. Kruschitz A, Nidetzky B. Downstream processing technologies in the biocatalytic production of oligosaccharides. *Biotechnology Advances*. 2020;43. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107568>
17. BRENDA [Internet]. [cited 2022 Aug 11]. Available from: <https://www.brenda-enzymes.org>
18. Martins GN, Ureta MM, Tymczyszyn EE, Castilho PC, Gomez-Zavaglia A. Technological aspects of the production of fructo and galacto-oligosaccharides. Enzymatic synthesis and hydrolysis. *Frontiers in Nutrition*. 2019;6. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00078>
19. Ureta MM, Martins GN, Figueira O, Pire PF, Castilho PC, Gomez-Zavaglia A. Recent advances in β -galactosidase and fructosyltransferase immobilization technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021;61(16):2659–2690. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1783639>
20. van den Dungen MW, Boer R, Wilms LC, Efimova Yu, Abbas HE. The safety of a *Kluyveromyces lactis* strain lineage for enzyme production. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2021;126. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2021.105027>
21. Žolnere K, Ciproviča I. The comparison of commercially available β -galactosidases for dairy industry: Review. *Research for Rural Development*. 2017;1:215–222. <https://doi.org/10.22616/rrd.23.2017.032>
22. de Albuquerque TL, de Sousa M, e Silva NCG, Girão Neto CAC, Gonçalves LRB, Fernandez-Lafuente R, et al. β -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;191:881–898. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>
23. Girão Neto CAC, e Silva NCG, de Oliveira Costa T, de Albuquerque TL, Gonçalves LRB, Fernandez-Lafuente R, et al. The β -galactosidase immobilization protocol determines its performance as catalysts in the kinetically controlled synthesis of lactulose. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;176:468–478. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.078>
24. Mayer J, Conrad J, Klaiber I, Lutz-Wahl S, Beifuss U, Fischer L. Enzymatic production and complete nuclear magnetic resonance assignment of the sugar lactulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(23):6983–6990. <https://doi.org/10.1021/jf048912y>
25. Mayer J, Kranz B, Fischer L. Continuous production of lactulose by immobilized thermostable b-glycosidase from *Pyrococcus furiosus*. *Journal of Biotechnology*. 2010;145(4):387–393. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.12.017>
26. Chen Q, Xiao Y, Zhang W, Zhang T, Jiang B, Stressler T, et al. Current research on cellobiose 2-epimerase: Enzymatic properties, mechanistic insights, and potential applications in the dairy industry. *Trends in Food Science and Technology*. 2018;82:167–176. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.009>
27. Chen Q, Xiao Y, Wu Y. Characteristics of cellobiose 2-epimerase and its application in enzymatic production of lactulose and epilactose. In: Mu W, Zhang W, Chen Q, editors. *Novel enzymes for functional carbohydrates production. From scientific research to application in health food industry*. Singapore: Springer; 2021. pp. 105–123. <https://doi.org/10.1007/978-981-3-3-6021-1>
28. Kuschel B, Seitz I, Glück C, Mu W, Orcid, Jiang B, Stressle T, et al. Hidden reaction: Mesophilic cellobiose-2-epimerases produce lactulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017;65(12):2530–2539. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05599>
29. Park A-R, Kim J-S, Jang S-W, Park Y-G, Koo B-S, Lee H-C. Rational modification of substrate binding site by structure based engineering of a cellobiose-2-epimerase in *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Microbial Cell Factories*. 2017;16(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0841-3>

30. Shen Q, Zhang Y, Yang R, Pan S, Dong J, Fan Y, *et al.* Enhancement of isomerization activity and lactulose production of cellobiose 2-epimerase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. Food Chemistry. 2016;207:60–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.067>
31. Wang L, Gu J, Feng Y, Wang M, Tong Y, Liu Y, *et al.* Enhancement of the isomerization activity and thermostability of cellobiose 2-epimerase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* by exchange of a flexible loop. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2021;69(6):1907–1915. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07073>
32. Chen Q, Levin R, Zhang W, Zhang T, Jiang B, Stressler T, *et al.* Characterization of a novel cellobiose 2-epimerase from thermophilic *Caldicellulosiruptor obsidiansis* for lactulose production. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2017;97(10):3095–3105. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8148>
33. Chen Q, Wu Y, Huang Z, Zhang W, Mu W. Molecular characterization of a mesophilic cellobiose 2-epimerase that maintains a high catalytic efficiency at low temperatures. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2021;69(29):8268–8275. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02025>
34. Gu J, Yang R, Hua X, Zhang W, Zhao W. Adsorption-based immobilization of *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* cellobiose 2-epimerase on *Bacillus subtilis* spores. Biotechnology and Applied Biochemistry. 2015;62(2):237–244. <https://doi.org/10.1002/bab.1262>
35. Kim J-E, Kim Y-S, Kang L-W, Oh D-K. Characterization of a recombinant cellobiose 2-epimerase from *Dictyoglomus turgidum* that epimerizes and isomerizes β -1,4 and α -1,4-gluco-oligosaccharides. Biotechnology Letters. 2012;34(11):2061–2068. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-0999-z>
36. Kim Y-S, Kim J-E, Oh D-K. Borate enhances the production of lactulose from lactose by cellobiose 2-epimerase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. Bioresource Technology. 2013;128:809–812. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.060>
37. Rentschler E, Schuh K, Krewinkel M, Baur C, Claaßen W, Meyer S, *et al.* Enzymatic production of lactulose and epilactose in milk. Journal of Dairy Science. 2015;98(10):6767–6775. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9900>
38. Panesar PS, Kumari S. Lactulose: Production, purification and potential applications. Biotechnology Advances. 2011;29(6):940–948. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.008>
39. Wang H, Yang R, Hua X, Zhao W, Zhang W. Enzymatic production of lactulose and 1-lactulose: Current state and perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology. 2013;97(14):6167–6180. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4998-3>
40. Vaheri M, Kaupinnen V. The formation of lactulose (4-O- β -galactopyranosylfructose) by β -galactosidase. Acta Pharmaceutica Fennica. 1978;87:75–83.
41. Lee Y-J, Kim CS, Oh D-K. Lactulose production by beta-galactosidase in permeabilized cells of *Kluyveromyces lactis*. Applied Microbiology and Biotechnology. 2004;64(4):787–793. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1506-1>
42. Adamczak M, Charubin D, Bednarski W. Influence of reaction medium composition on enzymatic synthesis of galactooligosaccharides and lactulose from lactose concentrates prepared from whey permeate. Chemical Papers. 2009;63:111–116. <https://doi.org/10.2478/s11696-009-0010-1>
43. Fattahi H, Zokaei F, Bonakdarpour B, Hashemi SA, Khatami SH. Enzymatic synthesis of lactulose by commercial β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. Afinidad. 2010;67(546):149–153.
44. Hua X, Yang R, Zhang W, Fei Y, Jin Z, Jiang B. Dual-enzymatic synthesis of lactulose in organic-aqueous two-phase media. Food Research International. 2010;43(3):716–722. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.11.008>
45. Guerrero C, Vera C, Plou F, Illanes A. Influence of reaction conditions on the selectivity of the synthesis of lactulose with microbial β -galactosidases. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2011;72(3–4):206–212. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.06.007>
46. Shen Q, Yang R, Hua X, Ye F, Wang H, Zhao W, *et al.* Enzymatic synthesis and identification of oligosaccharides obtained by transgalactosylation of lactose in the presence of fructose using β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. Food Chemistry. 2012;135(3):1547–1554. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.115>
47. Song YS, Shin HY, Lee JY, Park C, Kim SW. β -Galactosidase-immobilised microreactor fabricated using a novel technique for enzyme immobilisation and its application for continuous synthesis of lactulose. Food Chemistry. 2012;133(3):611–617. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.096>
48. Song YS, Suh YJ, Park C, Kim SW. Improvement of lactulose synthesis through optimization of reaction conditions with immobilized β -galactosidase. Korean Journal of Chemical Engineering. 2013;30(1):160–165. <https://doi.org/10.1007/s11814-012-0105-1>
49. Song YS, Lee HU, Park C, Kim SW. Batch and continuous synthesis of lactulose from whey lactose by immobilized β -galactosidase. Food Chemistry. 2013;136(2):689–694. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.074>

50. Hua X, Yang R, Shen Q, Ye F, Zhang W, Zhao W. Production of 1-lactulose and lactulose using commercial β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* in the presence of fructose. Food Chemistry. 2013;137(1–4):1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.003>
51. Khatami S, Ashtiani FZ, Bonakdarpour B, Mehrdad M. The enzymatic production of lactulose via transglycosylation in conventional and non-conventional media. International Dairy Journal. 2014;34(1):74–79. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.07.010>
52. Sitanggang AB, Drews A, Kraume M. Continuous synthesis of lactulose in an enzymatic membrane reactor reduces lactulose secondary hydrolysis. Bioresource Technology. 2014;167:108–115. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.124>
53. Sitanggang AB, Drews A, Kraume M. Rapid transgalactosylation towards lactulose synthesis in a small scale enzymatic membrane reactor (EMR). Chemical Engineering Transactions. 2014;38:19–24. <https://doi.org/10.3303/CET1438004>
54. Sitanggang AB, Drews A, Kraume M. Influences of operating conditions on continuous lactulose synthesis in an enzymatic membrane reactor system: A basis prior to long-term operation. Journal of Biotechnology. 2015;203:89–96. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.03.016>
55. Guerrero C, Vera C, Conejeros R, Illanes A. Transgalactosylation and hydrolytic activities of commercial preparations of β -galactosidase for the synthesis of prebiotic carbohydrates. Enzyme and Microbial Technology. 2015;70:9–17. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.12.006>
56. De Albuquerque TL, Gomes SDL, D’Almeida AP, Fernandez-Lafuente R, Gonçalves LRB, Rocha MVP. Immobilization of β -galactosidase in glutaraldehyde-chitosan and its application to the synthesis of lactulose using cheese whey as feedstock. Process Biochemistry. 2018;73:65–73. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.08.010>
57. Schmidt CM, Nedele A-K, Hinrichs J. Enzymatic generation of lactulose in sweet and acid whey: Feasibility study for the scale up towards robust processing. Food and Bioproducts Processing. 2020;119:329–336. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.11.015>
58. Schmidt CM, Balinger F, Conrad J, Günther J, Beifuss U, Hinrichs J. Enzymatic generation of lactulose in sweet and acid whey: Optimization of feed composition and structural elucidation of 1-lactulose. Food Chemistry. 2020;305. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125481>
59. de Freitas MFM, Hortêncio LC, de Albuquerque TL, Rocha MVP, Gonçalves LRB. Simultaneous hydrolysis of cheese whey and lactulose production catalyzed by beta-galactosidase from *Kluyveromyces lactis* NRRL Y1564. Bioprocess and Biosystems Engineering. 2020;43(4):711–722. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02270-y>
60. Guerrero C, Vera C, Araya E, Conejeros R, Illanes A. Repeated-batch operation for the synthesis of lactulose with β -galactosidase immobilized by aggregation and crosslinking. Bioresource Technology. 2015;190:122–131. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.039>
61. Sitanggang AB, Drews A, Kraume M. Development of a continuous membrane reactor process for enzyme-catalyzed lactulose synthesis. Biochemical Engineering Journal. 2016;109:65–80. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.01.006>
62. Guerrero C, Vera C, Illanes A. Synthesis of lactulose in batch and repeated-batch operation with immobilized β -galactosidase in different agarose functionalized supports. Bioresource Technology. 2017;230:56–66. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.037>
63. Guerrero C, Vera C, Serna N, Illanes A. Immobilization of *Aspergillus oryzae* β -galactosidase in an agarose matrix functionalized by four different methods and application to the synthesis of lactulose. Bioresource Technology. 2017;232:53–63. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.003>
64. Guerrero C, Valdivia F, Ubilla C, Ramírez N, Gómez M, Aburto C, et al. Continuous enzymatic synthesis of lactulose in packed-bed reactor with immobilized *Aspergillus oryzae* β -galactosidase. Bioresource Technology. 2019;278:296–302. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.018>
65. Ubilla C, Ramírez N, Valdivia F, Vera C, Illanes A, Guerrero C. Synthesis of lactulose in continuous stirred tank reactor with β -galactosidase of *Aspergillus oryzae* immobilized in monofunctional glyoxyl agarose support. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2020;8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00699>
66. Guerrero C, Aburto C, Suarez S, Vera C, Illanes A. Improvements in the production of *Aspergillus oryzae* β -galactosidase crosslinked aggregates and their use in repeated-batch synthesis of lactulose. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;142:452–462. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.117>
67. Serey M, Vera C, Guerrero C, Illanes A. Immobilization of *Aspergillus oryzae* β -galactosidase in cation functionalized agarose matrix and its application in the synthesis of lactulose. International Journal of Biological Macromolecules. 2021;167:1564–1574. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.110>
68. Ramírez N, Ubilla C, Campos J, Valencia F, Aburto C, Vera C, et al. Enzymatic production of lactulose by fed-batch and repeated fed-batch reactor. Bioresource Technology. 2021;341. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125769>

69. Zimmer FC, Souza AHP, Silveira AFC, Santos MR, Matsushita M, Souza NE, *et al.* Application of factorial design for optimization of the synthesis of lactulose obtained from whey permeate. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2017;28(12):2326–2333. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170083>
70. Illanes A. Whey upgrading by enzyme biocatalysis. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2011;14(6).
71. Shen Q, Zhang Y, Yang R, Hua X, Zhang W, Zhao W. Thermostability enhancement of cellobiose 2-epimerase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* by site-directed mutagenesis. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2015;120:158–164. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.07.007>
72. Karim A, Gerliani N, Aider M. *Kluyveromyces marxianus*: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology. *International Journal of Food Microbiology*. 2020;333. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108818>
73. Lyutova LV, Naumov GI, Shnyreva AV, Naumova ES. Molecular polymorphism of β -galactosidase *LAC4* genes in dairy and natural strains of *Kluyveromyces* yeasts. *Molecular Biology*. 2021;55(1):75–85. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0026898421010109>
74. Naumova ES, Sadykova AZ, Michailova YuV, Naumov GI. Polymorphism of lactose genes in the dairy yeasts *Kluyveromyces marxianus*, potential probiotic microorganisms. *Microbiology*. 2017;86(3):335–343. (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0026365617030144>
75. Ryabtseva SA, Skripnyuk AA, Kotova AA, Khramtsov AG, Rodnaya AB, Lodygin AD, *et al.* Method for combined enzyme beta-galactosidase production. *Russia Patent Ru 2622078C1*. 2017.
76. Panesar PS, Kumari S, Panesar R. Potential applications of immobilized β -galactosidase in food processing industries. *Enzyme Research*. 2010;2010. <https://doi.org/10.4061/2010/473137>
77. Córdova A, Henríquez P, Nuñez H, Rico-Rodríguez F, Guerrero C, Astudillo-Castro C, *et al.* Recent advances in the application of enzyme processing assisted by ultrasound in agri-foods: A review. *Catalysts*. 2022;12(1). <https://doi.org/10.3390/catal12010107>
78. Geciova J, Bury D, Jelen P. Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry – A review. *International Dairy Journal*. 2002;12(6):541–553. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00038-9)
79. Ajisaka K, Nishida H, Fujimoto H. Use of an activated carbon column for the synthesis of disaccharides by use of a reverse hydrolysis activity of β -galactosidase. *Biotechnology Letters*. 1987;9:387–392.
80. Kim Y-S, Park C-S, Oh D-K. Lactulose production from lactose and fructose by a thermostable β -galactosidase from *Sulfolobus solfataricus*. *Enzyme and Microbial Technology*. 2006;39(4):903–908. <https://doi.org/10.1016/j.enzmtec.2006.01.023>
81. Hashem AM, Ismail SAE, Helmy WA, El-Mohamady Y, Abou-Romia R. Factors affecting the production of lactulose by *Lactobacillus acidophilus* NRRL 4495 β -galactosidase and its biological activity. *Malaysian Journal of Microbiology*. 2013;9(1):1–6. <https://doi.org/10.21161/mjm.43612>
82. Wang H, Yan R, Hua X, Zhang W, Zhao W. An approach for lactulose production using the cotx-mediated spore-displayed β -galactosidase as a biocatalyst. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016;26(7):1267–1277. <https://doi.org/10.4014/jmb.1602.02036>
83. Letsididi R, Hassanin HAM, Koko MYF, Zhang T, Jiang B, Mu W. Lactulose production by a thermostable glycoside hydrolase from the hyperthermophilic archaeon *Caldicoccus marshallii* IC-167. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018;98(3):928–937. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8539>
84. Montanari G, Zambonelli C, Grazia L, Benevelli M, and Chiavari C. Release of β -galactosidase from *Lactobacilli*. *Food Technology and Biotechnology*. 2000;38(2):129–133.
85. Tang L, Li Z, Dong X, Yang R, Zhang J, Mao Z. Lactulose biosynthesis by β -galactosidase from a newly isolated *Arthrobacter* sp. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2011;38(3):471–476. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0897-0>
86. Lorenzen PChr, Breiter J, Clawin-Rädecker I, Dau A. A novel bi-enzymatic system for lactose conversion. *International Journal of Food Science and Technology*. 2013;48(7):1396–1403. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12101>
87. Song Y-S, Lee H-U, Park C, Kim S-W. Optimization of lactulose synthesis from whey lactose by immobilized β -galactosidase and glucose isomerase. *Carbohydrate Research*. 2013;369:1–5. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.01.002>
88. Sato H, Saburi W, Ojima T, Taguchi H, Mori H, Matsui H. Immobilization of a thermostable cellobiose 2-epimerase from *Rhodothermus marinus* JCM9785 and continuous production of epilactose. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2012;76(8):1584–1587. <https://doi.org/10.1271/bbb.120284>
89. Kim Y-S, Oh D-K. Lactulose production from lactose as a single substrate by a thermostable cellobiose 2-epimerase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Bioresource Technology*. 2012;104:668–672. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.016>
90. Wu L, Xu C, Li S, Liang J, Xu H, Xu Z. Efficient production of lactulose from whey powder by cellobiose 2-epimerase in an enzymatic membrane reactor. *Bioresource Technology*. 2017;233:305–312. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.089>

91. Wang M, Wang H, Feng Y, Xu Q, Admassu H, Yang R, et al. Preparation and characterization of sugar-assisted cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) of recombinant cellobiose 2-epimerase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* (CsCE). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2018;66(29):7712–7721. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02333>
92. Xiao Y, Chen Q, Shakhnovich EI, Zhang W, Mu W. Simulation-guided enzyme discovery: A new microbial source of cellobiose 2-epimerase. International Journal of Biological Macromolecules. 2019;139:1002–1008. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.075>
93. Botelho VA, Mateus M, Petrus JCC, de Pinho MN. Membrane bioreactor for simultaneous synthesis and fractionation of oligosaccharides. Membranes. 2022;12(2). <https://doi.org/10.3390/membranes12020171>
94. Maráz A, Kovács Z, Benjamins E, Pázmándi M. Recent developments in microbial production of high-purity galacto-oligosaccharides. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2022;38(6). <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03279-4>
95. Julio-Gonzalez LC, Hernandez-Hernandez O, Moreno FJ, Olano A, Corzo N. High-yield purification of commercial lactulose syrup. Separation and Purification Technology. 2019;224:475–480. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.05.053>
96. Guerrero C, Vera C, Illanes A. Selective bioconversion with yeast for the purification of raw lactulose and transgalactosylated oligosaccharides. International Dairy Journal. 2018;81:131–137. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.02.003>
97. Huang Z, Huang L, Xing G, Xu X, Tu C, Dong M. Effect of co-fermentation with lactic acid bacteria and *K. marxianus* on physicochemical and sensory properties of goat milk. Foods. 2020;9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030299>
98. Wilson L, Illanes A, Ottone C, Romero O. Co-immobilized carrier-free enzymes for lactose upgrading. Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry. 2021;33. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100553>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2417>
<https://elibrary.ru/DYTGLX>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Влияние микроволнового излучения на химический состав нута



В. Н. Храмова^{ID}, Д. И. Сурков^{*ID}, К. А. Лубчинский^{ID}

Волгоградский государственный технический университет^{ROR}, Волгоград, Россия

Поступила в редакцию: 04.05.2022
Принята после рецензирования: 14.11.2022
Принята к публикации: 06.12.2022

*Д. И. Сурков: surkov.dmitr@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0002-2946-5915>
В. Н. Храмова: <https://orcid.org/0000-0001-7630-7672>
К. А. Лубчинский: <https://orcid.org/0000-0002-4836-6058>

© В. Н. Храмова, Д. И. Сурков, К. А. Лубчинский, 2023



Аннотация.

Нут (*Cicer arietinum* L.) характеризуется высоким содержанием белка и сбалансированным аминокислотным составом. Однако наличие нежелательного бобового привкуса ограничивает его применение в качестве функционального пищевого ингредиента. Эту проблему помогает решить обработка нута микроволновым излучением. Цель работы – подбор параметров микроволнового излучения для получения образцов, лишенных бобового привкуса, и изучение их химического состава.

В качестве объекта исследования выступили семена нута сорта Волжанин. Опытные образцы семян обрабатывали в микроволновой печи (частота магнетрона 2450 МГц) при разной мощности и продолжительности излучения. Для определения и анализа массовой доли белка, аминокислотного состава и органолептической оценки образцов семян нута использовали стандартные методы.

Установлено, что в процессе микроволновой обработки консистенция нута рыхлеет, а бобовый привкус пропадает через 5–6 мин воздействия при мощности излучения 200 Вт или при режиме обработки 3 мин и 400 Вт. Увеличение продолжительности обработки влияет на появление сначала арахисового привкуса, а позже горького. При применении микроволнового излучения снижается массовая доля белка и количество незаменимых аминокислот в нуте. Замедлить этот процесс можно с помощью повышения мощности микроволнового излучения и сокращения времени обработки. Однако такая интенсификация негативно влияет на содержание аргинина, метионина и тирозина в белке нута. Полученные результаты могут стать основой для разработки способа подготовки нута для его применения в качестве функционального пищевого ингредиента в продуктах питания.

Ключевые слова. *Cicer arietinum* L., растительный белок, аминокислотный состав, микроволновая обработка, функциональные продукты

Для цитирования: Храмова В. Н., Сурков Д. И., Лубчинский К. А. Влияние микроволнового излучения на химический состав нута // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 123–130. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2417>

Effect of Microwave Radiation on the Chemical Composition of Chickpeas



Valentina N. Khramova^{ID}, Dmitry I. Surkov^{*ID}, Kirill A. Lubchinsky^{ID}

Volgograd State Technical University^{ROR}, Volgograd, Russia

Received: 04.05.2022

Revised: 14.11.2022

Accepted: 06.12.2022

*Dmitry I. Surkov: surkov.dmitr@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0002-2946-5915>

Valentina N. Khramova: <https://orcid.org/0000-0001-7630-7672>

Kirill A. Lubchinsky: <https://orcid.org/0000-0002-4836-6058>

© V.N. Khramova, D.I. Surkov, K.A. Lubchinsky, 2023



Abstract.

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is rich in protein and has a balanced amino acid profile. However, its characteristic bean flavor limits its use as a functional food ingredient. Microwave treatment may help to solve this problem. The research objective was to select the optimal parameters of microwave treatment to obtain chickpea samples with no bean flavor and to study their chemical composition.

The study featured chickpeas of the Volzhanin variety. The experimental samples were processed in a microwave oven with a magnetron frequency of 2450 MHz at different power and time values. The protein tests, the analysis of amino acid profile, and the sensory assessment involved standard research methods.

The microwave processing loosened the consistency of chickpeas and eliminated the bean flavor after 5–6 min at 200 W or 3 min at 400 W. A longer treatment time resulted in a peanut flavor followed by bitterness. The microwave treatment reduced the mass fraction of protein and the amount of essential amino acids. This process could be slowed down by increasing the power of microwave radiation and reducing the processing time. However, the intensification had a negative effect on the content of arginine, methionine, and tyrosine in chickpea protein.

The results obtained can make it possible to use chickpeas as a functional food ingredient

Keywords. *Cicer arietinum* L., vegetable protein, amino acid composition, microwave processing, functional products

For citation: Khramova VN, Surkov DI, Lubchinsky KA. Effect of Microwave Radiation on the Chemical Composition of Chickpeas. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):123–130. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2417>

Введение

В современном мире существует глобальная проблема дефицита пищевого белка. Его недостаток в рационе может привести к заболеваниям алиментарной этиологии и ухудшить качество жизни. На одного человека необходимо в среднем 70 г белка в сутки, но употребляется в пищу только 60 г. Кроме того, около половины населения планеты страдает от дефицита белка, общий недостаток которого в мире составляет 10–25 млн т, для России это значение составляет более 1 млн т [1]. Эта ситуация может стать хуже, т. к. население планеты интенсивно растет, а вместе с этим увеличивается потребность в белке [2].

Для решения этой проблемы предложены различные способы. Например, увеличение содержания белка в тканях растений и животных при помощи генетической инженерии и селекции, а

также создание функциональных продуктов питания с заданными свойствами. В последнем случае для их изготовления модифицируют продукты питания массового потребления, имеющие большую популярность. В процессе создания функциональных продуктов питания в их состав включают функциональные пищевые ингредиенты, содержащие большое количество белка [3, 4].

Поиск альтернативных источников белка ведется давно. Главными критериями являются низкая стоимость сырья, доступность и высокое содержание пищевого белка.

Одним из таких перспективных источников является нут (*Cicer arietinum* L.). Содержание растительного белка в нем варьируется от 18 до 32 % в зависимости от сорта. Аминокислотный состав нута сбалансирован и близок к аминокислотному составу белков мяса. В сырых семенах нута самое

высокое содержание витаминов (B_2 , B_5 , B_6) и минеральных веществ (Fe, Zn, Se) среди бобовых. Кроме того, нут содержит от 50 до 67 % углеводов, золы – от 2,8 до 4,0 % и липидов – от 4,9 до 8 %, представленных ненасыщенными и насыщенными жирными кислотами [5–8]. Однако семена нута обладают нежелательным бобовым привкусом, который ограничивает их использование в производстве продуктов питания, что делает решение этой проблемы актуальной.

Одним из возможных вариантов решения проблемы наличия бобового привкуса является обработка зерен нута микроволновым излучением, которую широко применяют в пищевой промышленности для сушки, консервирования, оттаивания, доведения до кулинарной готовности, пастеризации и стерилизации сырья [9, 10]. Интенсивность процессов зависит от наличия полярных молекул (например, воды в пищевых продуктах): чем их больше, тем эффективнее. В результате происходит поглощение микроволновой энергии и выделение тепла за счет дипольного вращения и трения [11]. Благодаря стерилизующим свойствам происходит повышение безопасности пищевого сырья, что связано с инактивацией бактериальных ферментов и разрушением структурных элементов микробной клетки под действием высоких температур [12]. По данным исследования, проведенного в 2019 г., обработка микроволновым излучением быстрее и эффективнее традиционных методов, а также позволяет равномерно прогревать продукт по всему его объему [13, 14].

Микроволновая обработка, как и тепловая, вызывает денатурацию белков, в результате чего происходит увеличение их усвояемости и изменение вторичных структур белков, что делает бобы более рыхлыми. Кроме того, в процессе микроволновой обработки протекает деградация витаминов, которая растет вместе с увеличением времени воздействия [15–17].

Цель исследования – изучение влияния микроволнового излучения на белки и аминокислоты нута, а также подбор мощности микроволнового излучения и его продолжительности для получения образцов с заданными органолептическими характеристиками.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования был выбран нут сорта Волжанин, выращенный в 2021 г. в Волгоградской области. Обработку семян нута микроволновым излучением проводили в условиях лаборатории кафедры технологии пищевых производств ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный технический университет» с помощью микроволновой печи (частота магнетрона 2450 МГц) при разных значениях продолжительности и мощности (табл. 1). Для проведения обработки опытные образцы помещали в полипропиленовый пластиковый контейнер без

Таблица 1. Параметры обработки семян нута микроволновым излучением

Table 1. Microwave treatment parameters for chickpea seeds

Номер образца	Время обработки, мин	Мощность микроволнового излучения, Вт
Контрольный	–	–
1	1	200
2	2	200
3	3	200
4	4	200
5	5	200
6	6	200
7	7	200
8	8	200
9	9	200
10	1	400
11	2	400
12	3	400

крышки (150×130×60 мм) объемом 1 л, на дне которого лежал пергамент. Контрольный образец нута дополнительной обработке не подвергали. Масса каждого образца составила 50 г.

После обработки микроволновым излучением ёмкость с образцом вынимали из микроволновой печи и давали остыть при комнатной температуре в течение 5 мин. Воздухообмен отсутствовал.

Определение массовой доли белка и аминокислотного состава провели в аккредитованной комплексной аналитической лаборатории ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции».

Аминокислотный состав продукта определили по методике измерения массовой доли аминокислот с использованием системы капиллярного электрофореза Капель-105М, суть которой заключается в переводе аминокислот в фенилтиокарбамильные производные при помощи фенилизотиоцианата и разделении их ионных форм в кварцевом капилляре под действием электрического поля. Регистрацию фенилтиокарбамильных производных производят при длине волны 254 нм в буферных растворах.

Для определения содержания белка в образцах нута использовали методику из ГОСТ 10846-91, которая основана на минерализации органического вещества серной кислотой в присутствии катализатора с образованием сульфата аммония, разрушении сульфата аммония щелочью с выделением аммиака и отгонке аммиака водяным паром в раствор серной или борной кислоты с последующим титрованием.

Определение аминокислотного сора (АС) и аминокислотного индекса (АИ) контрольного и

опытных образцов нута провели расчетным путем по формулам 1–4:

$$AI = \frac{\sum \text{НАК}}{\sum \text{ЧЗАК} + \sum \text{ЗАК}} \quad (1)$$

где $\sum \text{НАК}$ – сумма незаменимых аминокислот, г/100 г; $\sum \text{ЧЗАК} + \sum \text{ЗАК}$ – сумма частично заменимых и заменимых аминокислот, г/100 г.

Расчет содержания аминокислоты (А), г/100 г:

$$A_j = \sum \left(\frac{m_i}{100} \times AK_j \right) \quad (2)$$

где AK_j – содержание j -той аминокислоты в i -том компоненте, г; m_i – масса i -того компонента, г.

Для расчета аминокислотного сора необходимо знать массу аминокислоты (ak) в 100 г белка:

$$ak = \frac{AK}{B} \times 100 \quad (3)$$

где AK – масса аминокислоты в 100 г образца, г; B – количество белка в 100 г образца, г.

$$AC = \frac{ak}{M} \times 100 \quad (4)$$

где M – содержание аминокислоты в г на 100 г стандартного белка по справочной шкале аминокислот идеального белка ФАО/ВОЗ, г.

По данным ФАО/ВОЗ значение аминокислотного индекса должно стремиться к 0,56, что соответствует идеальному соотношению незаменимых аминокислот к заменимым. Аминокислоты, для которых значение аминокислотного сора меньше 100 %, являются лимитирующими. Это означает, что аминокислота с наименьшим скором не только не удовлетворяет физиологическую потребность в ней при употреблении продукта в пищу, но и выступает главным ограничивающим фактором, снижающим биологическую ценность.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования провели органолептическую оценку образцов нута (предварительно измельчены в муку в ступке). При увеличении продолжительности микроволновой обработки истирание нута в порошок происходит легче. Это связано с разрыхлением и денатурацией белков. Кроме того, продолжительность и интенсивность микроволнового излучения влияют на органолептические свойства. В сырых семенах нута преобладают нотки бобового привкуса, которые пропадают после 5–6 мин обработки при мощности излучения 200 Вт (опытные образцы № 5 и 6) или после 3 мин при мощности 400 Вт (опытный образец № 12). При продолжении воздействия микроволновым излучением постепенно возникает привкус и запах жареного арахиса. Однако обработка свыше 9 мин при мощности микроволн 200 Вт

вызывает почернение кожуры нута и появление слабого горького вкуса и подгоревшего запаха.

Нут, лишенный бобового привкуса и запаха, можно использовать в различных продуктах питания с целью обогащения растительным белком. Кроме того, нут с арахисовым привкусом может быть использован при производстве сыров, кондитерских изделий и мороженого.

В результате проведенного исследования определили массовую долю белка и рассчитали аминокислотный индекс и аминокислотный состав контрольного и опытных образцов (табл. 2).

Из результатов видно, что содержание белка сразу возрастает после начала микроволновой обработки. Это связано с протекающим процессом сушки продукта, что означает уменьшение количества свободной влаги и увеличение массовой доли других веществ. Затем этот процесс замедляется и над ним начинают преобладать процессы, связанные с распадом белка, а именно денатурация белков с их разрушением до пептидов и образование безазотистых низкомолекулярных органических соединений. Изменение массовой доли белка в начале обработки микроволновым излучением влияет на рассчитанные значения содержания незаменимых аминокислот, аминокислотного сора и аминокислотного индекса. В начале микроволновой обработки значения временно повышаются, но уменьшаются при увеличении длительности воздействия.

Увеличение массовой доли белка замечено при микроволновой обработке мощностью 200 Вт и небольшой продолжительности. По сравнению с контрольным образцом содержание белка достигает максимума через 2–3 мин и возрастает на 4,2 %. Опытные образцы, обрабатываемые при большей мощности или длительности, испытывают более жесткие условия, что ускоряет денатурацию белков и уменьшает их общее количество.

Если сравнивать близкие по органолептическим свойствам опытные образцы, то можно заметить, что опытный образец № 12 (400 Вт, 3 мин) имеет массовую долю белка 18,28 %, которая меньше, чем у опытного образца № 5 (200 Вт, 5 мин) – 18,84 %. Это свидетельствует о том, что микроволны большей мощности сильнее оказывают негативное влияние на белки нута.

Значения аминокислотного индекса среди опытных образцов выросли по сравнению с контрольным образцом. Это означает, что при микроволновой обработке заменимые аминокислоты деградируют больше, чем незаменимые.

Тенденция уменьшения количества аминокислот ожидаема из-за изменений количества белка в нуте под воздействием микроволнового излучения. Аминокислотный состав претерпевает изменения, связанные с декарбоксилированием аминокислот и их различной устойчивостью к нагреванию.

Таблица 2. Массовая доля белка и аминокислотный состав исследуемых образцов нута

Table 2. Protein mass fraction and amino acid profile of chickpeas

Показатель	Номер образца												
	Контроль	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Массовая доля белка, %	18,75 ± 0,52	18,84 ± 0,48	19,55 ± 0,59	19,44 ± 0,55	18,51 ± 0,54	18,84 ± 0,51	18,71 ± 0,47	18,81 ± 0,51	18,00 ± 0,48	18,67 ± 0,53	18,42 ± 0,50	18,81 ± 0,46	18,28 ± 0,49
Аминокислотный индекс	1,080	1,104	1,076	1,059	1,062	1,119	1,252	1,121	1,097	1,088	1,160	1,161	1,179
Содержание незаменимых аминокислот, мг/100 г													
Валин	493	612	532	479	424	403	604	411	433	381	691	611	512
Лейцин и изолейцин	1614	1888	1826	1600	1367	1324	1647	1399	1380	1467	1953	1764	1472
Лизин	936	1278	1092	986	860	801	961	832	783	830	1127	1004	838
Метионин	110	149	133	123	118	91	108	96	138	127	146	139	78
Треонин	423	546	514	439	394	341	395	387	408	393	599	486	406
Триптофан	159	171	197	173	197	147	157	199	193	158	130	186	182
Фенилаланин	948	1143	983	854	743	760	875	756	754	791	1032	962	793
Итого	4683	5787	5277	4654	4103	3867	4747	4080	4089	4147	5678	5152	4281
Содержание частично заменимых аминокислот, мг/100 г													
Аргинин	971	1188	1146	1021	948	832	832	896	866	782	899	807	667
Гистидин	280	427	353	401	343	289	313	227	238	248	456	366	319
Итого	1251	1615	1499	1422	1291	1121	1145	1123	1104	1030	1355	1173	986
Содержание заменимых аминокислот, мг/100 г													
Аланин	671	767	748	637	545	490	579	516	583	584	816	741	609
Глицин	595	772	650	558	479	456	545	482	473	551	745	626	505
Пролин	691	796	719	617	547	530	567	566	554	644	804	751	596
Серин	714	761	822	735	635	501	577	564	666	615	846	772	635
Тирозин	416	530	467	425	366	357	378	388	348	388	325	374	299
Итого	3087	3626	3406	2972	2572	2334	2646	2516	2624	2782	3536	3264	2644

Содержание таких аминокислот, как аргинин, метионин и тирозин, сильно уменьшается при повышении мощности микроволнового излучения. Содержание остальных аминокислот снижается плавно и синхронно. На рисунке 1 в качестве примера приведены графики изменения содержания аргинина и глицина в исследуемых образцах нута.

Сравнивая режимы обработки при одинаковой продолжительности, но разной мощности, можно обнаружить, что опытный образец № 1 имеет на 32 % больше аргинина, чем опытный образец № 10. Увеличение времени воздействия сохраняет эту тенденцию для аргинина: после 2 мин обработки – 42 %, после 3 мин – 53 %. Для тирозина эти значения составляют 63, 42 и 25 % соответственно. Остальные аминокислоты не претерпевают такие резкие изменения при увеличении мощности.

Снижение количества глицина в нуте после микроволновой обработки свидетельствует о разрушении ингибиторов протеиназ, которые являются антипитательными веществами, уменьшающим биодоступность белка для организма человека. Снижение антинутриентов в пищевых продуктах – одна из важнейших технологических задач пищевой промышленности, т. к. это является главным

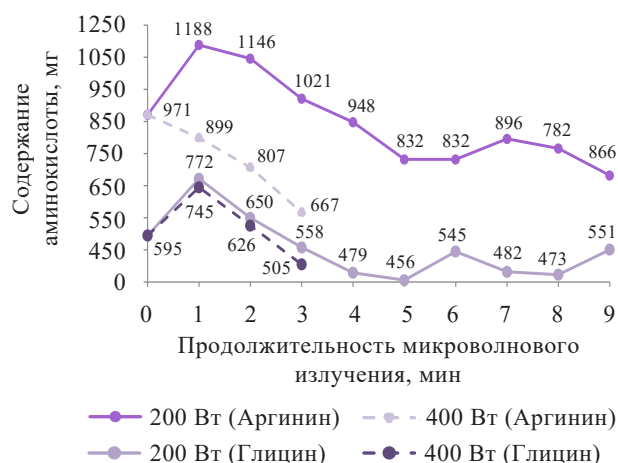


Рисунок 1. Содержание аргинина и глицина

Figure 1. Arginine and glycine content in chickpeas

тормозящим фактором применения бобовых в пищевых продуктах. Кроме микроволновой обработки для снижения антипитательных веществ применяют различные физические и химические способы: вымачивание с различными химическими соединениями, механическое измельчение, нагрев

Таблица 3. Содержание незаменимых аминокислот, г/100 г

Table 3. Essential amino acids, g/100 g

Показатель	Номер образца												
	Контроль	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Валин	2,63	3,25	2,72	2,46	2,29	2,14	3,23	2,19	2,41	2,04	3,75	3,25	2,80
Лейцин и изолейцин	8,61	10,02	9,34	8,23	7,39	7,03	8,80	7,44	7,67	7,86	10,60	9,38	8,05
Лизин	4,99	6,78	5,59	5,07	4,65	4,25	5,14	4,42	4,35	4,45	6,12	5,34	4,58
Метионин	0,59	0,79	0,68	0,63	0,64	0,48	0,58	0,51	0,77	0,68	0,79	0,74	0,43
Треонин	2,26	2,90	2,63	2,26	2,13	1,81	2,11	2,06	2,27	2,10	3,25	2,58	2,22
Триптофан	0,85	0,91	1,01	0,89	1,06	0,78	0,84	1,06	1,07	0,85	0,71	0,99	1,00
Фенилаланин	5,06	6,07	5,03	4,39	4,01	4,03	4,68	4,02	4,19	4,24	5,60	5,11	4,34

Таблица 4. Аминокислотный скор, %

Table 4. Amino acid score, %

Показатель	Номер образца												
	Контроль	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Валин	52,6	65,0	54,4	49,3	45,8	42,8	64,6	43,7	48,1	40,8	75,0	65,0	56,0
Лейцин и изолейцин	78,3	91,1	84,9	74,8	67,1	63,9	80,0	67,6	69,7	71,4	96,4	85,3	73,2
Лизин	90,8	123,3	101,6	92,2	84,5	77,3	93,4	80,4	79,1	80,8	111,2	97,0	83,3
Метионин	16,8	22,6	19,4	18,1	18,2	13,8	16,5	14,6	21,9	19,4	22,6	21,1	12,2
Треонин	56,4	72,5	65,7	56,5	53,2	45,2	52,8	51,4	56,7	52,6	81,3	64,6	55,5
Триптофан	84,8	90,8	100,8	89,0	106,4	78,0	83,9	105,8	107,2	84,6	70,6	98,9	99,6
Фенилаланин	84,3	101,1	83,8	73,2	66,9	67,2	77,9	67,0	69,8	70,6	93,4	85,2	72,3

инфракрасным излучением, кипячение и обработка паром [8, 18, 19]. Удаление нежелательных веществ связано с их разрушением и инактивацией [20, 21].

Так как по результатам органолептической оценки опытные образцы № 5 и 12 позволяют достичь цели исследования, то необходимо сравнить их с контрольным образцом и между собой. Это необходимо для определения отличительных особенностей, влияющих на аминокислотный состав и исчезновение в семенах нута бобового привкуса.

При сравнении контроля и опытного образца № 5 (5 мин, 200 Вт) можно обнаружить, что содержание таких аминокислот, как триптофан падает на 7,5 %, тирозин – на 14,2 %, аргинин – на 14,3 %, лизин – на 14,4 %, метионин – на 17,3 %, лейцин с изолейцином – на 18 %, валин – на 18,3 %, треонин – на 19,4 %, фенилаланин – на 19,8 %, пролин – на 23,3 %, глицин – на 23,4 %, аланин – на 27 % и серин – на 29,8 %. В опытном образце № 12 (400 Вт, 3 мин) наибольшие потери претерпевают аргинин (31,3 %), метионин (29,1 %) и тирозин (28,1 %). Также падает содержание других аминокислот: фенилаланина на 16,4 %, глицина на 15,1 %, пролина на 13,7 %, серина на 11,1 %, лизина на 10,5 %, аланина на 9,2 %, лейцина с изолейцином на 8,8 % и треонина на 4 %.

За счет увеличения мощности микроволновой обработки и сокращения ее продолжительности можно

снизить потери большинства аминокислот. Однако содержание аргинина, тирозина и метионина в семенах нута падает в два раза сильнее, что негативно влияет на сбалансированность аминокислотного состава семян и их биологическую ценность.

Используя общепринятые значения содержания аминокислот в эталонном белке (ФАО/ВОЗ), для каждого образца по формулам 2–4 рассчитали содержание незаменимых аминокислот и аминокислотный скор (табл. 3 и 4). Расчет аминокислотного сора для валина в контрольном образце:

$$AK = \frac{0,493}{18,75} \times 100 = 2,63 \text{ г}$$

$$AC = \frac{2,63}{5} \times 100 = 52,6 \% \quad (5)$$

Из результатов расчета видно, что контрольный образец имеет много лимитирующих аминокислот, главной из которых является метионин – 16,8 %. Длительное употребление такого нута в пищу может привести к проблемам с пластическими и регенеративными процессами, ответственными за образование новых клеток и тканей. Поэтому при производстве продуктов питания с использованием нута это необходимо учитывать, а также использовать ингредиенты богатые метионином [21].

Микроволновая обработка пагубно влияет на аминокислоты продукта. Чем выше мощность и больше время обработки, тем сильнее падает значение аминокислотного сора.

Если сравнивать опытные образцы № 5 и 12, то можно заметить, что в последнем аминокислотный сора выше (за исключением метионина). Это свидетельствует о возможности достижения тех же органолептических свойств при уменьшении временных затрат.

Выводы

Нут – перспективный источник растительного белка, который можно использовать при производстве продуктов питания. Однако наличие бобового привкуса ограничивает его использование. Обработка микроволновым излучением позволяет не только достигнуть желаемых органолептических характеристик, но и повысить усвояемость белков. Чтобы убрать бобовый привкус достаточно обрабатывать нут микроволнами в течение 5–6 мин при мощности излучения 200 Вт. В качестве другого режима обработки можно выбрать 3 мин при мощности 400 Вт. Если нужен привкус и запах, напоминающий арахисовый, то необходимо использовать режим мощностью 200 Вт в течение 8–9 мин.

Использование обработанного микроволнами нута может найти применение во многих продуктах питания, в которых бобовый привкус нежелателен. Нут с арахисовым привкусом может быть востребован в производстве сыров, кондитерских изделий и мороженого.

Однако при разработке продуктов питания стоит учитывать, что микроволновое излучение приводит к снижению массовой доли белка в нуте и ухудшению аминокислотного сора, а также к падению содержания аминокислот. В течение 5 мин при мощности 200 Вт оно уменьшается для триптофана на 7,5 %, тирозина – на 14,2 %, аргинина – на 14,3 %, лизина – на 14,4 %, метионина – на 17,3 %, лейцина с изолейцином – на 18 %, валина – на 18,3 %, треонина – на 19,4 %, фенилаланина – на 19,8 %, пролина – на 23,3 %, глицина – на 23,4 %, аланина – на 27 % и серина – на 29,8 %. В опытном образце № 12 (400 Вт, 3 мин) наибольшие потери претерпевают аргинин (31,3 %), метионин (29,1 %) и тирозин (28,1 %). Кроме того, падает содержание других аминокислот: фенилаланина на 16,4 %, глицина на 15,1 %, пролина на 13,7 %, серина на 11,1 %, лизина на 10,5 %, аланина на 9,2 %, лейцина с изолейцином на 8,8 %, треонина на 4 %.

Замедлить уменьшение содержания аминокислот можно с помощью повышения мощности микроволнового излучения и сокращения времени обработки. К сожалению, такая интенсификация негативно влияет на содержание аргинина, метионина и тирозина в белках нута.

Критерии авторства

В. Н. Храмова консультировала и руководила процессом сбора, анализа данных и написания научной статьи. Д. И. Сурков и К. А. Лубчинский занимались сбором, анализом и интерпретацией полученных данных, составляли и оформляли статью.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.N. Khramova supervised the research, collected the data, provided consultation, and wrote the article. D.I. Surkov and K.A. Lubchinsky collected, processed, and analyzed the data, as well as drafted and proofread the text.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Oryeshkin MV. The problem of protein deficiency – approaches to. Bulletin of the Luhansk National University. 2017;4(1):19–22. (In Russ.). [Орешкин М. В. Проблема дефицита белка: подходы к решению // Вестник Луганского национального университета имени Тараса Шевченко. 2017. Т. 4. № 1. С. 19–22.].
2. Langyan S, Yadava P, Khan FN, Dar ZA, Singh R, Kumar A. Sustaining protein nutrition through plant-based foods. Frontiers in Nutrition. 2022;8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.772573>
3. Ahmed MH, Vasas D, Hassan A, Molnár J. The impact of functional food in prevention of malnutrition. PharmaNutrition. 2022;19. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2022.100288>
4. 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>.
5. Chandrasekaran S, Luna-Vital D, de Mejia EG. Identification and comparison of peptides from chickpea protein hydrolysates using either bromelain or gastrointestinal enzymes and their relationship with markers of type 2 diabetes and bitterness. Nutrients. 2020;12(12). <https://doi.org/10.3390/nu12123843>

6. Khramova VN, Gorlov IF, Zhivotova TYu, Martynov AA, Martynova SV. The possibility of using the products of processing of chickpea raw material in sausage production. *Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education*. 2017;48(4):176–183. (In Russ.). [Возможности использования продуктов переработки нутового сырья в колбасном производстве / В. Н. Храмова [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2017. Т. 48. № 4. С. 176–183.].
7. Madurapperumage A, Tang L, Thavarajah P, Bridges W, Shipe E, Vandemark G, *et al.* Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as a source of essential fatty acids – A biofortification approach. *Frontiers in Plant Science*. 2021;12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.734980>
8. 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>
9. Muñoz-Almagro N, Morales-Soriano E, Villamiel M, Condezo-Hoyos L. Hybrid high-intensity ultrasound and microwave treatment: A review on its effect on quality and bioactivity of foods. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2021;80. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105835>
10. Liu J, Zhang J, Wang W, Hou H. Effects of microwave treatment on the stability and antioxidant capacity of a functional wheat bran. *Food Science and Nutrition*. 2021;9(5):2713–2721. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2230>
11. Viji P, Rao BM, Debbarma J, Ravishankar CN. Research developments in the applications of microwave energy in fish processing: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2022;123:222–232. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.010>
12. Cao J-X, Wang F, Li X, Sun Y-Y, Wang Y, Ou C-R, *et al.* The influence of microwave sterilization on the ultrastructure, permeability of cell membrane and expression of proteins of *Bacillus cereus*. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01870>
13. Korolev AA, Tyurina SB, Trishkanova MV. The application of microwave radiation for sterilization of plant raw materials. *Processes and Food Production Equipment*. 2019;3(3):81–91. (In Russ.). <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2019-12-3-81-91>
14. Boukid F, Folloni S, Ranieri R, Vittadini E. A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications. *Trends in Food Science and Technology*. 2018;78:120–133. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.001>
15. Hu Q, He Y, Wang F, Wu J, Ci Z, Chen L, *et al.* Microwave technology: A novel approach to the transformation of natural metabolites. *Chinese Medicine*. 2021;16(1). <https://doi.org/10.1186/s13020-021-00500-8>
16. Jiang H, Liu Z, Wang S. Microwave processing: Effects and impacts on food components. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2018;58(14):2476–2489. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1319322>
17. Khan SH, Butt MS, Sharif MK, Sameen A, Mumtaz S, Sultan MT. Functional properties of protein isolates extracted from stabilized rice bran by microwave, dry heat, and parboiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(6):2416–2420. <https://doi.org/10.1021/jf104177x>
18. Gorlov IF, Semenova IA, Surkova SA, Barmina TN, Knyazhechenko OA, Mosolov AA. Method of inactivation of anti-nutrients in legumes intended for socially-oriented nutrition. *Agrarian-and-Food Innovations*. 2019;8(4):74–81. (In Russ.). <https://doi.org/10.31208/2618-7353-2019-8-74-81>
19. Gao Y, Xia H, Sulaeman AP, de Melo EM, Dugmore TIJ, Matharu AS. Defibrillated celluloses via dual twin-screw extrusion and microwave hydrothermal treatment of spent pea biomass. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 2019;7(13):11861–11871. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b02440>
20. Sá AGA, Laurindo JB, Moreno YMF, Carciofi BAM. Influence of emerging technologies on the utilization of plant proteins. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.809058>
21. López-Moreno M, Garcés-Rimón M, Miguel M. Antinutrients: Lectins, goitrogens, phytates and oxalates, friends or foe? *Journal of Functional Foods*. 2022;89. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104938>
22. Lysikov YuA. Amino acids in human nutrition. *Experimental and Clinical Gastroenterology Journal*. 2012;(2):88–105. (In Russ.).

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2420>
<https://elibrary.ru/FOEDXY>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Химический состав и микробиологические показатели квашеной капусты, приготовленной из разных гибридов



Е. В. Янченко^{1,*}, Г. С. Волкова^{2,**},
Е. В. Куксова², И. И. Вирченко¹, А. В. Янченко¹,
Е. М. Серба², М. И. Иванова¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства, Верей, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии , Москва, Россия

Поступила в редакцию: 18.04.2022

Принята после рецензирования: 20.06.2022

Принята к публикации: 05.07.2022

*Е. В. Янченко: elena_0881@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-3165-7238>

**Г. С. Волкова: galina.volkova@bk.ru,

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

Е. В. Куксова: <https://orcid.org/0000-0001-6497-6828>

И. И. Вирченко: <https://orcid.org/0000-0002-2435-0377>

А. В. Янченко: <https://orcid.org/0000-0002-1031-9459>

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

М. И. Иванова: <https://orcid.org/0000-0001-7326-2157>

© Е. В. Янченко, Г. С. Волкова, Е. В. Куксова,
И. И. Вирченко, А. В. Янченко, Е. М. Серба, М. И. Иванова, 2023



Аннотация.

Ферментированные продукты отличаются увеличенным сроком хранения и повышенной питательной ценностью. Для получения квашеной продукции высокого качества, в том числе капусты, определяющую роль играет исходное сырье. Однако не каждый сорт капусты пригоден для переработки. Цель данной работы – охарактеризовать пригодность современных гибридов капусты белокочанной к естественной ферментации по микробиологическим показателям и нативному содержанию сахаров после 4-х месячного хранения кочанов.

Объектами исследования являлись кочаны 12 гибридов капусты белокочанной отечественной селекции и образцы квашеной продукции из них. Опытные партии кочанов хранили 4 месяца при температуре –1–0 °С в стационарном хранилище. Ферментацию капусты проводили при температуре около 21 °С. Успешное брожение определяли по конечному рН ниже 3,6. Содержание сахаров и титруемую кислотность определяли стандартными методами. Для установления количества микроорганизмов применяли метод предельных разведений. Микробиологический посев осуществляли по стандартной методике.

Наибольшее содержание суммы сахаров до ферментации отмечено у очень позднеспелых гибридов Престиж F₁ (5,92 %), Герцогиня F₁ (5,82 %) и Идиллия F₁ (5,28 %), а также у позднеспелого Атлант F₁ (5,49 %). Больше всего сахаров осталось в квашеной капусте у гибридов Престиж F₁ (4,78 %), Континент F₁ (4,30 %) и Герцогиня F₁ (4,07 %). Массовая доля титруемых кислот в расчете на молочную кислоту в среднем по всем исследуемым образцам составила 1,04 %. Выявили различия в химическом составе квашеной капусты в зависимости от гибрида и количества микроорганизмов, присутствующих при брожении. В процессе квашения достигнут высокий уровень содержания молочнокислых бактерий – до 8,17×10⁷ КОЕ/см³ (для гибрида Северянка F₁). Микробиологический анализ образцов выявил стабильность в отношении нежелательной микрофлоры квашеной продукции – дрожжей и плесеней.

Исследования показали, что все испытанные отечественные гибриды капусты белокочанной пригодны для квашения даже после 4-х месяцев хранения. Для их ферментации и получения продукта с выраженными традиционными органолептическими свойствами достаточно собственной молочнокислой микрофлоры.

Ключевые слова. Капуста белокочанная, качество, ферментация, сахара, молочнокислые бактерии, микробиологические показатели, пищевая ценность

Финансирование: Работа выполнена на базе Всероссийского научно-исследовательского института овощеводства – филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО) в рамках государственного задания по НИР FNRN-2019-0069 «Изучить эффективность действия минеральной и органической систем удобрения на урожайность, качество и сохраняемость различных сортов и гибридов нового поколения капусты белокочанной и цветной, моркови и свеклы столовой на аллювиальной луговой почве Нечерноземной зоны».

Для цитирования: Химический состав и микробиологические показатели квашеной капусты, приготовленной из разных гибридов / Е. В. Янченко [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 131–139. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2420>

Chemical Composition and Sensory Profile of Sauerkraut from Different Cabbage Hybrids



Elena V. Yanchenko^{1,*}, Galina S. Volkova^{2,**},
 Elena V. Kuksova², Ivan I. Virchenko¹,
 Aleksey V. Yanchenko¹, Elena M. Serba², Maria I. Ivanova¹

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Vegetable Growing, Vereya, Russia

² All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology , Moscow, Russia

Received: 18.04.2022

Revised: 20.06.2022

Accepted: 05.07.2022

*Elena V. Yanchenko: elena_0881@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-3165-7238>

**Galina S. Volkova: galina.volkova@bk.ru,

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

Elena V. Kuksova: <https://orcid.org/0000-0001-6497-6828>

Ivan I. Virchenko: <https://orcid.org/0000-0002-2435-0377>

Aleksey V. Yanchenko: <https://orcid.org/0000-0002-1031-9459>

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

Maria I. Ivanova: <https://orcid.org/0000-0001-7326-2157>

© E.V. Yanchenko, G.S. Volkova, E.V. Kuksova,
 I.I. Virchenko, A.V. Yanchenko, E.M. Serba, M.I. Ivanova, 2023



Abstract.

Fermented foods have a longer shelf life and higher nutritional value. Sauerkraut products depend on the quality of the raw material. Not every cabbage variety is suitable for processing. The present research objective was to test several cabbage hybrids for natural fermentation, microbiological parameters, and native sugar content after four months of storage.

The study featured twelve new-generation white cabbage hybrids of Russian selection and sauerkraut foods. The experimental batches were stored for four months at $-1-0^{\circ}\text{C}$. Fermentation occurred at 21°C and final $\text{pH} \leq 3.6$. The sugar content and titratable acidity were measured by standard methods. The method of limiting dilutions was applied to determine the microbial count. The microbiological seeding process followed standard procedures.

The highest content of total sugars before fermentation belonged to the late-ripening hybrids Prestizh F_1 (5.92%), Gertsoginya F_1 (5.82%), and Idillia F_1 (5.28%), as well as to the late-ripening Atlant F_1 (5.49%). The greatest sugar content was registered in Prestizh F_1 (4.78%), Kontinent F_1 (4.30%), and Gertsoginya F_1 (4.07%). The mass fraction of titratable acids in terms of lactic acid averaged 1.04% for all the samples. The difference in the chemical composition depended on the hybrid and microbial count during fermentation. The lactic acid bacteria content was as high as 8.17×10^7 CFU/cm³ in Severyanka F_1 . All the samples were resistant to undesirable microflora, i.e., yeasts and molds.

All the cabbage hybrids were suitable for fermentation even after four months of storage. Their own lactic microflora was sufficient for fermentation and traditional sensory properties.

Keywords. White cabbage, quality, fermentation, sugars, lactic acid bacteria, microbiological parameters, nutritional value

Funding. The research was performed on the premises of the All-Russian Scientific Research Institute of Vegetable Growing, branch of the Federal Scientific Vegetable Center, as part of research no. FNRN-2019-0069 “Effect of mineral and organic fertilizers on the yield, quality, and storage of new-generation varieties and hybrids of white cabbage, cauliflower, carrot, and beet grown in alluvial meadow non-chernozem soil”.

For citation: Yanchenko EV, Volkova GS, Kuksova EV, Virchenko II, Yanchenko AV, Serba EM, et al. Chemical Composition and Sensory Profile of Sauerkraut from Different Cabbage Hybrids. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):131–139. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2420>

Введение

Капуста белокочанная (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) используется как сырье для перерабатывающей промышленности, а также в традиционной медицине и просто в пищу. Она является

главным компонентом борщевой группы овощей в пищевом рационе россиян. Высокопродуктивные гибриды капусты белокочанной могут реализовать свой генетический потенциал по продуктивности, качеству и пригодности к переработке только при

оптимальном уровне минерального питания и правильной технологии возделывания [1–3]. Для квашения используют кочаны среднеспелых сортов и гибридов, которые имеют более сочную консистенцию и больше выделяют сок, что позволяет получить ферментированную продукцию высокого качества. В овощеводческих хозяйствах РФ 60–80 % площадей капусты белокочанной занято позднеспелыми лежкими гибридами, выращивание которых экономически выгодно. В осенний период после сбора урожая заквашиваются большие объемы капусты белокочанной. Однако не всегда целесообразно реализовывать или перерабатывать овощную продукцию в осенний период на пике предложений, т. к. из-за постоянно меняющейся экономической ситуации на рынке может измениться и целевое предназначение овощной продукции. В результате возросшего спроса на ферментированные продукты в январе – феврале может возникнуть необходимость в дополнительных для рынка объемах квашенной продукции. С юга нашей страны в этот период капуста белокочанная еще не поступает, скороспелые сорта зачастую не пригодны для квашения. Для того чтобы люди в полной мере и круглогодично могли употреблять в пищу квашенную капусту, обеспечивающую здоровье нации и улучшающую работу всего организма человека, необходимо обеспечить пищевую промышленность качественным овощным сырьем, пригодным для этих целей. Поэтому актуальной является химико-технологическая и микробиологическая оценка новых гибридов капусты белокочанной на пригодность к квашению после 4-х месяцев хранения.

Производство и характеристики квашеной капусты зависят от резидентного микробного сообщества и условий ферментации. Хотя микробный состав квашеной капусты может варьироваться на начальных этапах ферментации, соответствующие условия ферментации, такие как температура и относительная концентрация ингредиентов, гарантируют, что молочнокислые бактерии являются доминирующими микроорганизмами в конечном ферментированном продукте. Они производят органические кислоты, бактериоцины, витамины и вкусовые соединения, ответственные за характерные органолептические качества ферментированных пищевых продуктов, включая увеличенный срок хранения, вкус и питательную ценность [4, 5]. Кроме того, некоторые молочнокислые бактерии действуют как пробиотики, которые способствуют здоровью человека и стабильности микробиома [6–8].

pH является ключевым фактором, влияющим на изменение структуры микробного сообщества во время ферментации квашеной капусты, который используется для оценки зрелости ферментированной овощной продукции [9, 10]. Естественное брожение начинается с начального размножения бактерий

Leuconostoc mesenteroides, которая быстро производит углекислый газ и кислоту. Это снижает pH среды, подавляя рост нежелательных микроорганизмов, которые могут вызвать порчу продукта, и сохраняя цвет капусты. Действие *L. mesenteroides* изменяет среду ферментации таким образом, что это способствует преобладанию других молочнокислых бактерий, таких как *Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus plantarum*. В традиционном производстве квашеной капусты этот процесс протекает при температуре 18 °C в течение одного месяца. Комбинация метаболитов, которые производят эти организмы, приводит к благоприятным сенсорным качествам конечного продукта: уникальным вкусом, ароматам и текстурам, связанным с ферментированными пищевыми продуктами. Температура ферментации играет важную роль в отношении цвета, вкуса и сохранности [11]. М. А. Zabat и др. в своем исследовании определили, что род *Weissella* важен для ранних ферментативных процессов [12].

Молочнокислые бактерии как основное бактериальное сообщество обладают ферментами, способными гидролизовать многие компоненты пищи, включая углеводы, белки и липиды, в предшественники аромата и превращать их в различные ароматические соединения [13]. Квашеная капуста имеет такие преимущества для здоровья человека, как улучшение пищеварения и функции кишечника и снижение уровня холестерина [14].

Цель настоящего исследования – охарактеризовать химический состав квашеной капусты, полученной из 12 гибридов четырех сроков спелости капусты белокочанной двухнедельным брожением. Квашение проводили после 4-х месячного хранения кочанов.

Объекты и методы исследования

Полевые и часть лабораторных исследований проводили во ВНИИО – филиале ФГБНУ ФНЦО (N 55°36' E 38°1') в 2021–2022 гг. Микробиологические исследования проводили в ВНИИПБТ – филиале ФГБНУ «ФИЦ питания и биотехнологии». Объектом исследования являлась квашеная продукция 12 гибридов капусты белокочанной отечественной селекции: Атлант F₁ (ВНИИО), Барыня F₁, Добродей F₁, Киластоп F₁, Орион F₁ и Престиж F₁ (ООО «Селекционная станция имени Н. Н. Тимофеева»), Герцогиня F₁, Континент F₁, Орфей F₁ и Яхромский F₁ (ООО Агрофирма «Поиск»), Идиллия F₁ (ООО Агрофирма «Поиск», ВНИИО) и Северянка F₁ (ФГБНУ ФНЦО). Все гибриды выращивали по общепринятой технологии в условиях Нечерноземной зоны РФ. Опытные партии кочанов хранили 4 месяца при температуре –1–0 °C в стационарном хранилище. Квашение капусты осуществляли по рецептуре и технологии в соответствии с технологической инструкцией.

Расход компонентов (кг): капуста белокочанная – 3,0, морковь – 0,15, соль – 0,05. Ферментацию проводили при температуре около 21 °С. Успешное брожение определяли по конечному рН ниже 3,6.

Содержание сахаров в квашеной продукции определяли по ГОСТ 8756.13-87. Изучение морфологических, физиологических, биохимических и технологических свойств исследуемых штаммов проводили стандартными методами. Титруемую кислотность определяли по ГОСТ ISO 750-2013, органолептические свойства – по ГОСТ 8756.1-2017, количество микроорганизмов в посевном материале и культуральной жидкости – методом предельных разведений, микроскопирование препаратов микроскопом Nikon ECLIPSE Ci-S/Ci-L с объективом 40× – по ГОСТ ISO 7218-2015. Засев – по 1 см³ рассола в каждую чашку Петри – заливали расплавленной средой. Чашки держали в термостате при 24–25 °С 4 суток. Подсчет выросших колоний проводили на автоматическом счетчике колоний Scan 500 Software в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

Статистическую обработку проводили методом дисперсионного анализа с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение

Ферментированные продукты отличаются увеличенным сроком хранения и улучшенными органолептическими свойствами. В результате ферментации микроорганизмами продукты приобретают особую микробиоту, вкусовые и питательные свойства. Самый распространенный продукт из ферментированной капусты – это квашеная капуста. На начальной стадии ферментации продолжительностью 2–3 суток протекают интенсивные процессы дыхания тканей растений, приводящие к закислению среды, быстрому выделению углекислого газа, вызывающего потери, особенно летучих продуктов распада синигрина и глюконапина. Потери этих соединений зависят от физико-химических параметров и процесса ферментации. При правильном протекании естественного брожения через 4–5 суток рН постепенно снижается до 3,4–3,7. Во время самопроизвольной ферментации рост соответствующей бактериальной флоры происходит в конце начальной стадии, когда сок, выделяемый тканями растений, богат компонентами, в том числе сахарами, необходимыми для развития молочнокислых бактерий. Самопроизвольное брожение заканчивается через 7–10 суток [15]. Спирты, тиоцианаты, нитриты и сульфиды являются характерными летучими компонентами квашеной капусты. Среди анализируемых биогенных аминов преобладали тирамин и путресцин. Выявлена положительная корреляция максимального уровня дрожжей при брожении с количеством уксусной

кислоты и биогенных аминов [16]. В результате ферментации в процессе брожения содержащиеся в овощах сахара превращаются в молочную и уксусную кислоты, этанол, СО₂, маннит и другие соединения [17].

Установлено, что не каждый сорт капусты пригоден для переработки, даже если он обладает ценными агробиологическими признаками и хорошими вкусовыми свойствами [1]. Кочаны капусты белокочанной должны отвечать следующим хозяйственным признакам: по форме и размеру кочана – однородные; по форме – плоскоокруглые или округлые, массой до 4 кг, с 4–6 кроющими листьями, с неглубоким залеганием кочерыжки; по консистенции – плотные (0,65 г/см³), листья без грубого жилкования; по цвету – внутренние листья белого цвета без фиолетовой пигментации и точечного некроза. Для переработки используют позднеспелые сорта капусты.

Для получения квашеной капусты высокого качества важную роль играет качество исходного сырья. Сравнение результатов биохимических анализов свежих и подвергшихся ферментации кочанов (5 суток) показало, что при ферментации происходят интенсивные биохимические реакции распада сахаров (табл. 1).

В свежих кочанах повышенное содержание суммы сахаров отмечено у очень позднеспелых гибридов Престиж F₁ (5,92 %), Герцогиня F₁ (5,82 %) и Идиллия F₁ (5,2 %), а также у позднеспелого Атлант F₁ (5,49 %). У среднеспелого гибрида Яхромский F₁ и среднепозднего Северянка F₁ к концу 4-х месяцев хранения значение суммы сахаров составило 4,38 и 4,30 % соответственно. Высокая концентрация моносахаров установлена у гибридов Герцогиня F₁ (4,42 %), Идиллия F₁ (4,32 %) и Атлант F₁ (4,22 %). Дисахаров больше всего накапливали Престиж F₁ (1,95 %), Герцогиня F₁ (1,40 %) и Атлант F₁ (1,27 %).

Больше всего суммы сахаров осталось в квашеной капусте у гибридов Престиж F₁ (4,78 %), Континент F₁ (4,30 %) и Герцогиня F₁ (4,07 %). Высокая концентрация моносахаров отмечена у гибридов Герцогиня F₁ (3,12 %) и Престиж F₁ (3,63 %). Дисахаров больше всего накапливали Континент F₁ (1,37 %), Престиж F₁ (1,15 %) и Добродей F₁ (1,12 %). Значительное снижение суммы сахаров отмечено в квашеной капусте гибридов Идиллия F₁ (на 54,2 %) и Орфей F₁ (на 40,4 %). Содержание суммы сахаров в квашеной капусте, по сравнению со свежей, снизилось на 30,1 %, дисахаров – на 18,0 %, моносахаров – на 33,6 %.

Из каждого образца квашеной капусты отобрали рассол для проведения анализов (рис. 1).

Приоритетный компонент сырья, влияющий на формирование свойств, – микрофлора, которая превращает сахар в молочную кислоту. Молочная кислота по мере накопления приостанавливает

Таблица 1. Содержание сахаров в образцах свежей и квашеной капусты белокочанной, %

Table 1. Sugars in fresh cabbage and sauerkraut, %

Гибрид	Свежая капуста			Квашеная капуста		
	Моносахара	Дисахара	Сумма сахаров	Моносахара	Дисахара	Сумма сахаров
Среднеспелый						
Яхромский F ₁	3,35 ± 0,17	1,03 ± 0,05	4,38 ± 0,22	2,11 ± 0,11	0,61 ± 0,03	2,72 ± 0,14
Среднепоздний						
Северянка F ₁	3,36 ± 0,17	0,94 ± 0,05	4,30 ± 0,22	2,39 ± 0,12	0,38 ± 0,02	2,77 ± 0,14
Позднеспелый						
Атлант F ₁	4,22 ± 0,21	1,27 ± 0,06	5,49 ± 0,27	2,65 ± 0,13	0,89 ± 0,04	3,54 ± 0,18
Барыня F ₁	4,08 ± 0,20	0,53 ± 0,03	4,61 ± 0,23	2,46 ± 0,12	0,87 ± 0,04	3,33 ± 0,17
Добродей F ₁	3,93 ± 0,19	0,74 ± 0,04	4,67 ± 0,23	2,43 ± 0,12	1,12 ± 0,06	3,55 ± 0,18
Киластоп F ₁	3,91 ± 0,19	0,80 ± 0,04	4,71 ± 0,23	2,91 ± 0,15	1,05 ± 0,05	3,96 ± 0,19
Континент F ₁	4,06 ± 0,20	0,83 ± 0,04	4,89 ± 0,24	2,93 ± 0,15	1,37 ± 0,07	4,30 ± 0,22
Орион F ₁	4,02 ± 0,20	0,87 ± 0,04	4,89 ± 0,24	2,63 ± 0,13	0,74 ± 0,04	3,37 ± 0,17
Очень позднеспелый						
Герцогиня F ₁	4,42 ± 0,22	1,40 ± 0,07	5,82 ± 0,29	3,12 ± 0,16	0,95 ± 0,05	4,07 ± 0,20
Идиллия F ₁	4,32 ± 0,22	0,96 ± 0,05	5,28 ± 0,26	2,17 ± 0,11	0,25 ± 0,01	2,42 ± 0,12
Орфей F ₁	4,19 ± 0,21	0,70 ± 0,04	4,85 ± 0,24	2,41 ± 0,12	0,48 ± 0,02	2,89 ± 0,15
Престиж F ₁	3,97 ± 0,19	1,95 ± 0,10	5,92 ± 0,29	3,63 ± 0,18	1,15 ± 0,06	4,78 ± 0,24
Среднее	3,99 ± 0,19	1,00 ± 0,05	4,98 ± 0,25	2,65 ± 0,13	0,82 ± 0,04	3,48 ± 0,17

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

The data are statistically significant at $p < 0.05$ ($n = 3$).

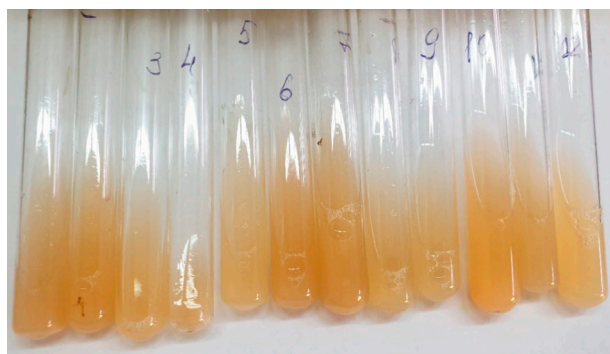


Рисунок 1. Отбор рассола для проведения анализов

Figure 1. Brine selection

развитие других микроорганизмов и оказывает на продукцию консервирующее действие.

В данном исследовании массовая доля титруемых кислот в расчете на молочную кислоту во всех вариантах опыта была на уровне 0,81–1,32 %, в среднем – 1,04 % (табл. 2).

Доля молочнокислых бактерий в квашенной капусте, полученной без использования специальных заквасок, не контролируется и зависит от вида капусты и общей обсемененности всех компонентов. Провели микробиологический посев неразведенного рассола капусты на плот-

ную питательную среду Лактобакагар (производство ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболensk). Условия культивирования – анаэробно, оптимум pH в термостате – 5,5–5,8, температура культивирования – 36 °C. Результаты посева представлены на рисунках 2–4 и в таблице 2. Для определения количества микроорганизмов провели посев из разведений (рис. 3).

На чашках Петри во всех исследуемых образцах и по микроскопии определяются колонии трех видов молочнокислых бактерий – *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus* sp. и *Lactobacillus brevis*. В предыдущих исследованиях в квашеной капусте, приготовленной из отечественных сортов и гибридов в условиях Московской области, обнаружены *Leuconostoc mesenteroides*, *L. plantarum*, *Lactobacillus cucumeris* и *L. brevis* [18]. *Lactobacillus* могут продуцировать молочную кислоту и различные антимикробные вещества, такие как бактериоцины, которые могут ингибировать в процессе ферментации рост патогенов и микроорганизмов, вызывающих порчу [19, 20]. Высвобождение молочной кислоты молочнокислыми бактериями не только снижает pH и ингибирует микроорганизмы, вызывающие порчу, но оказывает положительное влияние на органолептические характеристики квашеной капусты за счет этерификации спиртами, что уменьшает раздражающий вкус и обеспечивает усиление аромата [21].

Таблица 2. Содержание титруемых кислот в пересчете на молочную кислоту в квашенной капусте, приготовленной из различных гибридов

Table 2. Titratable acids in terms of lactic acid in sauerkraut from various cabbage hybrids

Гибрид	Массовая доля титруемых кислот в расчете на молочную кислоту, %
Среднеспелый	
Яхромский F ₁	0,81 ± 0,04
Среднепоздний	
Северянка F ₁	0,94 ± 0,05
Позднеспелый	
Атлант F ₁	1,20 ± 0,06
Барыня F ₁	1,10 ± 0,06
Добродей F ₁	0,85 ± 0,04
Киластоп F ₁	1,30 ± 0,07
Континент F ₁	1,02 ± 0,05
Орион F ₁	1,28 ± 0,06
Очень позднеспелый	
Герцогиня F ₁	0,85 ± 0,04
Идиллия F ₁	0,86 ± 0,04
Орфей F ₁	1,32 ± 0,07
Престиж F ₁	0,90 ± 0,05
Среднее	1,04 ± 0,05

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

The data are statistically significant at $p < 0.05$ ($n = 3$).

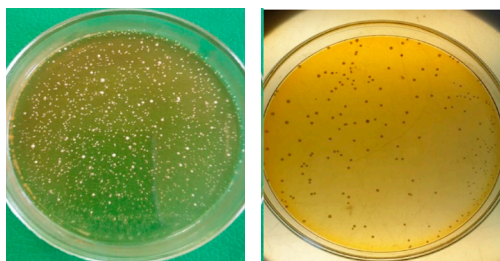


Рисунок 3. Микробиологический посев рассола квашенной капусты (1:5)

Figure 3. Microbiological seeding of sauerkraut brine (1:5)

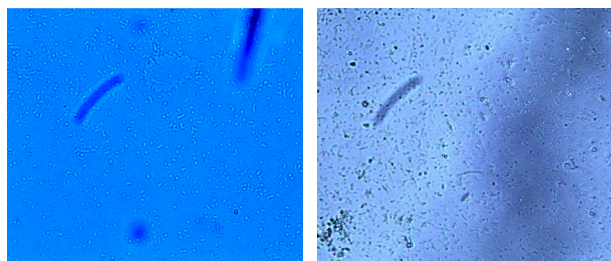


Рисунок 4. Микроскопия рассола квашенной капусты в разведении 1:5 (образцы № 2 и 8)

Figure 4. Microscopy of sauerkraut brine diluted as 1 to 5: samples 2 and 8

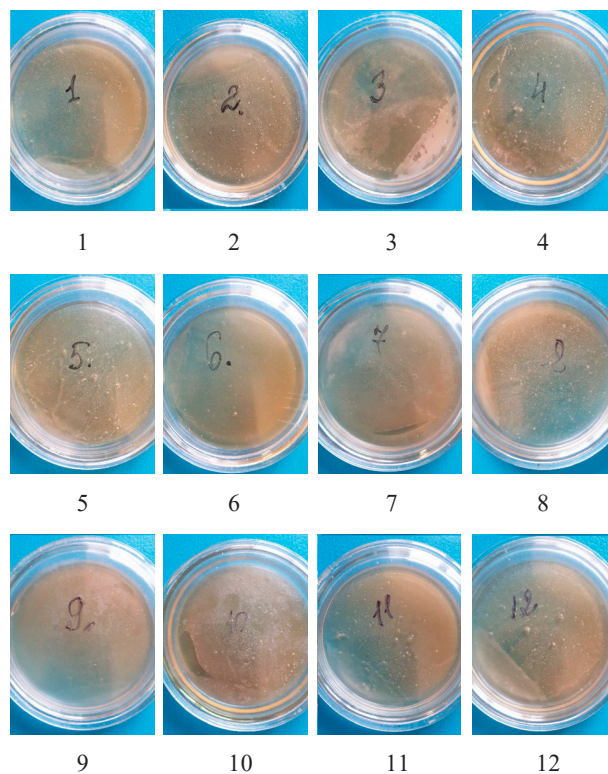


Рисунок 2. Микробиологический посев рассола из представленных образцов (посев рассола без разведения): 1 – Престиж F₁; 2 – Киластоп F₁; 3 – Атлант F₁; 4 – Идиллия F₁; 5 – Яхромский F₁; 6 – Добродей F₁; 7 – Континент F₁; 8 – Северянка F₁; 9 – Барыня F₁; 10 – Герцогиня F₁; 11 – Орион F₁; 12 – Орфей F₁

Figure 2. Microbiological inoculation of undiluted brine: 1 – Prestizh F₁; 2 – Kilastop F₁; 3 – Atlant F₁; 4 – Idillia F₁; 5 – Yakhromskiy F₁; 6 – Dobrodey F₁; 7 – Kontinent F₁; 8 – Severyanka F₁; 9 – Barynya F₁; 10 – Gertsoginya F₁; 11 – Orion F₁; 12 – Orphey F₁

Количество колоний подсчитывали как вручную, так и с помощью автоматического счетчика колоний. Общее количество микроорганизмов в рассоле квашенной капусты варьировалось от $8,17 \pm 0,04 \times 10^7$ (Северянка F₁) до $1,07 \pm 0,03 \times 10^6$ (Атлант F₁) КОЕ/см³.

Микробное разнообразие зависит не только от процесса ферментации, но и от среды [22]. Провели посев рассола квашенной капусты на наличие в образцах дрожжей и плесеней. Результаты микробиологического посева рассола квашенной капусты по ГОСТ 10444.12-2013 приведены в таблице 4.

Результаты посева показали, что в гибриде Киластоп F₁ присутствует небольшое количество дрожжей. Все испытанные образцы соответствуют микробиологическим требованиям, предъявляемым к пищевым продуктам (ТР ТС 021/2011).

Отсутствие в исследуемых образцах дрожжей и плесеней закономерно, т. к. по мере накопления

Таблица 3. Общее количество микроорганизмов в рассоле капусты квашеной, приготовленной из различных сортов

Table 3. Total microbial count in sauerkraut brine samples

Гибрид	Общее количество микроорганизмов, КОЕ/см ³
Престиж F ₁	1,46 ± 0,03 × 10 ⁶
Киластоп F ₁	1,10 ± 0,03 × 10 ⁶
Атлант F ₁	1,07 ± 0,03 × 10 ⁶
Идиллия F ₁	1,10 ± 0,03 × 10 ⁶
Яхромский F ₁	1,08 ± 0,03 × 10 ⁶
Добродей F ₁	9,34 ± 0,04 × 10 ⁶
Континент F ₁	5,67 ± 0,03 × 10 ⁷
Северянка F ₁	8,17 ± 0,04 × 10 ⁷
Барыня F ₁	7,36 ± 0,04 × 10 ⁷
Герцогиня F ₁	1,49 ± 0,03 × 10 ⁷
Орион F ₁	2,28 ± 0,03 × 10 ⁷
Орфей F ₁	2,92 ± 0,03 × 10 ⁷

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

The data are statistically significant at $p < 0.05$ ($n = 3$).

Таблица 4. Результаты микробиологического посева на наличие в рассоле квашеной капусты дрожжей и плесеней

Table 4. Microbiological culture results for yeast and mold in sauerkraut brine

Гибрид	Разведение	Дрожжи, КОЕ/см ³	Плесени, КОЕ/см ³
Престиж F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Киластоп F ₁	10 ²	1,3 × 10 ³	0
	10 ³	0	0
Атлант F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Идиллия F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Яхромский F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Добродей F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Континент F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Северянка F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Барыня F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Герцогиня F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Орион F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0
Орфей F ₁	10 ²	0	0
	10 ³	0	0

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

The data are statistically significant at $p < 0.05$ ($n = 3$).

молочной кислоты постепенно подавляется жизнедеятельность нежелательной микрофлоры, а также преобладают молочнокислые бактерии основного брожения. Наличие в Киластоп F₁ небольшого количества дрожжей допустимо, оно возможно на конечном этапе квашения.

По окончании ферментации и с наступлением периода хранения в квашеной капусте продолжают микробиологические процессы, свойственные периоду ферментации, но в иных темпах и ином соотношении. Основной процесс – молочнокислое брожение – затухает и после израсходования остатков сахара прекращается. В то же время активизируются побочные процессы – спиртовое и уксуснокислое брожения, которые становятся преобладающими.

Наилучшими вкусовыми достоинствами обладает капуста, в которой процесс брожения не доведен до конца, т. е. до полного сбраживания сахара. Наличие сахара при небольшом количестве кислоты придает капусте приятный винно-солончатый вкус. Когда брожение заходит более глубоко, т. е. совпадает со временем окончания ферментации, то содержание кислоты в капусте превышает 1 % и доходит до 1,3 %. В этом случае в ней остается от 0,5 до 1 % сахара. Капуста приобретает более острый вкус, но в данном случае острота вкуса смягчается наличием небольшого количества сахара. Вкус можно охарактеризовать как кисловато-солончатый.

Ферментированные продукты были частью рациона человека на протяжении веков и связаны с различными преимуществами для здоровья, включая долголетие, снижение риска метаболических и иммунно-опосредованных заболеваний и улучшение общего состояния здоровья. Ежедневное потребление квашеной капусты в течение шести недель вызывает изменения в микробном составе кишечника, сопровождающиеся улучшением желудочно-кишечных симптомов у пациентов с синдромом раздраженного кишечника. Квашение (ферментация) повышает питательную ценность пищевых продуктов: в процессе ферментации синтезируются полезные лактобактерии и сохраняются витамины, биологически активные пептиды и фитохимические вещества. Для овощей молочнокислое брожение является распространенным типом брожения. Например, для производства квашеной капусты. В процессе ферментации молочнокислые бактерии превращают углеводы, содержащиеся в сырых овощах, в молочную кислоту. Это приводит к падению pH, что предотвращает рост нежелательных микробов, таких как плесень, и неправильное брожение. Квашеную капусту и другие ферментированные овощи обычно производят путем добавления солевого раствора. Исследования показали, что все испытанные отечественные гибриды капусты белокочанной пригодны для квашения даже после длительного хранения.

Выводы

Испытанные отечественные гибриды капусты белокочанной могут быть заквашены собственной молочнокислой микрофлорой, без применения специальных заквасок для квашения овощей, с получением продукта с выраженными традиционными органолептическими свойствами.

На основании результатов эксперимента показано, что в процессе квашения достигается высокий уровень содержания молочнокислых бактерий – до $8,17 \times 10^7$ КОЕ/см³ (для гибрида Северянка F₁). Микробиологический анализ образцов выявил стабильность в отношении нежелательной микрофлоры квашеных овощей – дрожжей и плесеней.

При хранении образцов продукции микрофлора квашенной капусты остается однородной и в активной фазе цикла развития.

Все испытанные отечественные гибриды капусты белокочанной пригодны для квашения даже после 4-х месяцев хранения.

Критерии авторства

Все авторы участвовали в планировании и постановке эксперимента, а также в анализе экспериментальных данных и написании статьи.

Конфликт интересов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the research design, experimental studies, data analysis, and drafting.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Gasparian, S. Gasparian I. Influence of ultrasound on storage times of fermented cabbage. Proceedings of 19th International Scientific Conference Engineering for Rural Development; 2020; Jelgava. Jelgava; 2020. p. 1807–1812. <https://doi.org/10.22616/ERDev.2020.19.TF482>
2. Bebris AR, Virchenko II, Yanchenko EV, Yanchenko AV. Productivity, quality and preservation of varieties and hybrids of white cabbage of different groups of ripeness. North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, and Winemaking: Scientific Research. 2020;29:95–100. (In Russ.). <https://doi.org/10.30679/2587-9847-2020-29-95-100>
3. Ivanova MI, Yanchenko EV, Yanchenko AV, Virchenko II. Quality and optimal shelf life of late season green cabbage. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):690–700. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-690-700>
4. Bajpai VK, Rather IA, Majumder R, Alshammari FH, Nam G-J, Park Y-H. Characterization and antibacterial mode of action of lactic acid bacterium *Leuconostoc mesenteroides* HJ69 from kimchi. Journal of Food Biochemistry. 2017;41(1). <https://doi.org/10.1111/jfbc.12290>
5. Lee Y-D. Fermented property and antioxidative effect of GABA producing *Lactobacillus plantarum* from kimchi. Journal of Food Hygiene and Safety. 2021;36(5):440–446. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.5.440>
6. Park J-S, Joe I, Rhee PD, Jeong C-S, Jeong G. A lactic acid bacterium isolated from kimchi ameliorates intestinal inflammation in DSS-induced colitis. Journal of Microbiology. 2017;55(4):304–310. <https://doi.org/10.1007/s12275-017-6447-y>
7. Kavas N. Yogurt-like product from lupine (*Lupinus albus* L.) milk as an alternative to dairy products. Foods and Raw Materials. 2022;10(2):377–385. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-546>
8. Ganina VI, Mashentseva NG, Ionova II. Bacteriophages of lactic acid bacteria. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(2):361–374. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2371>
9. Li Q, Kang J, Ma Z, Li X, Liu L, Hu X. Microbial succession and metabolite changes during traditional serofluid dish fermentation. LWT. 2017;84:771–779. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.051>
10. Lee H, Yoon H, Ji Y, Kim H, Park H, Lee J, et al. Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi. International Journal of Food Microbiology. 2011;145(1):155–161. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.003>
11. Bell V, Ferrão J, Fernandes T. Nutritional guidelines and fermented food frameworks. Foods. 2017;6(8). <https://doi.org/10.3390/foods6080065>
12. Zabat MA, Sano WH, Wurster JI, Cabral DJ, Belenky P. Microbial community analysis of sauerkraut fermentation reveals a stable and rapidly established community. Foods. 2018;7(5). <https://doi.org/10.3390/foods7050077>
13. Thierry A, Pogacic T, Weber M, Lortal S. Production of flavor compounds by lactic acid bacteria in fermented foods. In: Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM, editors. Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. New York: John Wiley and Sons; 2015. pp. 314–340. <https://doi.org/10.1002/9781118868386.ch19>

14. Rabie MA, Siliha H, el-Saidy S, el-Badawy AA, Malcata FX. Reduced biogenic amine contents in *sauerkraut* via addition of selected lactic acid bacteria. *Food Chemistry*. 2011;129(4):1778–1782. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.106>
15. Soldatenko AV, Ivanova MI, Bondareva LL, Tareeva MM. Cabbage leafy vegetables. Moscow: FGBNU FNTsO; 2022. 296 p. (In Russ.). [Капустные зеленные овощи / А. В. Солдатенко [и др.] // М.: ФГБНУ ФНЦО, 2022. 296 с.].
16. Satora P, Skotniczny M, Strnad S, Piechowicz W. Chemical composition and sensory quality of sauerkraut produced from different cabbage varieties. *LWT*. 2021;136. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110325>
17. Jung SY, Lee DS, An DS. Design of CO₂ absorber mix tuned for ripening of packaged kimchi. *Korean Journal of Packaging Science and Technology*. 2021;27(1):35–40. <https://doi.org/10.20909/kopast.2021.27.1.35>
18. Tereshonok VI, Markarova MYu, Posokina NE, Bondareva LL, Nadezhkin SM. Influence of varietal characteristics the cabbage in the quality of the products used for pickling after a long storage period. *Vegetable Crops of Russia*. 2019;50(6):91–95. (In Russ.). <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-91-95>
19. Huang Z-R, Guo W-L, Zhou W-B, Li L, Xu J-X, Hong J-L, *et al.* Microbial communities and volatile metabolites in different traditional fermentation starters used for Hong Qu glutinous rice wine. *Food Research International*. 2019;121:593–603. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.024>
20. Turpin W, Humblot C, Guyot J-P. Genetic screening of functional properties of lactic acid bacteria in a fermented pearl millet slurry and in the metagenome of fermented starchy foods. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011;77(24):8722–8734. <https://doi.org/10.1128/AEM.05988-11>
21. Xu X, Bao Y, Wu B, Lao F, Hu X, Wu J. Chemical analysis and flavor properties of blended orange, carrot, apple and Chinese jujube juice fermented by selenium-enriched probiotics. *Food Chemistry*. 2019;289:250–258. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.068>
22. Zhu Y, Zhang F, Zhang C, Yang L, Fan G, Xu Y, *et al.* Dynamic microbial succession of Shanxi aged vinegar and its correlation with flavor metabolites during different stages of acetic acid fermentation. *Scientific Reports*. 2018;8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26787-6>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2421>
<https://elibrary.ru/FYGLPC>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Анализ и перспективы инновационного развития предприятий общественного питания



Л. А. Маюрникова*^{ORCID}, А. А. Кокшаров^{ORCID},
Т. В. Крапива^{ORCID}, А. И. Петкович^{ORCID}, В. О. Мешков^{ORCID}

Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 18.10.2022

Принята после рецензирования: 22.12.2022

Принята к публикации: 10.01.2023

*Л. А. Маюрникова: nir30@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4592-8382>

А. А. Кокшаров: <https://orcid.org/0000-0002-2782-5833>

Т. В. Крапива: <https://orcid.org/0000-0002-9441-8744>

А. И. Петкович: <https://orcid.org/0000-0002-9209-546X>

В. О. Мешков: <https://orcid.org/0000-0002-3643-0390>

© Л. А. Маюрникова, А. А. Кокшаров,

Т. В. Крапива, А. И. Петкович, В. О. Мешков, 2023



Аннотация.

Предприятия общественного питания приобретают все большую значимость в обеспечении населения России здоровым питанием. Это предприятия малого бизнеса, не имеющие опыта инновационной деятельности. Актуальным является определение перспектив инновационного развития предприятий, учитывающее специфику их форм собственности, размер и целевую ориентацию бизнеса. Цель исследования – разработка рекомендаций по реструктуризации предприятий на этапе переходного периода к инновационной стратегии развития.

Объектами исследования являлись предприятия общественного питания и его инновационный потенциал. Для выявления специфики деятельности предприятий и факторов, способствующих и сдерживающих их развитие, применяли метод анализа. В основу разработки рекомендаций в виде процесса реструктуризации в рамках сценариев применительно к конкретным предприятиям положен метод синтеза.

Анализ предприятий отрасли, в зависимости от цели деятельности, позволил разделить их на коммерческие и социально-ориентированные, а также определить их преимущества и недостатки. Общим для всех являются децентрализация, многочисленность и многоформатность, что осложняет внедрение новшеств и стратегическое развитие. Имеющийся опыт показывает целесообразность реструктуризации на этапе переходного периода с точки зрения совершенствования системы управления. Для реализации этого процесса предложены перечень специалистов, обладающих компетенциями в области инновационной деятельности, и матрица стратегических ресурсов.

Аудит предприятий общественного питания позволяет оценить их конкурентоспособность и показать возможности и перспективы стратегического развития. Среди факторов, сдерживающих развитие отрасли, ключевым является отсутствие кадров для инновационной деятельности и опыта в ней. Актуальной является подготовка специалистов нового формата. Решение этой задачи находится в компетенции профильных университетов и региональной инновационной инфраструктуры, которые имеют образовательные программы по инновационному менеджменту для соответствующих отраслей.

Ключевые слова. Общественное питание, инновационная деятельность, реструктуризация, кадры, стратегия

Для цитирования: Анализ и перспективы инновационного развития предприятий общественного питания / Л. А. Маюрникова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 140–149. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2421>

Public Catering Enterprises: Analysis and Prospects of Innovative Development



Larisa A. Mayurnikova*, Arkadiy A. Koksharov, Tatyana V. Krapiva, Anna I. Petkovich, Vladislav O. Meshkov

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Received: 18.10.2022
Revised: 22.12.2022
Accepted: 10.01.2023

*Larisa A. Mayurnikova: nir30@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-4592-8382>
Arkadiy A. Koksharov: <https://orcid.org/0000-0002-2782-5833>
Tatyana V. Krapiva: <https://orcid.org/0000-0002-9441-8744>
Anna I. Petkovich: <https://orcid.org/0000-0002-9209-546X>
Vladislav O. Meshkov: <https://orcid.org/0000-0002-3643-0390>

© L.A. Mayurnikova, A.A. Koksharov, T.V. Krapiva,
A.I. Petkovich, V.O. Meshkov, 2023



Abstract.

Public catering has become an important healthy food provider in Russia. As a rule, this sphere is represented by small businesses with no experience in innovation. Their prospects for innovative development depend on the form of ownership, size, and target audience. The present research objective was to develop recommendations on how to restructure a public catering enterprise as part of an innovative development strategy.

The study featured public catering enterprises together with their innovative potential, activities, and factors that contribute to or hinder their development. The innovative restructuring scenarios were based on the synthesis method.

The authors developed a goal-centered classification which includes commercial and socially oriented public catering enterprises with their own advantages and disadvantages. The list of disadvantages includes decentralization, overstaffing, and multi-format, which make it difficult to introduce innovations and strategizing. The restructuring process requires a new management system optimized by specialists competent in the field of innovation, as well as a new matrix of strategic resources.

An audit of public catering enterprises makes it possible to assess their competitiveness and strategic prospects. The current lack of personnel with experience in innovations hinders the development of the industry. Universities and regional innovation infrastructure should provide public catering with specialists in innovation management.

Keywords. Public catering, innovation, restructuring, personnel, strategy

For citation: Mayurnikova LA, Koksharov AA, Krapiva TV, Petkovich AI, Meshkov VO. Public Catering Enterprises: Analysis and Prospects of Innovative Development. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):140–149. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2421>

Введение

В Указах Президента Российской Федерации № 642 от 01.12.2016 г. и № 899 от 07.07.2011 г. инновационный путь развития отраслей в России определен как приоритетный. Зарубежный опыт стран – технологических лидеров показывает высокую эффективность этого направления. Например, с начала 2000-х гг. консорциум Корнельского университета (США), Школы бизнеса INSEAD (Франция) и Всемирной организации интеллектуальной собственности каждый год формирует доклад «Глобальный инновационный индекс» (ГИИ), в котором отражаются результаты сопоставительного анализа инновационных систем 131 страны и их рейтинг по уровню инновационного развития.

ГИИ-2020 сформирован на основе 80 показателей, объединенных в семь направлений анализа. Рейтинг 2020 г. возглавила Швейцария. В первую десятку вошли Швеция, США, Великобритания, Нидерланды, Дания, Финляндия, Сингапур, Германия и Республика Корея. Россия заняла 47-е место. Интерес в этом направлении представляют агропродовольственные рынки, обеспечивающие страны мира продуктами питания [1–4].

В России, как и в других странах, имеет место пространственная и отраслевая неравномерность инновационного развития. Причины могут быть как объективными, так и субъективными. К объективным причинам можно отнести принцип «центр – периферия», ограниченность экономических ресурсов,

наличие и активность элементов инновационной инфраструктуры, наличие инновационного потенциала предприятий и отрасли в целом, вклад отрасли (базовые и обслуживающие) в развитие региона [5–7]. По мнению аналитиков, ситуация объясняется низкой эффективностью институтов, формирующих условия для предпринимательской и творческой деятельности. Субъективные причины определяются малой заинтересованностью предпринимательского сектора в инновационных разработках, низким уровнем коммерциализации инноваций, недостатком высокотехнологичного оборудования и дефицитом кадров для инновационной деятельности. Причины неравномерности инновационного развития характерны для предприятий малого и среднего бизнеса. Это свидетельствует об актуальности проведения исследований по оценке инновационного потенциала предприятий общественного питания как элементов национальной инновационной системы России и разработки мероприятий по его повышению.

В современных условиях развития общества, когда базовыми составляющими успешности являются человеческий и интеллектуальный капитал, к приоритетным направлениям исследований необходимо отнести питание и здоровье населения. Направления развития науки о питании (нутрициология) следует рассматривать в совокупности на всех этапах процесса «от идеи нового продукта до потребителя», т. е. от генерации идеи нового продукта, его проектирования, разработки и внедрения в производство до доведения до потребителя. Важной составляющей данного процесса является оценка социального и экономического эффекта потребления, т. е. положительного влияния на состояние здоровья [8].

Для практической реализации инновационных разработок научно-образовательных учреждений целесообразно дать оценку перспектив развития предприятий отрасли, осуществляющих внедрение новшеств, в том числе в виде новых технологий специализированных продуктов питания, и последующее выведение их на рынок. Решение этих задач входит в функции предприятий пищевой и перерабатывающей промышленности и предприятий общественного питания как части агропромышленного комплекса. Предприятия общественного питания, помимо процессов производства и реализации продукции, предоставляют услуги по организации ее потребления. Это объясняет специфику отрасли и определенные сложности в оценке перспектив инновационного развития.

Целью работы являлся анализ специфики деятельности предприятий общественного питания с последующей разработкой рекомендаций по реструктуризации на этапе переходного периода к инновационному развитию.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования стали предприятия общественного питания как представители малого бизнеса и участники процесса обеспечения населения здоровым питанием, а также инновационный потенциал предприятия, которым должно обладать предприятие при переходе на инновационный путь развития. В этой связи представляет интерес дать понятие инновационной деятельности в сфере питания и отдельных ее составляющих.

Инновационная деятельность – это деятельность по накоплению и использованию новых знаний в целях разработки новых товаров, технологий и услуг их производства и коммерциализации путем выведения на рынок для удовлетворения потребителей [9–11]. Инновационная деятельность – это деятельность участников процесса, задачей которых является подготовка кадров для инновационной деятельности в профильной отрасли, имеющих знания и способных разрабатывать инновационные товары и технологии в рамках инновационного проекта применительно к конкретному производству при наличии спроса потребителя на это новшество. Участниками инновационного процесса являются научно-образовательные организации, осуществляющие разработку новшеств и подготовку кадров для отрасли, предприятия, готовые внедрять разработанные новшества в виде инновационных проектов для последующего выведения на рынок с целью удовлетворения потребителей и получения экономической эффективности, государство как лицо, заинтересованное в инновационной деятельности и осуществляющее организационную и финансовую поддержку через различные Фонды, и инновационная инфраструктура, создающая благоприятную обстановку для развития инновационной деятельности в отрасли/регионе.

Результатом инновационной деятельности применительно к сфере питания будет являться повышение качества пищевой продукции, новые или улучшенные пищевые продукты, включая специализированные для разных групп населения, новые технологии их производства с применением нового сырья, новые формы организации и управления, позволяющие повысить эффективность производства.

Для осуществления инновационной деятельности предприятие должно обладать инновационным потенциалом. Инновационный потенциал – степень готовности предприятия к реализации новшества (инновационного проекта), созданного своими силами в подразделениях НИОКР или приобретенного в виде патентов, лицензий на изобретения и ноу-хау и т. д. [9].

В исследовании применяли такие методы, как анализ и синтез. Так как предметом исследования являются предприятия общественного питания,

то для выявления перспектив разработки инновационной стратегии проводили анализ специфики деятельности предприятий как системы для выделения факторов, способствующих (достоинства) или сдерживающих (недостатки) развитие. Синтез как метод исследования применяли с целью разработки рекомендаций в виде процесса реструктуризации с выделением специалистов и их функций, а также стратегических средств для его реализации в рамках сценариев применительно к конкретным предприятиям общественного питания.

Результаты и их обсуждение

Предприятия общественного питания оказывают услуги питания и обслуживания практически всем слоям населения, в том числе для профилактики и поддержания лечебной терапии при алиментарно-зависимых заболеваниях. В связи с этим представляет интерес выявление на основании существующих классификаций предприятий расширенных отличительных признаков, характерных для предприятий общественного питания, с целью их учета при разработке стратегий развития (табл. 1).

Таблица 1. Особенности предприятий общественного питания

Table 1. Catering enterprises: main features

Признак классификации	Классификационная группа	Применительно к предприятиям общественного питания
По форме собственности	Государственная собственность	Детские сады, школы, больницы, социальные учреждения
	Муниципальная собственность	МАУ «Школьное питание»
	Частная собственность	В большей части
	Собственность общественных организаций	Нет
	Иная форма собственности (смешанная собственность, собственность иностранных лиц)	Франшиза
По целевому назначению	Производство продукции	Производство полуфабрикатов и готовой продукции общественного питания
	Выполнение работ	Нет
	Оказание услуг	Услуги питания, услуги обслуживания, дополнительные услуги
По отраслевой принадлежности	Промышленные	Нет
	Сельскохозяйственные	Нет
	Предприятия транспорта, связи, строительства, сферы услуг и т. п.	Применительно (сфера услуг)
По размерам (по числу работающих)	Микропредприятия (до 15 человек)	25–30 % от общего количества предприятий общественного питания коммерческого сектора
	Малые предприятия (до 100 человек)	50–65 % от общего количества предприятий общественного питания коммерческого сектора
	Средние предприятия (до 250 человек)	10–15 % от общего количества предприятий общественного питания коммерческого сектора
	Крупные предприятия (свыше 250 человек)	5–10 % от общего количества предприятий общественного питания коммерческого сектора
В зависимости от целей деятельности предприятия	Коммерчески ориентированные предприятия, основная цель которых предоставление услуг, необходимых для определенной целевой аудитории, и получение в результате этого прибыли	Рестораны, бары, кафе, столовые, кофейни, службы доставки, предприятия уличного питания, предприятия быстрого питания и др.
	Социально ориентированные предприятия, основная цель которых обеспечение питанием определенный контингент потребителей без получения прибыли и/или ее получение вторично. В условиях инновационного развития получение прибыли социально ориентированными предприятиями возможно	Питание в детских дошкольных и школьных образовательных учреждениях; питание военнослужащих воинских частей, суворовцев, кадетов; питание осужденных, подозреваемых и обвиняемых, содержащихся в учреждениях уголовно-исполнительной системы; питание в государственных лечебных и социальных учреждениях стационарным больным и постоянно проживающим детям и инвалидам; санаторно-курортное питание; питание в медучреждениях при промпредприятиях и др.

По итогам 2021 г. практически 52 % доли рынка общественного питания составляют социально ориентированные предприятия, которые не преследуют цель извлечь прибыль, а стремятся обеспечить питание при безубыточной работе. Такие предприятия находятся на балансе организаций и финансируются из бюджета. Среди коммерчески ориентированных предприятий лидируют (78 %) малые и микропредприятия. Таким образом, цели предприятий общественного питания определяют специфику их деятельности в вопросах работы с потребителями (общее управление деятельностью, маркетинг), строгое соблюдение физиологических норм потребления основных пищевых веществ с рационом, количественную и качественную структуру штатного расписания и др. Специфика деятельности предприятий общественного питания определяет ряд характерных преимуществ и недостатков.

К преимуществам коммерчески ориентированных предприятий можно отнести:

- независимость (предприниматели являются распорядителями собственных ресурсов: человеческих, финансовых и материально-технических);
- гибкость, способность к оперативной перестройке производства (реинжиниринг) (быстрая адаптация к местным условиям и меняющимся потребностям разных групп (слоев) потребителей, быстрое освоение новых видов продукции и применение технических новинок);
- специализация (в отличие от крупных предприятий малые предприятия имеют возможность предоставлять потребителям специализированные товары или услуги);
- скорость принятия решений (при существующей организационной структуре принятие решений осуществляет либо собственник, либо небольшая определенная группа лиц);
- возможность экономии на издержках производства (рациональное использование трудовых и финансовых ресурсов, ограниченный уровень запасов, использование недорогих средств производства и др.);
- оперативность управления (возможность быстрой корректировки принятия решений в зависимости от сложившейся ситуации).

Для социально ориентированных предприятий преимуществами являются:

- постоянный поток потребителей (загрузка предприятия постоянна, легко просчитывается и поддается планированию);
- услуги общественного питания согласовываются не с индивидуальным потребителем, а с организацией, в которой эти услуги оказываются. Таким образом, оказанные услуги стандартизированы и требуют пересмотра лишь при необходимости. Например, выход нового (обновленного) норма-

тивного документа. Это предопределяет объем производства и реализации, а также финансовый результат;

- бюджетное финансирование;
- для всех предприятий общественного питания предоставлены налоговые льготы (освобождение от уплаты НДС, пониженная ставка страховых сборов).

Недостатками коммерчески ориентированных предприятий являются:

- наличие объективных и субъективных причин слабого использования внешнего финансирования;
- высокие издержки (например, отсутствие возможности получения выгоды от экономии за счет масштабов производства);
- отсутствие управленческого опыта перехода на новые стратегии развития и ресурсов для выхода из кризисных ситуаций;
- затрудненный доступ к технологиям из-за отсутствия возможности финансировать научно-исследовательские разработки и проекты;
- отсутствие заинтересованности у менеджеров высшего звена (лиц, принимающих решения) в формировании партнерских отношений с профильными представителями внешней среды с целью разработки стратегий развития, в том числе инновационной.

Для социально ориентированных предприятий, помимо недостатков коммерчески ориентированных предприятий, характерны следующие:

- недостаточное финансирование не позволяет соответствовать требованиям, предъявляемым к организации питания определенного контингента (обеспечение сбалансированности рациона по основным пищевым веществам, калорийность, кратность приема пищи);
- определение поставщиков пищевых продуктов и пищевого сырья производится на торгах в соответствии с ФЗ № 44 от 05.04.2013. Решающим фактором для заключения контракта является цена на продукт без учета его качества;
- устаревшая материально-техническая база;
- кадровый голод, усугубляемый низкими зарплатами.

Таким образом, специфика деятельности предприятий общественного питания, а также их многоформатность, децентрализация и многочисленность осложняют внедрение новшеств (инноваций) в виде новой пищевой продукции, новых технологий, новых методов управления, создания и внедрения интеллектуальной собственности и т. д.

Ретроспективный анализ научно-технической литературы по развитию малого предпринимательства (малого бизнеса) и по инновационному развитию предприятий выявил единичные публикации, относящиеся к отрасли общественного питания. Авторы публикаций описывают проблему и дают рекомендации только с точки зрения экономического роста, т. е. получения прибыли. Так

как предприятия питания призваны решать задачи обеспечения населения здоровым питанием, то эти вопросы необходимо рассматривать с точки зрения технологий, а экономическую составляющую – как конечный результат в совокупности с социальным эффектом [12].

На современном уровне развития организаций и предприятий, отраслей, регионов и стран возникает необходимость проведения оценки инновационного потенциала. В зависимости от уровня управления оценка инновационного потенциала имеет различные цели, методы и процедуры. Анализ научнотехнической литературы показал ограниченное количество методов оценки инновационного потенциала предприятий (компаний) в зависимости от специфики их деятельности и разных подходов к выбору оценочных показателей. Более доступной и распространенной является оценка инновационного потенциала высокотехнологичных производств [13–17]. С. В. Новоселов в качестве параметров и факторов модели оценки инновационного потенциала пищевых предприятий предложил следующие количественные и качественные характеристики состояния предприятия по группам показателей:

1. Оценка финансового потенциала;
2. Оценка интеллектуального потенциала;
3. Оценка организационно-управленческого потенциала;
4. Оценка маркетингового потенциала;
5. Оценка информационно-методического обеспечения;
6. Оценка опыта реализации инновационных проектов;
7. Оценка внешнего инновационного климата;
8. Оценка потенциала материально-технической базы;
9. Оценка инновационной культуры.

Эффективность деятельности предприятия с высоким инновационным потенциалом определяется наличием соответствующих отделов в его организационной структуре. Для предприятий общественного питания нецелесообразно увеличивать численность людей и содержать соответствующие штатные единицы. Чтобы сгладить пространственную неравномерность инновационного развития малых предприятий, принимающих управленческие решения о планировании инновационной деятельности, целесообразен переходный период. Опыт ряда предприятий при динамично меняющихся условиях хозяйствования и/или в кризисных ситуациях показывает возрастающую роль реструктуризации в производственной, организационной, финансовой и кадровой структурах.

При принятии решения о реструктуризации предприятий общественного питания для подготовки

к разработке и реализации стратегии развития, в том числе инновационной, предлагаем создать рабочую (проектную) группу и распределять обязанности специалистов, участвующих в реструктуризации, между уже имеющимися штатными сотрудниками административно-управленческого персонала (табл. 2).

Большинство специалистов в области управления сходятся во мнении, что реструктуризация – это объективный процесс развития организации, и ее менеджер и его команда должны быть готовыми к проведению соответствующих работ и мероприятий и обладать всеми необходимыми знаниями и навыками [18–20]. Региональные инновационные структуры призваны организовать обучение по подготовке кадров для инновационной деятельности на предприятиях малого бизнеса [21–23]. Компетенции, которыми должны владеть сотрудники рабочей группы на этапе реструктуризации предприятия общественного питания, направлены на формирование способности воспринимать и генерировать новые знания как одного из основных факторов повышения конкурентоспособности. К данным компетенциям относятся:

- универсальные компетенции: сотрудник обладает системным и критическим мышлением, разрабатывает и реализует проекты, руководит работой команды, а также способен к лидерству, коммуникации и самоорганизации;
- общепрофессиональные компетенции: сотрудник разрабатывает эффективную стратегию, инновационную политику, конкурентоспособные концепции предприятия и мероприятия по совершенствованию технологических процессов производства продукции различного назначения, оценивает риски и управляет качеством продукции путем использования современных методов и разработки новых технологических решений, использует методы моделирования и проектирования технологических процессов производства продукции питания и услуг, использует научные знания для решения организационно-технологических задач;
- профессиональные компетенции: сотрудник анализирует и оценивает деятельность предприятия питания, разрабатывает и предлагает план реализации принятой стратегии, управляет проектами и изменениями, осуществляет взаимодействие с партнерами на взаимовыгодных условиях.

Должностные инструкции для вышеуказанных штатных сотрудников предприятий общественного питания, задачей которых является стратегическое развитие на основе инновационной деятельности, целесообразно разрабатывать с учетом компетенций и рекомендуемого перечня обязанностей, изложенных в таблице 2. Важным для этого периода является формирование творческих связей и партнерских отношений с научно-образовательными

Таблица 2. Обязанности сотрудников рабочей группы на этапе реструктуризации предприятия общественного питания

Table 2. Responsibilities in the working group at the stage of restructuring a public catering enterprise

Сотрудник	Совмещение обязанностей	Непосредственные обязанности сотрудников
Для малых и средних предприятий общественного питания		
Технолог	Обязанности специалиста технологического, конструкторского, проектно-конструкторского и патентно-лицензионного отделов, задачей которого является работа по стратегическому развитию	– разработка предложений по планированию и организации инновационной деятельности и стратегическому развитию предприятия; – разработка проектов разного уровня, в том числе бизнес-плана, инновационного и инвестиционного проекта; – сбор и анализ патентно-правовой и коммерческой информации при разработке нового (новационного) продукта; – разработка мероприятий по получению, охране и защите интеллектуальной собственности; – подготовка материалов по оценке конкурентоспособности и/или инновационного потенциала предприятия; – организация продаж нового (новационного) продукта и его сопровождение.
Инженер по качеству	Обязанности специалиста отделов управления качеством, метрологического, автоматизации	– подготовка материалов для сертификации новой (новационной) продукции в соответствии с международными стандартами серии ИСО-9000; – подготовка материалов для технологического аудита; – подготовка материалов для составления прогнозов технологического развития предприятия; – организация работ в соответствии с требованиями по качеству нового продукта.
Маркетолог	Привлеченный специалист (по договору аутсорсинга)	– проведение работ по выведению нового (инновационного) продукта на рынок в соответствии с международными стандартами ИСО-9000; – выполнение маркетинговых исследований нового (инновационного) продукта; – работа с партнерами и потребителями на рынке новых товаров; – сбор информации о конкурентах на рынке новой продукции; – подготовка рекламных и информационных материалов о новой продукции; – разработка мероприятий по продвижению новой (инновационной) продукции на рынки.
Для сети предприятий общественного питания		
Менеджер по стратегическому развитию		– стратегическое планирование развития сети, в том числе инновационное развитие; – формирование концепции работы внутри сети, с партнерами и потребителями на рынке; – планирование организационной структуры управлением сети предприятий, в которой предусмотрены штатные и привлеченные сотрудники по инновационной деятельности; – постановка задач маркетинга; – разработка стратегии продаж новых (новационных) продуктов и услуг, системы мотивации и сервисной политики; – разработка плана мероприятий по проведению аудита, оценки конкурентоспособности, инновационного потенциала и оценке возможностей предприятия; – разработка мероприятий по подготовке кадров для инновационной деятельности и повышению квалификации сотрудников административно-управленческого персонала.

организациями (университетами) и организациями инновационной инфраструктуры (бизнес-инкубатор, технопарк и т. д.).

Для осуществления процесса реструктуризации и начала инновационной деятельности предприятие должно обладать набором ресурсов. Разработаны и предложены рекомендации по формированию групп стратегических ресурсов предприятия (рис. 1).

Так как наиболее характерными условиями реструктуризации являются разработка и освоение

новых видов продукции, усиление конкурентной позиции, восстановление платежеспособности и финансовой устойчивости, то считаем перечень стратегических ресурсов достаточным для инновационного развития предприятий общественного питания.

Зарубежный и отечественный опыт предприятий (компаний) свидетельствует о том, что инновационный путь развития предполагает оценку их инновационных потенциалов. Ограниченное количество и сложность методик оценки вызы-

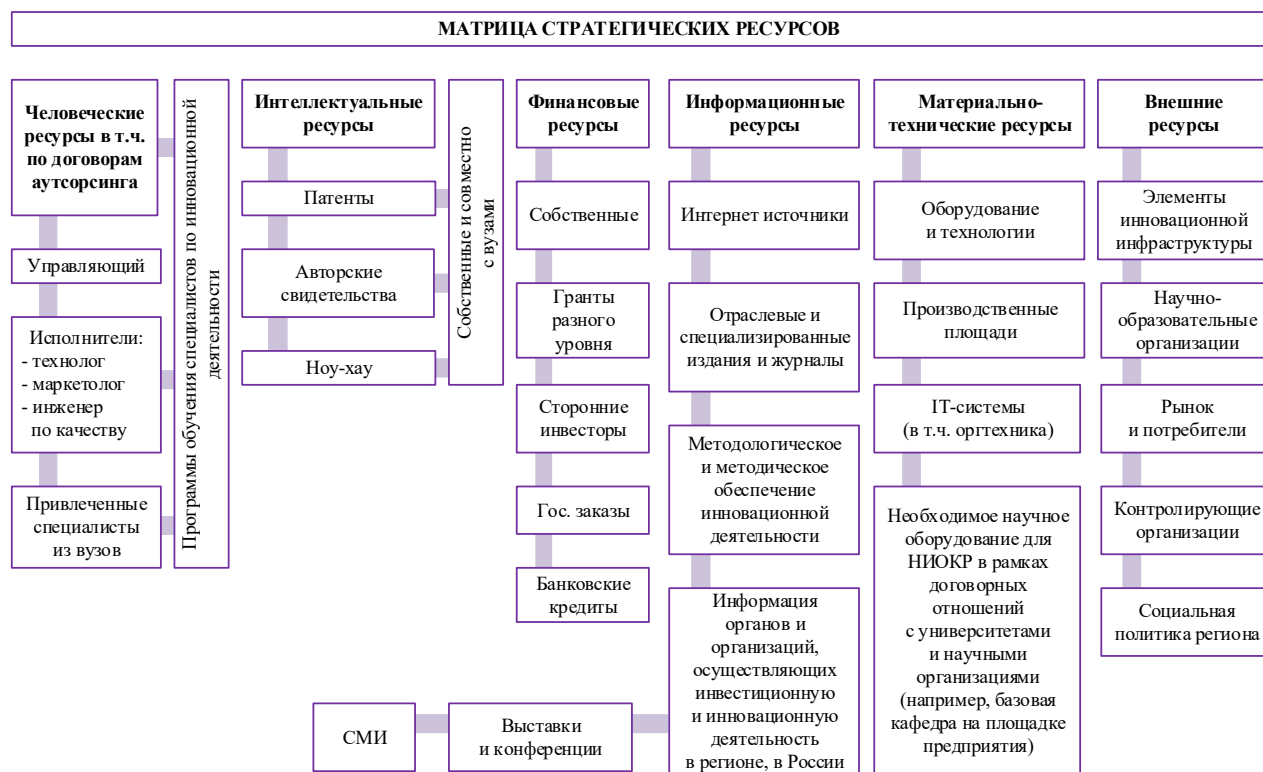


Рисунок 1. Матрица стратегических ресурсов для процесса реструктуризации

Figure 1. Strategic resource matrix for the restructuring process

ваает поиск новых подходов с учетом специфики предприятий, которые, с одной стороны, не относятся к высокотехнологичным, с другой – имеют важную социально-экономическую значимость в развитии страны. Многогранность предприятий общественного питания не позволяет разработать унифицированную методику оценки. Ряд исследователей предлагает различные методы оценки конкурентоспособности предприятий общественного питания, хотя их результаты не в полной мере характеризуют перспективы инновационного развития. В исследовании Т. В. Крапивы показано, что о готовности к инновационной деятельности предприятий общественного питания можно говорить в том случае, если его конкурентоспособность составляет не менее 75 %. В этой ситуации целесообразно разработать план реструктуризации с выработкой сценариев ее проведения. Начальным этапом переходного периода для предприятий общественного питания является анализ перспектив развития (SWOT-анализ деятельности предприятия и его кадрового состава, финансовый анализ, мониторинг внешней среды и др.). Наличие перспектив и их оценка дают основания для перехода на следующий этап – принятие решения о реструктуризации и распределение функций между подразделениями и ответственными исполнителями.

Выводы

Пространственная и отраслевая неравномерность инновационного развития вызывает необходимость проведения исследований и выявления причин сложившейся ситуации в малом бизнесе. Аудит состояния предприятий общественного питания с учетом специфики деятельности позволит не только оценить их уровень конкурентоспособности, но и показать возможности и перспективы стратегического развития. При принятии решения о разработке и внедрении стратегии инновационного развития предприятий общественного питания целесообразен переходный период с элементами реструктуризации предприятия. Процесс реструктуризации должен включать в себя этапы: создание рабочей группы и распределение обязанностей среди участников с учетом сформированных (формируемых) компетенций; оценка перспектив; выявление и систематизация стратегических ресурсов для эффективности реализации поставленных целей и задач; выбор стратегии развития с учетом результатов оценки инновационного потенциала. Члены рабочей группы должны пройти подготовку по программам инновационного менеджмента. Эффективность процессов реструктуризации предприятия зависит от активности его взаимодействия с участниками инновационной деятельности в регионе.

Критерии авторства

Л. А. Маюрникова – руководила исследованием, разработала его концепцию и методологию и проводила консультации. А. А. Кокшаров – проводил анализ деятельности предприятий общественного питания с целью выявления достоинств и недостатков перспектив развития. Т. В. Крапива – установила граничные условия сбора информации для написания обзора литературы, обозначила направления поиска литературных источников по исследуемой проблеме, выполнила коррекцию рукописи до ее подачи в редакцию. А. И. Петкович – провела обзор литературных источников по исследуемой проблеме и выполнила коррекцию рукописи до ее подачи в редакцию. В. О. Мешков – провел анализ понятийного аппарата по теме исследований, изложенных в литературных источниках. Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

L.A. Mayurnikova supervised the research, developed the concept and methodology, and provided consultations. A.A. Koksharov analyzed the activities of catering enterprises and identified their advantages and disadvantages. T.V. Krapiva set the boundary conditions for collecting review data, supervised the review, and edited the manuscript. A.I. Petkovich reviewed the scientific literature and proofread the manuscript. V.O. Meshkov analyzed the sources for terminology. All the authors took equal part in writing and share equal responsibility for any potential plagiarism.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Gusev Yu, Polovova T, Pinsky A. Digital innovations of public catering enterprises: the need and opportunities. SPBPU IDE '21: Proceedings of the 3rd International Scientific Conference on Innovations in Digital Economy; 2021; St. Petersburg. St. Petersburg: SPBPU; 2021. p. 356–362. <https://doi.org/10.1145/3527049.3527087>
2. El Bilali H, Strassner C, Ben Hassen T. Sustainable agri-food systems: Environment, economy, society, and policy. Sustainability. 2021;13(1). <https://doi.org/10.3390/su13116260>
3. Borsellino V, Schimmenti E, El Bilali H. Agri-food markets towards sustainable patterns. Sustainability. 2020;12(6). <https://doi.org/10.3390/su12062193>
4. Belyaeva M, Kitova O, Popov A, Chernikova E. Innovative technologies in food production processes. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;937. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/937/3/032044>
5. Thomlinson NB. Methods of assessment and forecasting of innovative development in the USA: Regional analysis. American Economic Journal: Macroeconomics. 2020;10(4):170–192.
6. Yeates NH, Garner BJ. Management of innovative development of States and regions of the United States: A systematic approach. Administrative Science Quarterly. 2017;62(3):420–442.
7. Kottman GA, Harper RZ. Distribution of scientific personnel across the United States: Statistical analysis of social and economic indicators. American Economic Review. 2019;109(3):442–468.
8. Kurakin MS, Ozherel'eva AV, Motyeva OG, Krapiva TV. A new approach to the development of food products. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(3):434–448. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-434-448>
9. Novoselov SV, Mayurnikova LA. Innovative project management: development and practical implementation of innovative projects in the field of nutrition. Parts I and II. St. Petersburg: GIORД; 2021. 400 p. (In Russ.). [Новоселов С. В., Маюрникова Л. А. Управление инновационными проектами: разработка и практическая реализация инновационных проектов в сфере питания. Части I и II. СПб.: ГИОРД, 2021. 400 с.]
10. Komkov NI, Kulakin GK. Effect of innovative and technological activity of organizations on the volume of production of innovative goods and the growth of labor productivity. Studies on Russian Economic Development. 2020;181(4):29–40. (In Russ.). [Комков Н. И., Кулакин Г. К. Влияние инновационной и технологической активности организаций на объемы выпуска инновационных товаров и рост производительности труда // Проблемы прогнозирования. 2020. Т. 181. № 4. С. 29–40.]
11. Komkov NI. Scientific and technological development: limitations and opportunities. Studies on Russian Economic Development. 2017;164(5):11–21. (In Russ.). [Комков Н. И. Научно-технологическое развитие: ограничения и возможности // Проблемы прогнозирования. 2017. Т. 164. № 5. С. 11–21.]
12. Gornikov NV, Mayurnikova LA, Novoselov SV, Krapiva TV, Koksharov AA. Innovative environment in public catering. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(1):70–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-70-78>

13. Kartashova EN, Abramova EYu. Assessment of enterprise's innovative potential. *Economy and Business: Theory and Practice*. 2018;(11–1):117–121. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2411-0450-2018-10128>
14. Smerichevska S, Miahkykh I, Yeletskykh S, Borysova S, Bryzhnichenko V. Financial and economic narratives for evaluation of innovative potential of enterprises. *Naukovyi Visnyk Natsionalnoho Hirnychoho Universytetu*. 2022;(1):145–152.
15. Dolinskaya AYU. Methodology of the estimation of the innovative potential of the enterprise based on the integrated indicator. *Russian Journal of Entrepreneurship*. 2018;19(5):1723–1738. (In Russ.). <https://doi.org/10.18334/rp.19.5.39061>
16. Abel ZT. Innovation potential of individual states of the Midwest. *Journal of Economic Perspectives*. 2017;31(1):177–208.
17. Bogge DS. Approaches to the analysis of innovation processes in the North-East of the United States. *American Economic Review*. 2018;108(9):1214–1237.
18. Rakhimzoda MS. Restructuring of enterprise management systems and the algorithm of its implementation. *State Management*. 2021;50(1):88–97. (In Russ.). [Рахимзода М. С. Реструктуризация систем управления предприятий и алгоритм его осуществления. Реструктуризация систем управления предприятием и алгоритм его выполнения // Государственное управление. 2021. Т. 50. № 1. С. 88–97.].
19. Volotskoy AA. Restructuring as a optimization mechanism of enterprise activity. *Economical and Social-Humanitarian Research*. 2021;29(1):6–10. (In Russ.). [Волоцкой А. А. Реструктуризация как механизм оптимизации деятельности предприятия // Экономические и социально-гуманитарные исследования. 2021. Т. 29. № 1. С. 6–10.].
20. Ivershin VS. The development of the US economy. Relevant issues of scientific and practical activities: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference; 2021; Kazan. Kazan: NITS Vektor razvitiya; 2021. p. 201–204. (In Russ.). [Ивершин В. С. Развитие экономики США // Актуальные проблемы научно-практической деятельности: Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции. Казань, 2021. С. 201–204.].
21. Barsukova MN, Bendik NV. Regional innovative training area of higher education staff for digital transformation of agriculture in the Irkutsk region. *Actual Issues of Agrarian Science*. 2021;(40):44–53. (In Russ.). [Барсукова М. Н., Бендик Н. В. Региональная инновационная площадка подготовки кадров высшего образования для цифровой трансформации сельского хозяйства Иркутской области // Актуальные вопросы аграрной науки. 2021. № 40. С. 44–53.].
22. Bogdanova EL, Brovka GM, Maximova TG, Nikolaev AS. Digital culture, skills of innovative entrepreneurship and intellectual property management: upcoming competences. *Innovations*. 2019;252(10):101–109. (In Russ.). [Цифровая культура, навыки инновационного предпринимательства и управления интеллектуальной собственностью – компетенции будущего / Е. Л. Богданова [и др.] // Инновации. 2019. Т. 252. № 10. С. 101–109.].
23. Trifonova NV, Vlasova MS. Modern educational technologies in assessing the competence of engineering personnel. *Innovations*. 2021;270(4):74–80. (In Russ.). <https://doi.org/10.26310/2071-3010.2021.270.4.010>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2422>
<https://elibrary.ru/GXNVFU>

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

Peptides of Trypsin Hydrolyzate in Bovine Colostrum



Sergei L. Tikhonov^{1,*}, Natalia V. Tikhonova¹,
Khatam Kh. Tursunov², Irina G. Danilova³,
Vladimir A. Lazarev¹

¹ Ural State University of Economics , Yekaterinburg, Russia

² Andijan State Medical Institute , Andijan, Uzbekistan

³ Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences ,
Yekaterinburg, Russia

Received: 30.06.2022

Revised: 08.09.2022

Accepted: 04.10.2022

*Sergei L. Tikhonov: tikhonov75@bk.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Natalia V. Tikhonova: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

Irina G. Danilova: <https://orcid.org/0000-0001-6841-1197>

Vladimir A. Lazarev: <https://orcid.org/0000-0002-0470-7324>

© S.L. Tikhonov, N.V. Tikhonova, Kh.Kh. Tursunov,
I.G. Danilova, V.A. Lazarev, 2023



Abstract.

Bovine colostrum contains biologically active substances, e.g., immunoglobulins, peptides, and cytokines, which makes it a logical component of numerous functional products. Colostrum peptides also possess antimicrobial activity. This bioavailability increases during colostrum fermentation with proteolytic enzymes. The research objective was to describe peptides isolated from the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum and to evaluate their antimicrobial and antifungal properties. The supernatant of trypsin hydrolyzate of bovine colostrum was isolated by centrifugation at 3900 rpm for 7 min. The supernatant was separated by preparative chromatography. Its peptide composition was determined on a MALDI-TOF mass spectrometer, while the protein sequences were deciphered using the Mascot database. Proteins were precipitated with ammonium sulfate, and the antimicrobial activity was measured by the disk-diffusion method against gram-positive and gram-negative bacteria and diploid fungi. Strains were cultivated on a thick LB nutrient medium at 37°C. The antimicrobial activity was defined experimentally on Wistar rats infected intraperitoneally with *Salmonella enteritidis* 92.

The trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum revealed four peptides, one of which belonged to short peptides, while the remaining three belonged to polypeptides. The isolated peptides had different molecular weights of 8.4, 6.5, 13.0, and 8 kDa. The enzymatic hydrolyzate proved bactericidal against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* and demonstrated antifungal activity against *Candida albicans*. When rats infected with *S. enteritidis* 92 were administered with trypsin hydrolyzate, it promoted their survival, decreased LD₅₀, and increased the mean day of death period from 2 to 4 days.

The research proved the antimicrobial effect of colostrum peptides and suggested their immunotropic properties. The peptides obtained from the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum can be recommended for functional food industry as part of antimicrobial products.

Keywords. Colostrum, milk protein, enzyme, hydrolysis, antimicrobial activity, antifungal activity, biologically active substances

For citation: Tikhonov SL, Tikhonova NV, Tursunov KhKh, Danilova IG, Lazarev VA. Peptides of Trypsin Hydrolyzate in Bovine Colostrum. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):150–158. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2422>

Пептиды трипсинового гидролизата молозива коров



С. Л. Тихонов^{1,*}, Н. В. Тихонова¹, Х. Х. Турсунов²,
И. Г. Данилова³, В. А. Лазарев¹

¹ Уральский государственный экономический университет^{ROR}, Екатеринбург, Россия

² Андижанский государственный медицинский институт^{ROR}, Андижан, Узбекистан

³ Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук^{ROR}, Екатеринбург, Россия

Поступила в редакцию: 30.06.2022

Принята после рецензирования: 08.09.2022

Принята к публикации: 04.10.2022

*С. Л. Тихонов: tihonov75@bk.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Н. В. Тихонова: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

И. Г. Данилова: <https://orcid.org/0000-0001-6841-1197>

В. А. Лазарев: <https://orcid.org/0000-0002-0470-7324>

© С. Л. Тихонов, Н. В. Тихонова, Х. Х. Турсунов,
И. Г. Данилова, В. А. Лазарев, 2023



Аннотация.

Молозиво коров из-за содержания биологически активных веществ, в частности иммуноглобулинов, пептидов и цитокинов, является перспективным сырьем для производства продуктов функциональной направленности. Пептиды молозива обладают антимикробным действием. Биодоступность действующих начал молозива повышается при его ферментации протеолитическими ферментами. Цель исследования – выделение и характеристика пептидов надосадочной жидкости трипсинового гидролизата молозива коров, а также оценка их антимикробной и противогрибковой активностей. Для эксперимента использовали надосадочную жидкость трипсинового гидролизата молозива коров, выделенную методом центрифугирования при 3900 об/мин в течение 7 мин. Надосадочную жидкость разделяли методом препаративной хроматографии. Пептидный состав надосадочной жидкости ферментативного гидролизата определяли на МАЛДИ-ТОФ масс-спектрометре, расшифровку белковых последовательностей проводили с помощью базы данных Mascot. Для изучения белкового состава надосадочной жидкости гидролизата проводили осаждение белков сульфатом аммония. Антимикробную активность определяли диско-диффузионным методом. Культивирование штаммов бактерий проводили на плотной питательной среде LB при температуре 37 °С. Для оценки противомикробного действия пептидов провели эксперимент на крысах линии Вистар, инфицированных внутрибрюшинно *Salmonella enteritidis* 92.

В надосадочном трипсиновом гидролизате молозива коров выделили 4 пептида, один из которых относится к коротким пептидам, три – к полипептидам. Выделенные пептиды имели различную молекулярную массу – 8,4, 6,5, 13,0 и 18 кДа. Установлено, что ферментативный гидролизат надосадочной жидкости молозива коров обладал бактерицидным действием к грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* и грамположительной бактерии *Bacillus subtilis*, а также антигрибковой активностью против *Candida albicans*. Введение крысам, инфицированным *S. enteritidis* 92, внутрь трипсинового гидролизата надосадочной жидкости молозива коров способствовало их выживаемости, снижению ЛД₅₀ и увеличению среднего срока гибели животных с 2 до 4 суток.

Полученные данные свидетельствуют об антимикробном действии пептидов молозива и возможных иммунотропных свойствах. Практическая значимость проведенного исследования заключается в перспективности использования пептидов надосадочной жидкости трипсинового гидролизата молозива коров для производства продуктов функциональной направленности с антимикробными свойствами.

Ключевые слова. Молозиво, молочный белок, фермент, гидролиз, антимикробная активность, противогрибковая активность, биологически активные вещества

Для цитирования: Пептиды трипсинового гидролизата молозива коров / С. Л. Тихонов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 150–158. (На англ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2422>

Introduction

Colostrum is a complex biological fluid. Główka & Woźniewicz believe that bovine colostrum is beneficial for the digestive, immune, and neuroendocrine systems and can boost physical performance in general

because it contains growth factors, immunoglobulins, peptides, cytokines, lactoferrin, and hormones [1]. Athletes consume colostrum during high-intensity training because it is rich in immunoglobulins and can increase the buffer capacity of muscles. However,

no scientific publications feature the exact recommended doses of colostrum that can increase physical performance.

Van Hese *et al.*, Sukhikh *et al.*, and Kharitonov *et al.* proved that dairy products and colostrum have a high content of immunoglobulins, minerals, vitamins, growth factors, and immune cells, as well as microRNAs [2–4]. A microRNA is a short non-coding RNA molecule that regulates post-transcriptional gene expression. MicroRNAs act as key regulators of various biological and developmental processes. Bovine colostrum MicroRNAs are signaling molecules. They are located inside extracellular vesicles that protect them from the harsh conditions of the gastrointestinal tract. As a result, they can get into the small intestine, where they are absorbed and enter the bloodstream. MicroRNAs stimulate the viability, proliferation, and activity of intestinal epithelial stem cells. In addition, they affect the entire immune system by differentiating B- and T-cells and controlling the production of interleukin by macrophages [2].

Chandwe & Kelly reported the anti-inflammatory activity of bovine colostrum in bowel diseases and infectious diarrhea [5].

Menchetti *et al.* and Playford *et al.* published *in vitro* and *in vivo* evidence of the beneficial effect of bovine colostrum on gastrointestinal diseases [6, 7].

More than half of all children with autism spectrum disorder have gastrointestinal comorbidities, e.g., chronic constipation, diarrhea, irritable bowel syndrome, etc. The severity of these symptoms correlates with the degree of gastrointestinal dysbiosis in the patient. Sanctuary *et al.* combined a probiotic (*Bifidobacterium infantis*) with a bovine colostrum product as a source of prebiotic oligosaccharides [8]. They assessed the efficacy of this preparation and the state of the gastrointestinal tract, microbiome, and immune factors in young gastrointestinal patients with autism spectrum disorder. The patients that received both preparations demonstrated a lower incidence of irritable gastrointestinal tract disorder, dysbiosis, and certain behavioral abnormalities. This improvement probably resulted from a lower production rate of IL-13 and TNF- α .

Bovine colostrum was reported to have a greater bioavailability when fermented with proteolytic enzymes, which increase the peptide yield. Jørgensen *et al.* tested the biological activity of peptides isolated from bovine colostrum on mouse intestinal cells (mIC(c12)) [9]. After protease treatment, colostrum peptides became more bioactive. They detected bioactive colostrum peptides mainly in the casein fraction (MALDI MS/MS).

Jørgensen *et al.* explained the beneficial effect of colostrum consumption by the presence of biologically active peptides obtained from intact proteins [9]. According to Korhonen, these peptides can be released

during gastrointestinal digestion or colostrum fermentation [10]. Therefore, enzymatic hydrolysates of bovine colostrum are a potential source of biologically active native proteins and peptide fractions to be included in functional foods [11, 12].

Nowadays, dairy peptides are more than a quintessence of healthy nutrition: they have gained therapeutic value as well. For instance, colostrum peptides appeared to inhibit SARS-CoV2 [13]. Fermented colostrum, raw milk, and microfiltered milk from cows vaccinated against SARS-CoV-2 may even provide a short-term protection against SARS-CoV-2 [14]. Colostrum peptides also demonstrated a strong antimicrobial effect [15].

Enzymatic protein hydrolysis based on proteolytic enzyme preparations can be an effective production method for obtaining bioactive peptides [13]. Animal enzymes, e.g., trypsin, often participate in hydrolysis [14].

This research isolated peptides from the tryptic hydrolyzate supernatant of bovine colostrum to be described and tested for antimicrobial and antifungal activities.

Study objects and methods

We obtained trypsin hydrolyzate of bovine colostrum by the following technology. First, we removed the fat fraction by centrifugation at 3900 rpm for 10 min in a SM-12-06 centrifuge (TAGLER, Russia). After that, we introduced trypsin (Samson-Med, Russia) in the ratio of 0.15% to the colostrum weight into a phosphate buffer solution at pH 7.4. The solution consisted of disodium hydrogen phosphate dodecahydrate (Rosspolymer, Russia). The hydrolysis lasted for 12 h at 36°C. Eventually, the temperature was brought up to 75°C to inactivate the enzyme. Table 1 summarizes the physicochemical parameters of trypsin hydrolyzate of bovine colostrum.

The trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum was isolated by centrifugation at 3900 rpm for 7 min.

The supernatant was separated by preparative chromatography on silica gel, and the isocratic ratio of eluent PBS to EtOH was 9:1. The peptide composition of

Table 1. Physicochemical parameters of trypsin hydrolyzate of bovine colostrum

Таблица 1. Физико-химические показатели трипсинового гидролизата молозива коров

Indicator	Property
Mass fraction of protein, %	13.18 ± 0.09
Mass fraction of fat, %	0.15 ± 0.01
Mass fraction of ash, %	9.50 ± 0.02
Mass fraction of solids, %	24.17 ± 0.42
Density, g/cm ³	1.05 ± 0.03
Acidity, °T	4.78 ± 0.12

the trypsin hydrolyzate supernatant was determined on a MALDI-TOF mass spectrometer, while the protein sequences were deciphered using the Mascot database.

Proteins were precipitated with ammonium sulfate to allow for a more complete study of the protein composition of the hydrolyzate supernatant. After sedimentation, the samples were centrifuged at 3900 rpm for 7 min to collect the protein precipitate. The protein precipitate was purified from salts and inorganic impurities on a column with Amberlit XAD2 with eluent for buffer A of 10 mM (CH_3COONa), pH = 6, 10 mM (CH_3COONa) pH = 4, 10 mM (KCl/HCl), pH = 1.5. The salt gradient for buffer A+ was 0.2, 0.4, and 1% NaCl. We used the Bradford method to test fractions of each sample for protein. The resulting peptide fractions were separated by preparative chromatography on silica gel. The isocratic ratio of eluent PBS and EtOH was 9:1. The separation resulted in the mpT fraction, which was studied using the MALDI-TOF method.

We used the disk-diffusion method to define the antimicrobial activity of the trypsin hydrolyzate supernatant on gram-positive *Bacillus subtilis* and gram-negative *Escherichia coli*.

The strains were cultivated on solid and liquid media at 37°C. The solid LB nutrient medium consisted of 1.5% agar, 1% tryptone, 0.5% yeast extract, and 1% NaCl. The liquid LB nutrient medium included 1% tryptone, 0.5% yeast extract, and 1% NaCl.

The diffusion method was applied to determine the antimicrobial activity of the hydrolyzate. The test strain was sown on a lawn plate with agar nutrient medium, and the supernatant was placed on the lawn. A paper disk with a nutrient medium served as a control, and a disk with a standard antibiotic (Kanamycin) served as reference. The petri dishes were incubated at the optimal temperature for each test strain for

24.0 ± 0.5 h. The results depended on the presence and size (mm) of a microorganism-free area around the disk.

The antimicrobial activity of the peptides was tested on nine groups of Wistar rats. Each group included four three-month-old males. Group 1 consisted of control animals that received 0.4 mL of water per day intragastrically for 7 days. Groups 2, 3, 4, and 5 received 0.3 mL of the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum every day for 7 days. One day after the introduction, groups 2-9 were injected intraperitoneally with a daily culture of *Salmonella enteritidis* 92. Groups 2 and 5 received 5 CFU, groups 3 and 6 – 100 CFU, groups 4 and 8 – 500 CFU, groups 5 and 9 – 5000 CFU. The rats were observed for 21 days after the infection. The efficacy of the preparation was defined based on the LD_{50} number of survivors and the mean day pf death period.

All animal procedures complied with the European Communities Council Directive 2010/63/EU on the welfare of experimental animals and were approved by the Ethics Committee of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

Results and discussion

The fractionated supernatant of trypsin hydrolyzate (T) yielded three peptide fractions with different molecular weights: TT1, TT2, and TT3. Figure 1 shows a chromatogram for peptides.

Figures 2 show the mass spectra of peptide fractions TT1, TT2, and TT3 of the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum.

Figures 2 demonstrate quite clearly that the peptides differed in molecular weight.

The molecular weight differed as follows: TT1 – 8.4 kDa, TT2 – 6.5 kDa, and TT3 – 13.0 kDa.

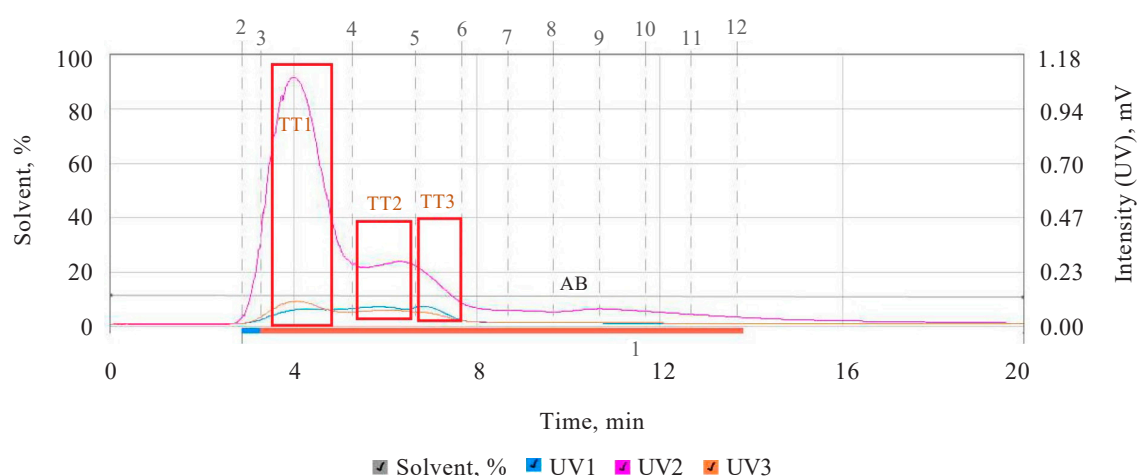


Figure 1. Supernatant of trypsin hydrolyzate of bovine colostrum: peptides T

Рисунок 1. Хроматограмма образца Т надосадочной жидкости трипсинового гидролизата молозива коров

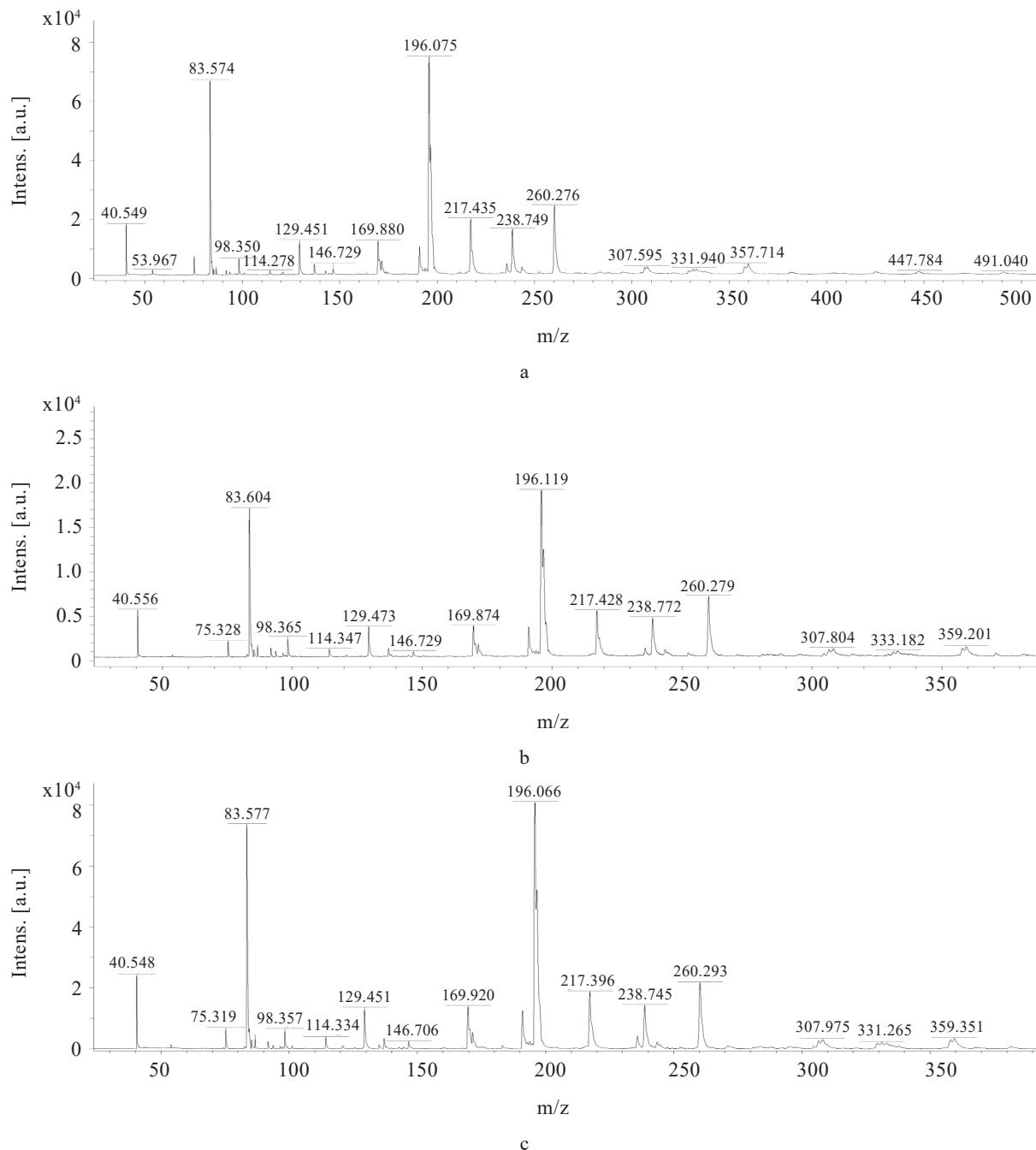


Figure 2. Mass spectrum: Samples TT1 (a), TT (b), and TT3 (c)

Рисунок 2. Масс-спектры образцов TT1 (a), TT (b) и TT3 (c)

Table 2 shows the amino acid sequence for each sample. Peptide TT3 consisted of nine amino acids (nonapeptides) and belonged to short peptides. Peptides TT1 and TT2 had 17 amino acids and belonged to polypeptides. Ko *et al.* identified TT1 peptide as the NCI_CGAP_Brn23 peptide *Homo sapiens* c DNA clone [17]. In fact, it is similar to TR: O35085 O35085 ARX HOMEOPROTEIN. This peptide is believed to

affect the prenatal development of the central nervous system. Peptides TT2 and TT3 have never been identified.

This research featured the peptide composition of proteins precipitated with ammonium sulfate in the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum.

Figure 3 demonstrates a chromatogram of the peptide composition of proteins precipitated by ammonium sulfate of hydrolysate trypsin supernatant.

Table 2. Protein sequences of peptide samples TT1, TT2, and TT3 of trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum

Таблица 2. Белковые последовательности пептидов TT1, TT2 и TT3 надосаочной жидкости трипсинового гидролизата молозива коров

Peptide sample	Amino acid sequence
TT1	EGKSPRQ CLK SR G RK GY
TT2	PK CD YKRRS GP ALR TAK
TT3	LARKTSK IK

Note: A – alanine; D – aspartic acid; Q – glutamine; E – glutamic acid; G – glycine; I – isoleucine; L – leucine; K – lysine; P – proline; S – serine; T – threonine; Y – tyrosine; R – arginine; D – aspartic acid.

Примечание: А – аланин; D – аспарагиновая кислота; Q – глутамин; E – глутаминовая кислота; G – глицин; I – изолейцин; L – лейцин; K – лизин; P – пролин; S – серин; T – треонин; Y – тирозин; R – аргинин; D – аспаргиновая кислота.

When we precipitated supernatant proteins of bovine trypsin hydrolysate with ammonium sulfate, it yielded a TT4 peptide with the following amino acid sequence: EK LAKNK LAR GLK RK. The peptide had a molecular weight of 18.0 kDa and was identified as CO950255 protein (*sus scrofa*) with unknown functions.

We isolated four peptides: one short peptide and three polypeptides. All the samples had different molecular weights.

Our data were consistent with those obtained by Poirier *et al.*, who detected biologically active peptides in the trypsin hydrolyzate of bovine colostrum [18]. They stimulated the proliferative activity of the T84 human intestinal epithelial cell line with pepsin and trypsin hydrolyzate of bovine colostrum. Therefore, bovine colostrum peptides are potentially

bioactive substances that are able to restore the gastrointestinal tract during infections [19].

Birkemo *et al.* were the first to describe peptides with antimicrobial activity in fresh bovine colostrum [20]. They used chromatography to isolate three peptides of fresh colostrum and described their antimicrobial activity against *Escherichia coli* DH5alpha. The first two peptides were caseicin 17 and caseicin 15. They were identical to the sequences at the C-terminus of bovine beta-casein (YQEPVLGPVRGPFPIIV and YQEPVLGPVRGPFPI). Caseicin 17 and caseicin 15 had molecular weights of 1881.00 and 1669.06 Da, respectively. The third peptide was isracidin with a mass of 2763.80 Da and the sequence of RPKHPIKHQGLPQEVNLNENLLRF. Caseicin 17 and caseicin 15 shared the same minimal inhibition concentrations against *E. coli* DPC6053: 0.4 mg/mL. Structural modeling showed that the amphiphilic structures also had identical inhibitory and structural properties. The minimal inhibition concentration of isracidin against *E. coli* DPC6053 was 0.2 mg/mL [20].

In this research, we studied the antimicrobial properties of the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum on gram-positive and gram-negative bacteria, as well as on the *Candida albicans* diploid fungus. *E. coli* and *Bacillus subtilis* were selected as test bacterial strains.

Table 3 summarizes the antimicrobial and antifungal activity of the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum.

Table 3 illustrates the effect of trypsin hydrolyzate on the survival of Wistar rats infected with *Salmonella enteritidis* 92.

According to Table 4, the trypsin hydrolyzate had a bactericidal effect against gram-negative *E. coli* (lysis

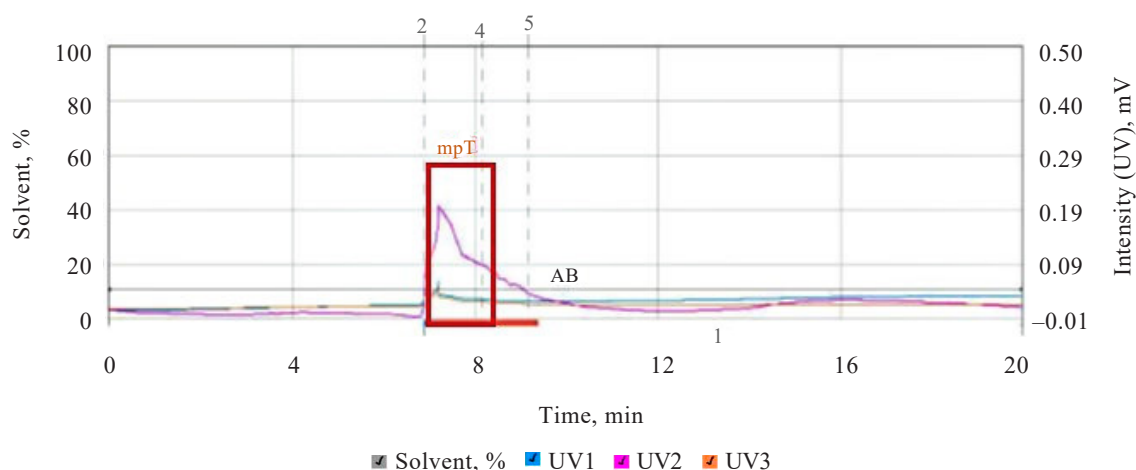


Figure 3. Peptides during the precipitation of proteins from trypsin hydrolysate supernatant of bovine colostrum with ammonium sulfate

Рисунок 3. Хроматограмма пептидов при осаждении сульфатом аммония белков надосаочной жидкости трипсинового гидролизата молозива коров

zone diameter – 3 mm) and gram-positive *B. subtilis* (lysis zone diameter – 5 mm), as well as antifungal activity against *C. albicans*.

Table 4 demonstrates the effect of trypsin hydrolyzate on the survival of rats infected with *S. enteritidis* 92.

Rats that received trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum had a better survival rate against *S. enteritidis* 92. Therefore, the colostrum peptides possessed antimicrobial properties. Group 4 rats, which received 500 CFU of *S. enteritidis*, had two survivors (50%), while Group 7 had only one (25%). The LD₅₀ for Wistar rats with *S. enteritidis* was 100 CFU, but those injected with trypsin hydrolyzate had a LD₅₀ of 500 CFU of *S. enteritidis*. The mean day of death value was lower by 50% in the infected animals treated with hydrolysate. It was two days in Group 9 infected with 5000 CFU of *S. enteritidis*. In Group 5, where the rats received the same dose of *S. enteritidis* and were treated with hydrolysate, it was three days.

Our results were consistent with the data obtained by Sears *et al.*, who proved that bovine colostrum is a practical and effective prophylactic against gastrointestinal diseases [21]. Travelan is a commercial drug known to prevent diarrhea caused by enterotoxigenic *E. coli*. It possesses official clinical efficacy against *Salmonella*. However, its immune components and antimicrobial activity are yet to be identified [21].

Our research revealed four antimicrobial peptides in the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine

colostrum. They possessed bioprotective properties against pathogens, which was consistent with other studies on the antimicrobial and immunotropic effects of bovine colostrum. Anderson *et al.* argue that bovine colostrum increases the protective barrier of the small intestine and positively affects colon peristalsis [22]. However, for colostrum to be used as a functional product, it must remain bioactive after processing. The integrity of the intestinal protective barrier and the antimicrobial properties of colostrum increased because of the short peptides that were released during enzymatic processing. In [22], proteolytic enzymes had a beneficial effect on the integrity of the small intestine barrier, which is consistent with our research results. Indeed, the peptides can be used to develop functional foods aimed at improving intestinal health.

Playford *et al.* reported that orally-administered bioactive peptides have potential clinical benefits [23]. However, their applicability is limited by the proteolysis with gastric and pancreatic enzymes. As oral antimicrobial agents, bioactive peptides have to be combined with substances that ensure their proper digestion. In [23], the authors turned to casein and/or soy flour with high protease inhibiting activity to provide the stability of bovine colostrum peptides in laboratory rats. Soy and, to a lesser extent, casein increased the biostability of colostrum peptides in relation to digestive enzymes.

Table 3. Antimicrobial and antifungal activity of the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum

Таблица 3. Антимикробная и противогрибковая активность надосадочной жидкости трипсинового гидролизата молозива коров

Sample	Lysis diameter, mm		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
Trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum	3	5	7
Control	0	0	0
Antibiotic	25	26	0

Table 4. Effect of trypsin hydrolyzate on the survival of rats infected with *Salmonella enteritidis* 92

Таблица 4. Влияние трипсинового гидролизата надосадочной жидкости молозива коров на выживаемость крыс линии Вистар, зараженных *Salmonella enteritidis* 92

Group	Surviving animals, g	Mean day of death, days
Group 1 (control)	4	–
Group 2 (5 CFU <i>Salmonella enteritidis</i> + hydrolyzate)	4	–
Group 3 (100 CFU <i>Salmonella enteritidis</i> + hydrolyzate)	4	–
Group 4 (500 CFU <i>Salmonella enteritidis</i> + hydrolyzate)	2	4
Group 5 (5000 CFU <i>Salmonella enteritidis</i> + hydrolyzate)	0	3
Group 6 (5 CFU <i>Salmonella enteritidis</i>)	4	–
Group 7 (100 CFU <i>Salmonella enteritidis</i>)	2	2
Group 8 (500 CFU <i>Salmonella enteritidis</i>)	1	2
Group 9 (5000 CFU <i>Salmonella enteritidis</i>)	0	2

Conclusion

We isolated peptides from the trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum and investigated their antimicrobial and antifungal activities. The trypsin hydrolyzate was preliminarily fractionated by centrifugation. Three peptide fractions (TT1, TT2, and TT3) differed in amino acid sequences and molecular weights. One of the selected peptides was classified as short because it had nine amino acids in its composition, while the other two belonged to polypeptides and consisted of 17 amino acids. Sample TT1 was identified as the NCI_CGAP_Brn23 peptide, which is known to affect prenatal development of the central nervous system. Peptides TT2 and TT3 were not identified. We isolated a polypeptide with a molecular weight of 18.0 kDa from the ammonium sulfate-precipitated trypsin hydrolyzate supernatant of bovine colostrum. The peptide was identified as CO950255 protein suscrofa, but its functions remained unknown. The peptides demonstrated activity against gram-positive bacteria *Escherichia coli*, gram-negative bacteria *Bacillus subtilis*, and diploid fungus *Candida albicans*. We infected laboratory Wistar rats with various doses of

Salmonella enteritidis 92, and the orally-administered trypsin hydrolyzate promoted their survival, as well as reduced the LD₅₀ and the mean day of death period. The research proved the antimicrobial and immunotropic properties of the peptides obtained from the trypsin hydrolyzate of bovine colostrum.

Contribution

All authors provided critical feedback and helped shape the research, analysis and manuscript.

Conflict of interest

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

Критерии авторства

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References/Список литературы

1. Głowska N, Woźniewicz M. Potential use of *Colostrum bovinum* supplementation in athletes – A review. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 2019;18(2):115–123. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2019.0654>
2. Van Hese I, Goossens K, Vandaele L, Opsomer G. *Invited review*: MicroRNAs in bovine colostrum – Focus on their origin and potential health benefits for the calf. *Journal of Dairy Science*. 2020;103(1):1–15. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16959>
3. Sukhikh SA, Astakhova LA, Golubcova YuV, Lukin AA, Prosekova EA, Milent'eva IS, *et al.* Functional dairy products enriched with plant ingredients. *Foods and Raw Materials*. 2019;7(2):428–438. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-428-438>
4. Kharitonov VD, Asafov VA, Iskakova EL, Tankova NL, Halavach TM, Kurchenko VP. Quality control of colostrum and protein calf milk replacers. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(1):188–195. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-188-195>
5. Chandwe K, Kelly P. Colostrum therapy for human gastrointestinal health and disease. *Nutrients*. 2021;13(6). <https://doi.org/10.3390/nu13061956>
6. Menchetti L, Traina G, Tomasello G, Casagrande-Proietti P, Leonardi L, Barbato O, *et al.* Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases. *Frontiers in Bioscience-Scholar*. 2016;8(2):331–351. <https://doi.org/10.2741/S467>
7. Playford RJ, Weiser MJ. Bovine colostrum: Its constituents and uses. *Nutrients*. 2021;13(1). <https://doi.org/10.3390/nu13010265>
8. Sanctuary MR, Kain JN, Chen SY, Kalanetra K, Lemay DG, Rose DR, *et al.* Pilot study of probiotic/colostrum supplementation on gut function in children with autism and gastrointestinal symptoms. *PLoS ONE*. 2019;14(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210064>
9. Jørgensen ALW, Juul-Madsen HR, Stagsted J. Colostrum and bioactive, colostrum peptides differentially modulate the innate immune response of intestinal epithelial cells. *Journal of Peptide Science*. 2010;16(1):21–30. <https://doi.org/10.1002/psc.1190>
10. Korhonen HJ. Production and properties of health-promoting proteins and peptides from bovine colostrum and milk. *Cellular and Molecular Biology*. 2013;59(1):12–24.
11. Novoselova MV, Prosekov AY. Technological options for the production of lactoferrin. *Foods and Raw Materials*. 2016;4(1):90–101. <http://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-90-101>
12. Koroleva OV, Agarkova EYu, Botina SG, Nikolaev IV, Ponomareva NV, Melnikova EI, *et al.* Functional properties of fermented milk products with whey protein hydrolysates. *Dairy Industry*. 2013;(11):52–55. (In Russ.). [Функциональные свойства кисломолочных продуктов с гидролизатами сывороточных белков / О. В. Королёва [и др.] // Молочная промышленность. 2013. № 11. С. 52–55.]

13. Pradeep H, Najma U, Aparna HS. Milk peptides as novel multi-targeted therapeutic candidates for SARS-CoV2. *The Protein Journal*. 2021;40(3):310–327. <https://doi.org/10.1007/s10930-021-09983-8>
14. Rezaei Ahvanooei MR, Norouzian MA, Vahmani P. Beneficial Effects of vitamins, minerals, and bioactive peptides on strengthening the immune system against COVID-19 and the role of cow's milk in the supply of these nutrients. *Biological Trace Element Research*. 2021;200(11):4664–4677. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-03045-x>
15. Kütt M-L, Stagsted J. Caseins from bovine colostrum and milk strongly bind piscidin-1, an antimicrobial peptide from fish. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;70:364–372. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.063>
16. Shteinifer-Kuzmine A, Amsalem Z, Arif T, Zooravlov A, Shoshan-Barmatz V. Selective induction of cancer cell death by VDAC1-based peptides and their potential use in cancer therapy. *Molecular Oncology*. 2018;12(7):1077–1103. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12313>
17. Ko S-C, Kim D, Jeon Y-J. Protective effect of a novel antioxidative peptide purified from a marine *Chlorella ellipsoidea* protein against free radical-induced oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50(7):2294–2302. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.04.022>
18. Poirier K, Van Esch H, Friocourt G, Saillour Y, Bahi N, Backer S, et al. Neuroanatomical distribution of ARX in brain and its localisation in GABAergic neurons. *Molecular Brain Research*. 2004;122(1):35–46. <https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2003.11.021>
19. Morgan AJ, Riley LG, Sheehy PA, Wynn PC. The influence of protein fractions from bovine colostrum digested in vivo and in vitro on human intestinal epithelial cell proliferation. *Journal of Dairy Research*. 2014;81(1):73–81. <https://doi.org/10.1017/S0022029913000654>
20. Birkemo GA, O'Sullivan O, Ross RP, Hill C. Antimicrobial activity of two peptides casecidin 15 and 17, found naturally in bovine colostrum. *Journal of Applied Microbiology*. 2009;106(1):233–240. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03996.x>
21. Sears KT, Tennant SM, Reymann MK, Simon R, Konstantopoulos N, Blackwelder WC, et al. Bioactive immune components of anti-diarrheagenic enterotoxigenic *Escherichia coli* hyperimmune bovine colostrum products. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2017;24(8). <https://doi.org/10.1128/CVI.00186-16>
22. Anderson RC, Dalziel JE, Haggarty NW, Dunstan KE, Gopal PK, Roy NC. *Short communication*: Processed bovine colostrum milk protein concentrate increases epithelial barrier integrity of Caco-2 cell layers. *Journal of Dairy Science*. 2019;102(12):10772–10778. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16951>
23. Playford RJ, Weiser MJ, Marchbank T. Methods to improve efficacy of orally administered bioactive peptides using bovine colostrum as an exemplar. *PLoS ONE*. 2021;16(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253422>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2423>
<https://elibrary.ru/HDEAQY>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Изучение трансформации компонентного состава плодов яблони в сидр



А. А. Ширшова*^{ID}, Н. М. Агеева^{ID},
Е. В. Ульяновская^{ID}, Е. А. Чернуцкая^{ID}

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия^{ROR},
Краснодар, Россия

Поступила в редакцию: 01.09.2022

Принята после рецензирования: 22.09.2022

Принята к публикации: 04.10.2022

*А. А. Ширшова: anastasiya_1987@inbox.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-1428-5935>

Н. М. Агеева: <https://orcid.org/0000-0002-9165-6763>

Е. В. Ульяновская: <https://orcid.org/0000-0003-3987-7363>

Е. А. Чернуцкая: <https://orcid.org/0000-0001-5140-9891>

© А. А. Ширшова, Н. М. Агеева, Е. В. Ульяновская,
Е. А. Чернуцкая, 2023



Аннотация.

Сидр получают путем брожения сусла специальных (технических) сортов яблок. В Госреестр РФ селекционных достижений включено 476 сортов яблонь, некоторые из которых могут быть перспективными для производства сидра. Для выявления сортов яблок, наиболее подходящих для приготовления сидра, актуальным является изучение и анализ трансформации химических веществ яблочного сусла в процессе приготовления сидра.

Объектами исследования были выбраны 16 образцов яблочного сусла и сидра, полученные из яблок зарубежной и отечественной селекции. Для определения физико-химических, биохимических и органолептических показателей применяли стандартные методики, а также методы высокоэффективного капиллярного электрофореза и газовой хроматографии.

Установлено, что концентрации титруемых кислот, фенольных веществ, аскорбиновой и фенолкарбоновых кислот сусла варьировались в широких диапазонах в зависимости от сорта яблок. По завершении процесса брожения было отмечено снижение аскорбиновой кислоты в среднем на 76 %. Содержание фенолкарбоновых кислот увеличилось в сидре по отношению к суслу в среднем на 51 %. В сидрах обнаружили янтарную, щавелевую, молочную и уксусную кислоты, которых изначально не было в сусле. Было отмечено повышение концентрации аминокислот в среднем в 2 раза. По результатам дегустационной оценки выделили сидр из сорта Вирджиния, в сусле которого концентрация фенольных веществ была максимальной (1121,6 мг/дм³).

В ходе работы изучили трансформацию химических веществ сусла в процессе приготовления сидра. Лучшими характеристиками, в том числе органолептическими, отличались сидры из сортов яблок со сложным межвидовым происхождением и полученных комплексом методов полиплоидии и отдаленной гибридизации, а также с высокими концентрациями сахаров и фенольных веществ. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение сортов и форм с выделившимися происхождением и физико-химическими показателями с целью их возможной переработки в сидры, плодовые водки и кальвадосы.

Ключевые слова. Яблоки, селекция, сорт, брожение, сидр, сусло, химические вещества

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/100.

Для цитирования: Изучение трансформации компонентного состава плодов яблони в сидр / А. А. Ширшова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 159–167. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2423>

Transformation of Apple Composition during Cider Production



Anastasia A. Shirshova*, Natalia M. Ageyeva, Elena V. Ulyanovskaya, Evgenia A. Chernutskaya

North-Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture and Winemaking, Krasnodar, Russia

Received: 01.09.2022

Revised: 22.09.2022

Accepted: 04.10.2022

*Anastasia A. Shirshova: anastasiya_1987@inbox.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-1428-5935>

Natalia M. Ageyeva: <https://orcid.org/0000-0002-9165-6763>

Elena V. Ulyanovskaya: <https://orcid.org/0000-0003-3987-7363>

Evgenia A. Chernutskaya: <https://orcid.org/0000-0001-5140-9891>

© A.A. Shirshova, N.M. Ageyeva, E.V. Ulyanovskaya,
E.A. Chernutskaya, 2023



Abstract.

Cider is obtained by fermenting mashed apples of special cider varieties. The Russian State Register of Selection Achievements includes 476 varieties of apples, some of which can be used in commercial cider production. To identify potential cider cultivars, food scientists study the transformation of chemicals in apple mash during fermentation.

The research involved 16 samples of apple mash and cider obtained from apples of foreign and domestic selection. Their physicochemical, biochemical, and sensory parameters were identified using standard methods, as well as the methods of high-performance capillary electrophoresis and gas chromatography.

The samples revealed a wide range of concentrations of titratable acids, phenolic substances, ascorbic acids, and phenolcarboxylic acids, depending on the cultivar. After fermentation, the content of ascorbic acid decreased by an average of 76%. The content of phenolcarboxylic acids in the cider samples increased by an average of 51% compared with the apple mash samples. The ciders contained succinic, oxalic, lactic, and acetic acids, which were not registered in the apple mash, and the concentration of amino acids doubled. The cider from the Virginia variety had the best sensory profile, and it also had the highest concentration of phenolic substances (1121.6 mg/dm³).

In this research, the best characteristics belonged to the ciders from apple varieties with a complex interspecific origin, obtained by a complex of polyploidy and distant hybridization methods, and with high concentrations of sugars and phenolic substances in the apple mash. Further research will test varieties of other origins and physicochemical properties for their potential use in cider, vodka, and calvados production.

Keywords. Apples, selection, varieties, fermentation, cider, must, chemical substances

Funding. The research was supported by the Kuban Science Foundation as part of scientific project No. MFI-20.1/100.

For citation: Shirshova AA, Ageyeva NM, Ulyanovskaya EV, Chernutskaya EA. Transformation of Apple Composition during Cider Production. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):159–167. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2423>

Введение

Производство яблочного сидра широко распространено во всем мире, т. к. этот слабоалкогольный напиток брожения производят из яблочного сока (сусла), а яблоня является легко адаптируемой к природно-климатическим условиям культурой, и существует большое количество ее сортов [1]. Сидр получают путем брожения яблочного сусла под действием ферментов дрожжей, в результате которого происходит изменение химического состава за счет трансформации одних групп веществ и образования других [2]. Процесс брожения за-

ключается не только в метаболизме углеводов, образовании этанола и углекислого газа, но и других соединений (органических кислот, полифенольных веществ, аминокислот, летучих соединений и т. д.), от которых зависят органолептические характеристики готового напитка [3].

Объемная доля этилового спирта в сидре составляет от 1,2 до 6,0 %, поэтому популярность и объемы производства сидра во всем мире постоянно растут [4]. Наиболее важными регионами потребления сидра в мире являются Западная Европа (55,7 %),

Африка и Северная Америка (по 12 %), Австралия (8 %) и Восточная Европа (6,4 %) [5].

Ежегодно во всем мире на сидр перерабатывают более 1 млн тонн яблок. В Великобритании, Франции, Ирландии и Бельгии выращивают специальные «технические» сорта, предназначенные для производства сидра [6].

Согласно данным Европейской ассоциации сидра и фруктовых вин яблоки для сидра подразделяются на четыре основные категории: кислые, горько-кислые, горько-сладкие и сладкие [7, 8]. Основными критериями классификации яблок являются концентрация сахаров, определяющая объемную долю этилового спирта в готовом напитке, фенольные соединения, придающие горьковатый вкус, и кислотность, усиливающая вяжущий вкус и создающая полноту вкуса [9].

Краснодарский край является одним из ведущих в России регионов развитого плодоводства. Сортимент плодовых культур Краснодарского края за последние десятилетия пополнился за счет новых сортов промышленных культур, в том числе иммунных и высокоустойчивых к парше сортов яблони, площади насаждений которых из года в год увеличиваются [10]. В России включено в Госреестр селекционных достижений 476 сортов яблони, в том числе 153 по Северо-Кавказскому региону. Селекционное обновление существующего сортимента идет ускоренными темпами: в 2020–2021 гг. в Госреестр РФ включено 34 новых сорта яблони.

Согласно Федеральному закону № 171 «О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции» деятельность по производству и обороту сидра не подлежит лицензированию в Российской Федерации. В связи с этим сидры занимают значительное место в ассортименте алкогольной продукции [11]. В последние несколько лет среди крестьянско-фермерских хозяйств отмечен повышенный интерес к сортам яблонь, подходящим для производства сидра.

Цель работы – изучить показатели качества яблочного сусла и сидра из него на примере некоторых сортов яблок для выделения наиболее подходящих сортов для переработки на сидр.

Объекты и методы исследования

В работе было исследовано 16 сортов и элитных форм яблок различного эколого-географического происхождения: Ренет Платона, Багрянец Кубани, Прикубанское, Персиковое (Россия, сорта селекции СКФНЦСВВ), Орфей, Марго, Союз, Юнона, элитные формы 12/1-21-29 и 12/1-21-24 (Россия, СКФНЦСВВ и ВНИИСПК), Имрус (Россия, ВНИИСПК), Лигол (Польша), Вирджиния, Интерпрайс, Либерти (США) и Флорина (Франция), а также приготовленные из

них сидры. Среди исследуемых образцов сорта летнего срока созревания – Союз и Юнона, осеннего – Персиковое и Вирджиния, формы 12/1-21-29 и 12/1-21-24, остальные – зимнего.

Яблочное сусло было получено на соковыжималке, сброжено в лабораторных условиях расой дрожжей *Fruit* (под *Saccharomyces cerevisiae*, Германия, «Erbslöh Geisenheim») при температуре 17 ± 1 °C. Осветление сидра происходило посредством его отстаивания с последующим отделением осадка и дальнейшей фильтрацией.

В яблочном сусле и сидрах определили физико-химические показатели по действующим на территории РФ стандартным методикам ГОСТ и ГОСТ Р. Массовую концентрацию органических кислот, аскорбиновой и фенолкарбоновых кислот установили методом высокоэффективного капиллярного электрофореза на приборе Капель 105М (Россия) путем прямого ввода пробы, аминокислот – путем предварительной подготовки пробы (кислотного гидролиза и разделении анионных форм N-фенилтиокарбамилпроизводных аминокислот), фенольных веществ – колориметрическим методом с применением реактива Фолина-Чокальтеу, качественный и количественный состав летучих компонентов – с помощью газового хроматографа Кристалл 2000 (Россия) путем прямого ввода пробы. Для газохроматографического анализа были выбраны следующие условия: кварцевая капиллярная колонка длиной 50 м, внутренний диаметр – 0,32 мм; неподвижная жидкая фаза – FFAP; температура инжектора хроматографа – 150 °C; температура подогрева детектора ДИП – 170 °C; входное давление на колонке – 60 кПа; температура термостата колонок – 50 °C, изотерма – 7 мин, программирование температуры со скоростью 5 °C/мин до 140 °C и выдержка до конца анализа; испаритель с делением потока – коэффициент деления потока 1:33; поток газа-носителя через колонку – 1,21 см³/мин; объем пробы – 1 мм³; газ-носитель – азот; расход водорода – 25 см³/мин; расход воздуха – 250 см³/мин; время анализа – 60 мин.

Органолептические показатели опытных образцов сидра оценивала дегустационная комиссия НЦ «Виноделие» по 100 бальной шкале. Исследования проводили в центре коллективного пользования «Приборно-аналитический» ФГБНУ СКФНЦСВВ. Для количественных расчетов содержания компонентов в пробе применяли метод абсолютной калибровки.

Результаты и их обсуждение

Яблоки различных сортов имеют разное время созревания и отличаются спецификой химического состава [10]. Диапазоны варьирования основных показателей в исследуемых образцах сусла представлены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели, характеризующие яблочное сусло из исследуемых сортов (элитных форм)

Table 1. Indicators of apple mash of elite varieties

№ п/п	Сорт (формы) яблок	Выход сока, %	Длительность брожения, сутки	Массовая концентрация сахаров, г/100 см ³	Массовая концентрация титруемых кислот, г/дм ³	Массовая концентрация фенольных веществ, мг/дм ³	Массовая концентрация антоцианов, мг/дм ³
1	Ренет Платона	68	7 ± 1	12,4 ± 0,1	8,6 ± 0,1	452,0 ± 11,0	23,0 ± 1,0
2	Орфей	75	13 ± 1	13,6 ± 0,1	9,2 ± 0,1	330,0 ± 9,0	23,0 ± 1,0
3	Марго	86	7 ± 1	15,3 ± 0,2	4,0 ± 0,1	660,0 ± 15,0	17,0 ± 1,0
4	Багрянец Кубани	66	12 ± 1	13,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	402,0 ± 11,0	19,0 ± 1,0
5	Прикубанское	81	15 ± 1	11,9 ± 0,1	4,8 ± 0,1	544,0 ± 14,0	14,0 ± 1,0
6	Союз	68	12 ± 1	11,8 ± 0,1	3,8 ± 0,1	408,0 ± 14,0	21,0 ± 1,0
7	Юнона	75	11 ± 1	11,4 ± 0,1	4,2 ± 0,1	456,0 ± 11,0	11,0 ± 1,0
8	Персиковое	72	13 ± 1	11,6 ± 0,1	4,0 ± 0,1	523,0 ± 15,0	9,0 ± 1,0
9	Лигол	84	15 ± 1	13,1 ± 0,1	4,8 ± 0,1	448,0 ± 11,0	15,0 ± 1,0
10	Вирджиния	72	13 ± 1	15,8 ± 0,2	5,8 ± 0,1	1121,6 ± 28,0	35,0 ± 1,0
11	Интерпрайс	59	12 ± 1	13,4 ± 0,2	5,6 ± 0,1	456,0 ± 11,0	менее 5,0
12	Либерти	85	12 ± 1	13,8 ± 0,2	6,7 ± 0,1	345,0 ± 9,0	менее 5,0
13	Флорина	77	15 ± 1	12,7 ± 0,1	4,7 ± 0,1	198,0 ± 6,0	менее 5,0
14	Имрус	79	11 ± 1	11,9 ± 0,1	6,2 ± 0,1	336,0 ± 9,0	8,0 ± 1,0
15	12/1-21-29	88	13 ± 1	11,6 ± 0,1	8,2 ± 0,1	280,0 ± 8,0	14,0 ± 1,0
16	12/1-21-24	82	12 ± 1	11,4 ± 0,1	6,7 ± 0,1	360,0 ± 9,0	менее 5,0

Как видно из таблицы 1, выход сока, длительность процесса брожения и содержание сахаров, титруемых кислот и фенольных веществ яблочного сусла варьируются в широких диапазонах в зависимости от сорта (формы) яблок. Корреляции между концентрацией сахаров, титруемых кислот и фенольных веществ и временем брожения не установлено.

Максимальный выход сусла получен при переработке яблок сортов (форм) 12/1-21-29, Марго, Либерти, Лигол и 12/1-21-24 (88–82 %). Наибольшая концентрация сахаров отмечена в сортах (формах) Вирджиния, Марго, Либерти, Орфей и Багрянец Кубани (15,8–13,6 г/100 см³), титруемых кислот – Орфей, Ренет Платона и 12/1-21-29 (9,2–8,2 г/дм³).

При исследовании состава нелетучих (экстрактивных) компонентов сусла выявили различия в содержании фенольных веществ. Фенольные вещества являются важными компонентами химического состава яблок, предназначенными для производства сидра и оказывающими большое влияние на органолептические характеристики, а именно цвет, полноту вкуса, танинность и коллоидную стабильность готового напитка [12]. Кроме того, некоторые фенольные соединения являются предшественниками ароматических компонентов сидра [13, 14]. Данную информацию подтверждает и наше исследование: сидр с наибольшей дегустационной оценкой (83 балла), приготовленный из яблок сорта Вирджиния, имел концентрацию фенольных веществ 1121,6 мг/дм³, в то время как в сусле остальных исследуемых сортов (форм) массовая концентрация фенольных веществ была на уровне 198–660 мг/дм³.

Таблица 2. Массовая концентрация аскорбиновой кислоты в сусле и сидрах из яблок, исследуемых сортов (элитных форм)

Table 2. Mass concentration of ascorbic acid in apple mash and cider samples of elite varieties

№ п/п	Сорт (форма) яблок	Массовая концентрация аскорбиновой кислоты, мг/дм ³		Доля снижения аскорбиновой кислоты, %
		Сусло	Сидр	
1	Ренет Платона	7,6 ± 0,3	1,7 ± 0,1	77,6
2	Орфей	7,5 ± 0,3	2,8 ± 0,1	62,7
3	Марго	8,4 ± 0,3	0,5 ± 0,1	94,0
4	Багрянец Кубани	7,0 ± 0,3	1,8 ± 0,1	74,3
5	Прикубанское	10,7 ± 0,4	0,6 ± 0,1	94,9
6	Союз	8,5 ± 0,3	3,6 ± 0,1	57,6
7	Юнона	29,0 ± 1,2	5,4 ± 0,2	81,4
8	Персиковое	12,6 ± 0,5	0,7 ± 0,1	94,4
9	Лигол	48,0 ± 1,9	3,1 ± 0,1	93,8
10	Вирджиния	14,7 ± 0,6	3,5 ± 0,1	76,2
11	Интерпрайс	9,4 ± 0,4	4,0 ± 0,2	57,6
12	Либерти	21,8 ± 0,9	9,1 ± 0,4	58,3
13	Флорина	7,2 ± 0,3	2,5 ± 0,1	65,3
14	Имрус	7,1 ± 0,3	1,3 ± 0,1	81,7
15	12/1-21-29	10,9 ± 0,4	1,8 ± 0,1	83,5
16	12/1-21-24	30,1 ± 1,2	4,4 ± 0,2	85,3

Хотя сорт яблони оказывает большое влияние на конечное содержание фенольных соединений и аскорбиновой кислоты в сидре, ряд технологических

операций приводит к изменению их концентраций в готовом продукте. В связи с этим в яблочном сусле и сидрах была определена концентрация аскорбиновой кислоты (табл. 2) и фенолкарбоновых соединений (рис. 1 и 2).

Концентрация аскорбиновой кислоты в результате технологических приемов получения сидра снизилась в среднем на 76 %. Максимальные потери аскорбиновой кислоты отмечены в сидрах сортов Прикубанское, Персиковое и Лигол (94,9–93,8 %), минимальные – в сидрах сортов Интерпрайс, Союз

и Либерти (57,4–58,3 %). Концентрации фенолкарбоновых кислот – хлорогеновой, никотиновой, оротовой, кофейной и галловой – увеличились в сидре по отношению к суслу. Это связано с ферментативной трансформацией полифенолов в процессе брожения [15]. Увеличение концентрации фенолкарбоновых кислот способствует увеличению антиоксидантной активности сидра и профилактике его дальнейшего окисления.

Вкусовые качества плодов и продуктов их переработки определяются количественным содержа-

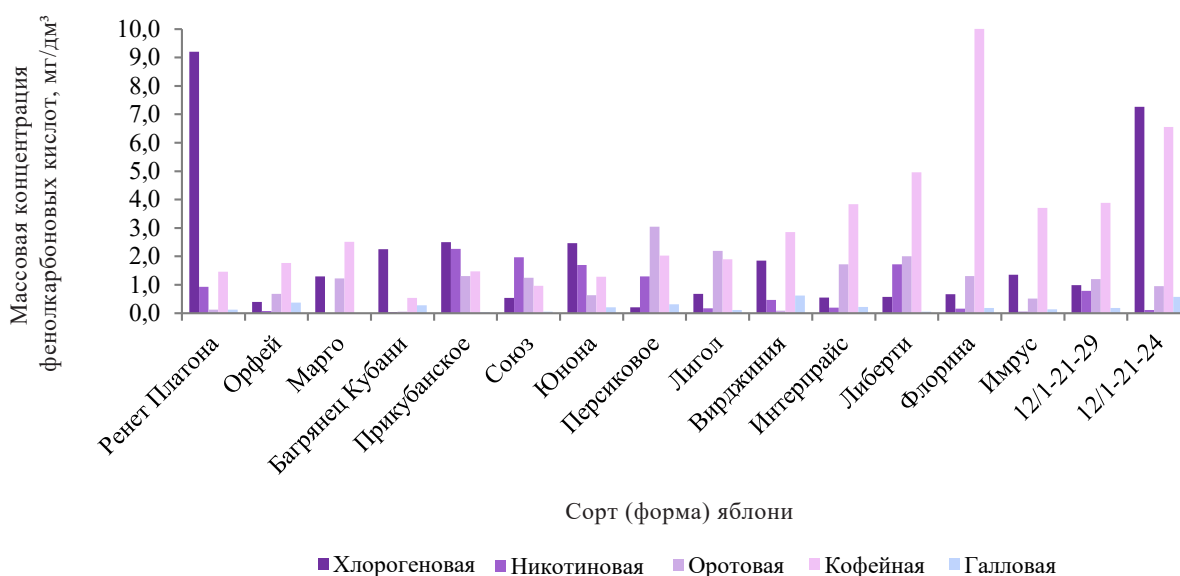


Рисунок 1. Массовая концентрация фенолкарбоновых кислот в сусле

Figure 1. Mass concentration of phenolcarboxylic acids in apple mash

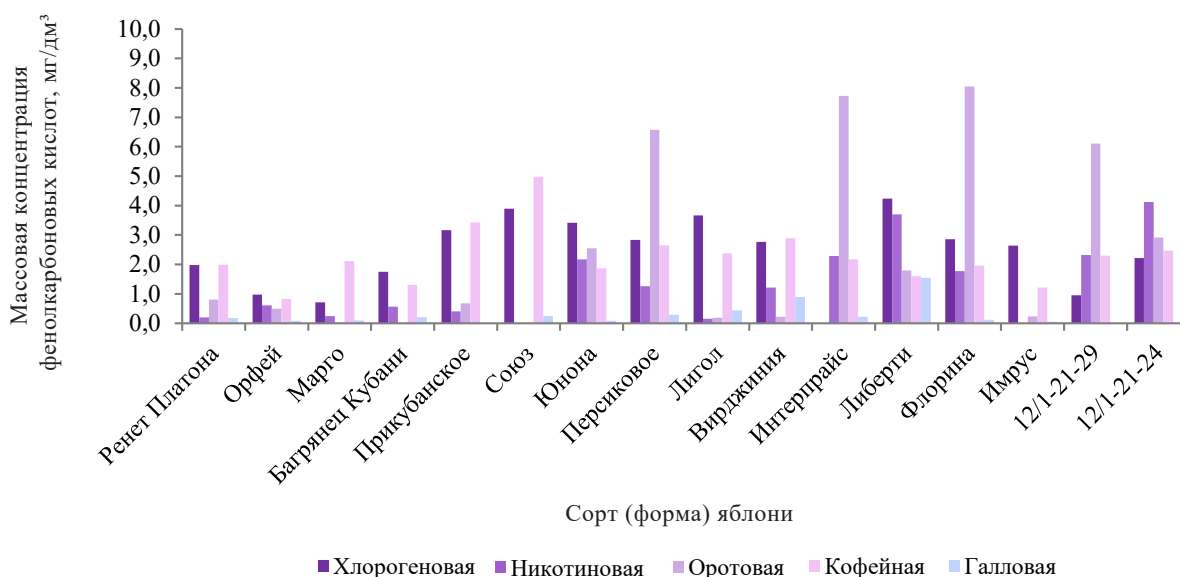


Рисунок 2. Массовая концентрация фенолкарбоновых кислот в сидре после технологических обработок

Figure 2. Mass concentration of phenolcarboxylic acids in cider after processing

нием органических кислот алифатического ряда и их соотношением. Кислоты влияют на различные процессы переработки и способствуют протеканию восстановительных процессов, а их содержанием обуславливаются определенные вкусовые качества плодовой алкогольной продукции и сидра. Основная кислота плодов яблони – яблочная – образуется из гексоз в процессе дыхания растительной клетки. Согласно [16] концентрация яблочной кислоты в плодах яблони зависит как от генетических особенностей сорта и агротехнических условий ее выращивания, так и от наличия высокомолекулярных сахаров – крахмала и клетчатки, при трансформации и распаде которых могут образоваться промежуточные продукты, необходимые для синтеза яблочной кислоты. Органические кислоты сусла всех исследуемых образцов были представлены яблочной кислотой (5,2–14,3 г/дм³) и в меньших концентрациях лимонной (0–0,2 г/дм³). По завершении процесса брожения концентрация яблочной кислоты понизилась (4,4–7,1 г/дм³), а лимонной составила 0,1–0,2 г/дм³. Образовались янтарная (0,3–0,8 г/дм³), щавелевая (0,1–0,2 г/дм³), молочная (0,1–0,3 г/дм³) и уксусная кислоты (до 0,1 г/дм³), которых изначально не было в сусле. Их образование можно объяснить биохимическими реакциями, протекающими в цикле Кребса под действием ферментных систем винных дрожжей [17].

Аминокислоты яблочного сусла являются основным источником азота для дрожжей. Считается, что достаточной концентрацией азота для поддержания активного физиологического состояния дрожжей в процессе брожения является 70–150 мг/дм³ [9]. В сусле из исследуемых сортов (форм) суммарная концентрация аминокислот составила от 7,0 (сорт Ренет Платона) до 70,1 мг/дм³ (сорт Прикубанское). Несмотря на низкие концентрации аминокислот в сусле, процесс брожения полностью завершился во всех 16 опытных образцах без дополнительного введения азотистых веществ (питания для дрожжей).

В результате изучения аминокислот установлено, что большую часть в яблочном сусле всех изученных образцов составили аргинин, метеонин, валин, треонин, серин и α -аланин. Метеонин является протектором, препятствующим образованию этиловых соединений и сероводорода [18]. Это позволяет говорить о том, что в сидрах из сортов Марго, Союз, Лигол, Вирджиния и Интерпрайс в процессе брожения сероводородные тона не образуются. Пролин обнаружен только в сусле из сортов Вирджиния и Интерпрайс.

По окончании процесса брожения в результате жизнедеятельности, автолиза дрожжевых клеток и высвобождения свободных аминокислот в готовых сидрах увеличилась концентрация (в среднем в 2 раза) аргинина, метеонина, валина и серина. Кроме того, во всех сидрах были обнаружены пролин,

гистидин, лизин и глицин, которые не присутствовали в сусле. Выявленная тенденция одинакова для всех сортов (форм) яблок. Это позволяет говорить о том, что на изменение аминокислотного состава в процессе брожения влияют физиологические свойства используемой расы дрожжей, а не сортовые особенности яблок. Суммарная концентрация аминокислот в сидрах из яблок различных сортов (форм) варьировалась от 191,2 до 420,6 мг/дм³.

Наиболее важными летучими соединениями, идентифицированными в яблочном сусле, были сложные эфиры (2-метилбутиловый эфир уксусной кислоты, бутиловый эфир уксусной кислоты, 2-гексенол, гексаналь и 2-гексаналь), тогда как в сидрах было обнаружено более широкое разнообразие различных химических классов летучих соединений, включая высшие спирты (ацетальдегид, ацетоин и фурфурол) (54–67 %), сложные эфиры (этилацетат, метилацетат и этиллактат) (32–43 %) и жирные кислоты, в меньшей степени – кислоты, альдегиды и кетоны. Это соединения, образующиеся в процессе спиртового брожения в результате жизнедеятельности винных дрожжей, в том числе из аминокислот, которые являются предшественниками летучих соединений, особенно высших спиртов, в качестве вторичных метаболитов, которые вносят вклад в формирование ароматических характеристик сидра, привнося фруктовые, цветочные, травянистые, медовые и другие оттенки, что влияет на органолептическую оценку готовой продукции [12, 17–21]. Некоторые соединения, присутствующие в свежем яблочном сусле, не были обнаружены в сидре. Количественный состав был различен, что говорит о сортовых особенностях исследуемых яблок.

В результате дегустационной оценки все опытные образцы получили высокие баллы, имели чистый яркий аромат и гармоничный вкус. Наибольшие оценки получили сидры, приготовленные из сортов и элитных форм яблок Вирджиния (83 балла), Интерпрайс, Либерти, Марго и 12/1-21-29 (по 82 балла), Прикубанское (81 балл), Лигол и 12/1/21-24 (по 80 баллов) (табл. 3, рис. 3). Все выше-названные сорта и элиты яблони имеют сложное межвидовое происхождение и получены методом отдаленной гибридизации или комплексом методов полиплоидии и отдаленной гибридизации. Исключением являются сорта Лигол и Прикубанское, имеющие в своей родословной старинные сорта Феймез (синоним Снежное (Fameuse, Snow apple)) и Бельфлер (синоним Бельфлер красный (Belle-fleur, Red Belle-fleur)) и являющиеся их 3–4-м поколением соответственно.

Выводы

В результате проведенного исследования изучена трансформация некоторых химических веществ яблочного сусла в сидр. Концентрация

Таблица 3. Органолептические показатели сидров, получивших высокие оценки дегустационной комиссии

Table 3. Sensory assessment of ciders

№ п/п	Сортовое наименование сидра	Органолептическая характеристика	Средний балл
1	Вирджиния	Цвет желтый. Аромат яркий, плодовой, экзотических фруктов, с оттенками свежего яблока, груши, полевых цветов, сухофруктов, киви и манго. Вкус сложный, полный, с пикантной горчинкой. Рекомендован для вторичного брожения	83
2	Интерпрайс	Цвет желтый. Аромат яркий, цветочный, цитрусовый, с оттенками яблока и дюшеса. Вкус развитый, полный, гармоничный, округлый	82
3	Либерти	Цвет желтый. Аромат яркий, сложный, развитый, с оттенками жаренного ореха, облепихи и сена. Вкус полный, гармоничный, с тонами облепихи в послевкусии	82
4	Марго	Цвет желто-коричневый. Аромат чистый, яблочный, с оттенками цветов плодовых деревьев и сена. Вкус полный, округлый, гармоничный	82
5	12/1-21-29	Цвет светло-соломенный. Аромат плодово-цветочный, с легкими оттенками полевых трав, розы и сена. Вкус свежий, округлый, полный	82
6	Прикубанское	Цвет желто-коричневый. Аромат чистый, сложный, с тонами яблочного пюре, изюма, цветочными оттенками, нотами акации. Вкус полный, округлый, свежий. Рекомендован для вторичного брожения	81
7	Лигол	Цвет светло-коричневый. Аромат яркий, плодовой, с оттенками яблока, груши и сливы. Вкус чистый, полный, легкий, гармоничный. Рекомендован для вторичного брожения	80
8	12/1/21-24	Цвет коричневый. Аромат сложный, с выраженными тонами яблока и груши, легкими цветочными и сухофруктовыми оттенками. Вкус полный, гармоничный, с приятной горчинкой в послевкусии	80



Рисунок 3. Фотографии опытных образцов сидров из сортов яблок Вирджиния, Прикубанское и Марго

Figure 3. Experimental samples of ciders from Virginia, Prikubanskoye, and Margo apple cultivars

аскорбиновой кислоты в результате технологических приемов получения сидра снизилась в среднем на 76 %. Концентрация фенолкарбоновых кислот – хлорогеновой, никотиновой, оротовой, кофейной и галловой – увеличилась в сидре по отношению к суслу. По завершении процесса брожения концентрация яблочной кислоты снизилась, лимонной – осталась на том же уровне, образовались янтарная (0,3–0,8 г/дм³), щавелевая (0,1–0,2 г/дм³), молочная (0,1–0,3 г/дм³) и уксусная кислоты (до 0,10 г/дм³), которых изначально не было в сусле. В готовых сидрах увеличилась концентрация (в среднем в 2 раза) аргинина, метеонина, валина и серина. Кроме того, были обнаружены пролин, гистидин, лизин и глицин, которые не присутствовали в яблочном сусле. По органолептическим показателям выделились сидры,

приготовленные из сортов и элитных форм яблок Вирджиния, Интерпрайс, Либерти, Прикубанское, Орфей, Лигол, 12/1/21-24 и 12/1-21-29. Сусло из яблок сорта Вирджиния, сидр из которого получил максимальную дегустационную оценку (83 балла), имело наибольшую концентрацию фенольных веществ – 1121,6 мг/дм³. Высокую дегустационную оценку получили образцы сидров, приготовленных из сортов и элит яблони со сложным межвидовым происхождением и полученных методом отдаленной гибридизации или комплексом методов полиплоидии и отдаленной гибридизации, а также имеющих в своей родословной старинные сорта.

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение сортов и форм с выделенными происхождением и физико-химическими показателями,

которые можно было бы рекомендовать для переработки на сидры, а также плодовые водки, дистилляты и кальвадосы.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность доктору химических наук, доценту, заведующему информационно-аналитическим сектором Центра коллективного пользования «Приборно-аналитический»

ФГБНУ СКФНЦСВВ Ю. Ф. Якуба за оказанную помощь при проведении анализов.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

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

Acknowledgements

The authors express their gratitude to Yu.F. Yakuba, Dr.Sci.(Chem.), Assistant Professor and Head of Information and Analytical Sector of the Shared Access Center of the North-Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, and Winemaking.

References/Список литературы

1. Oganesyants LA, Panasyuk AL, Kuz'mina EI, Sviridov DA, Ganin MYu, Shilkin AA. Traditional siders and perry identification by isotope mass spectrometry. Food Industry. 2021;(4):55–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.24412/0235-2486-2021-4-0036>
2. He W, Liu S, Heponiemi P, Heinonen M, Marsol-Vall A, Ma X, et al. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe* strains on chemical composition and sensory quality of ciders made from Finnish apple cultivars. Food Chemistry. 2021;345. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128833>
3. Roberts D, Reyes V, Bonilla F, Dzandu B, Liu C, Chouljenko A, et al. Viability of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 in fermented apple juice under simulated gastric and intestinal conditions. LWT. 2018;97:144–150. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.036>
4. Calugar PC, Coldea TE, Salanță LC, Pop CR, Pasqualone A, Burja-Udrea C, et al. An overview of the factors influencing apple cider sensory and microbial quality from raw materials to emerging processing technologies. Processes. 2021;9(3). <https://doi.org/10.3390/pr9030502>
5. Wei J, Zhang Y, Wang Y, Ju H, Niu C, Song Z, et al. Assessment of chemical composition and sensorial properties of ciders fermented with different non-*Saccharomyces* yeasts in pure and mixed fermentations. International Journal of Food Microbiology. 2020;318. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108471>
6. Guiné RPF, Barroca MJ, Coldea TE, Bartkiene E, Anjos O. Apple fermented products: An overview of technology, properties and health effects. Processes. 2021;9(2). <https://doi.org/10.3390/pr9020223>
7. Włodarska K, Pawlak-Lemańska K, Górecki T, Sikorska E. Classification of commercial apple juices based on multivariate analysis of their chemical profiles. International Journal of Food Properties. 2017;20(8):1773–1785. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1219367>
8. Alberti A, dos Santos TPM, Ferreira Zielinski AA, dos Santos CME, Braga CM, Demiate IM, et al. Impact on chemical profile in apple juice and cider made from unripe, ripe and senescent dessert varieties. LWT – Food Science and Technology. 2016;65:436–443. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.045>
9. Laaksonen O, Kuldjäär R, Paalme T, Virkki M, Yang B. Impact of apple cultivar, ripening stage, fermentation type and yeast strain on phenolic composition of apple ciders. Food Chemistry. 2017;233:29–37. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.067>
10. Ulyanovskaya E, Stcheglov S, Belenko E, Balapanov I. Mobilization of genetic diversity of the genus *Malus* on the basis of information technologies for the breeding of varieties with complex resistance to fungal pathogens. BIO Web of Conferences. 2021;34(6). <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213402003>
11. 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>
12. Shirshova AA, Ageyeva NM, Prakh AV, Shelud'ko ON. Influence of apple variety the concentration of amino acids in fresh and fermented apple juices and the concentration of aromatic forming components of ciders. Fruit Growing and Viticulture of South Russia. 2020;(66):369–381. (In Russ.). <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2020-6-66-369-381>

13. Bortolini DG, Benvenuti L, Demiate IM, Nogueira A, Alberti A, Zielinski AAF. A new approach to the use of apple pomace in cider making for the recovery of phenolic compounds. LWT. 2020;126. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109316>
14. Lobo AP, Bedriñana RP, Madrera RR, Valles BS. Aromatic, olfactometric and consumer description of sweet ciders obtained by cryo-extraction. Food Chemistry. 2021;338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127829>
15. Rita R-D, Zanda K, Daina K, Dalija S. Composition of aroma compounds in fermented apple juice: Effect of apple variety, fermentation temperature and inoculated yeast concentration. Procedia Food Science. 2011;1:1709–1716. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.252>
16. Wei J, Zhang Y, Yuan Y, Dai L, Yue T. Characteristic fruit wine production via reciprocal selection of juice and non-*Saccharomyces* species. Food Microbiology. 2019;79:66–74. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.11.008>
17. Rodopulo AK, Egorov IA, Komarova TA, Bezzubov AA. Biochemical methods. Moscow: Nauka; 1980. pp. 165–169. (In Russ.). [Биохимические методы / А. К. Родопуло [и др.]. М.: Наука, 1980. С. 165–169.].
18. Postnaya AN, Yablonko NV. Defining the quality of grape raw materials by the amino acid composition of the final product. Izvestiya Vuzov. Food Technology. 1995;228–229(5–6):12–13. (In Russ.). [Постная А. Н., Яблонко Н. В. Определение качества виноградного сырья по аминокислотному составу конечного продукта // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 1995. Т. 228–229. № 5–6. С. 12–13.].
19. Chen C, Lu Y, Yu H, Chen Z, Tian H. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice. Food Bioscience. 2019;27:30–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.11.006>
20. Ruppert V, Innerhofer G, Voit J, Hiden P, Siegmund B. The Impact of the fermentation strategy on the flavour formation of *Ilzer Rose* (*Malus domestica* Borkh.) apple wine. Foods. 2021;10(10). <https://doi.org/10.3390/foods10102348>
21. Simonato B, Lorenzini M, Zapparoli G. Effects of post-harvest fungal infection of apples on chemical characteristics of cider. LWT. 2021;138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110620>
22. Qin Z, Petersen MA, Bredie WLP. Flavor profiling of apple ciders from the UK and Scandinavian region. Food Research International. 2018;105:713–723. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.003>
23. Pando Bedriñana R, Picinelli Lobo A, Rodríguez Madrera R, Suárez Valles B. Characteristics of ice juices and ciders made by cryo-extraction with different cider apple varieties and yeast strains. Food Chemistry. 2020;310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125831>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2425>
<https://elibrary.ru/HFAIQU>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Экстрагирование гидрофильных компонентов кожуры и жома плодов граната



С. Г. Гафизов¹, О. Н. Мусина², Г. К. Гафизов^{1,*}

¹ Научно-исследовательский институт плодоводства и чаеводства
Министерства сельского хозяйства, Губа, Азербайджан

² Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия, Барнаул, Россия

Поступила в редакцию: 13.04.2022

Принята после рецензирования: 12.05.2022

Принята к публикации: 07.06.2022

*Г. К. Гафизов: hafizov-54@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-5588-6433>

С. Г. Гафизов: <https://orcid.org/0000-0001-7777-9954>

О. Н. Мусина: <https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>

© С. Г. Гафизов, О. Н. Мусина, Г. К. Гафизов, 2023



Аннотация.

При комплексной переработке плодов граната (*Punica granatum* L.) основное внимание уделяется экстракции полифенолов из кожуры. Однако кожура граната богата другими биологически активными водорастворимыми компонентами, процесс извлечения которых мало изучен. Целью работы являлись оценка степени извлечения гидрофильных веществ, таких как простые сахара, органические кислоты и полифенолы, из сырой кожуры и жома граната при разных экспериментальных условиях и подбор режимных параметров экстрагирования.

Объектом исследования были выбраны гранаты сорта Ириданалы (г. Геокчай, Азербайджан). Перед экстракцией комплекса гидрофильных веществ сырую кожуру и жом измельчали до состояния крупнозернистой кашицы. Экстракцию осуществляли методом мацерации при гидромодуле 1:2 и температуре 40 или 60 °С чистой водой и водными растворами этанола (10–14 об.%). Процесс велся 30, 60 или 90 мин в одну или две стадии с отдельным извлечением экстрактов от каждой стадии. В работе применяли стандартные и общепринятые физико-химические методы.

Установлено, что в 31,0 ± 2,0 г/100 г сухого вещества кожуры на гидрофильную фракцию приходится 85,32 %, а в 35,7 ± 2,8 г/100 г сухого вещества жома – 59,36 %. В результате экстракции чистой водой при гидромодуле 1:2 при подогреве смеси до 60 °С в течение 30 мин было извлечено всего 54,6 % сухих веществ от их начального содержания в сырой коже. Это связано с содержанием в коже граната гидрофильных коллоидов, которые способны впитывать воду и снижать выход экстракта. Оптимальной была экстракция в этих условиях водным раствором этанола с концентрацией этилового спирта 10–14 об.% в две стадии по 30 мин каждая. Благодаря коагулирующему действию этилового спирта на водорастворимый пектин удалось повысить степень экстракции водорастворимых веществ до 83,93 и 91,4 % от их начального содержания в сырой коже и сыром жоме соответственно. В результате такой экстракции из 1 кг сырого жома получено около 4 кг смешанного экстракта, после уваривания которого под вакуумом получено 260 г концентрата с содержанием сухих веществ 60 масс.%, в том числе 46,70 г/100 г простых сахаров, 4,73 г/100 г органических кислот, 3,70 г/100 г полифенолов и 10,10 мг/100 г витамина С.

Экстракция сырой кожуры и сырого жома гранатов водным этанолом (10–14 об.%) обеспечила максимальную степень извлечения гидрофильных веществ и облегчила отделение образовавшихся экстрактов. Однако использование крепких спиртовых растворов может увеличивать затраты на отгонку спирта из образовавшегося экстракта. Поэтому для устранения недостатков предложенного метода в перспективе следует рассмотреть экстракцию данного сырья чистой водой с добавлением пектолитического фермента.

Ключевые слова. *Punica granatum* L., кожура граната, водорастворимые вещества, полифенолы, моносахариды, экстрагирование, растворитель, степень экстракции

Финансирование. Научная работа была выполнена в рамках государственного заказа Министерства сельского хозяйства Азербайджанской Республики «Разработка технологии биологически активных комплексов из побочных продуктов производства гранатового сока».

Для цитирования: Гафизов С. Г., Мусина О. Н., Гафизов Г. К. Экстрагирование гидрофильных компонентов кожуры и жома плодов граната // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 168–182. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2425>

Extracting Hydrophilic Components from Pomegranate Peel and Pulp



Samir Gharib Hafizov¹, Olga N. Musina², Gharib Kerim Hafizov^{1,*}

¹ Research Institute of Fruit and Tea Growing of the Ministry of Agriculture, Quba, Azerbaijan Republic

² Siberian Research Institute of Cheese-Making, Barnaul, Russia

Received: 13.04.2022

Revised: 12.05.2022

Accepted: 07.06.2022

*Gharib Kerim Hafizov: hafizov-54@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-5588-6433>

Samir Gharib Hafizov: <https://orcid.org/0000-0001-7777-9954>

Olga N. Musina: <https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>

© S.G. Hafizov, O.N. Musina, G.K. Hafizov, 2023



Abstract.

Pomegranate (*Punica granatum* L.) processing focuses on the extraction of polyphenols from peel. However, pomegranate peel is also rich in other biologically active water-soluble components, and their commercial extraction remains understudied. The research objective was to evaluate the degree of extraction of hydrophilic substances, such as simple sugars, organic acids, and polyphenols, from raw pomegranate peel and pulp under different experimental conditions in order to select the optimal extraction parameters.

The study featured pomegranates of the Iridanaly variety (Geokchay, Azerbaijan). Raw peel and pulp were crushed to the state of a coarse gruel. Extraction occurred by maceration at a hydromodulus of 1:2 and a temperature of 40 or 60°C with pure water and aqueous ethanol solutions (10–14 % vol.). The process lasted 30, 60, or 90 min in one or two stages with separate extraction at each stage. The research involved standard physicochemical methods.

In 31.0 ± 2.0 g/100 g of dry peel, the hydrophilic fraction accounted for 85.32%; in 35.7 ± 2.8 g/100 g of dry pulp, it was 59.36%. Only 54.6% solids were extracted from raw peel after 30 min of extraction with pure water at a hydromodulus of 1:2 and 60°C. Pomegranate peel contained hydrophilic colloids, which caused water absorption and reduced the yield. The optimal extraction included an aqueous solution of ethanol with an ethanol concentration of 10–14 % vol. and two thirty-minute stages. The coagulating effect of ethyl alcohol on water-soluble pectin made it possible to increase the degree of extraction of water-soluble substances to 83.93 and 91.4% of their initial content in raw peel and raw pulp, respectively. Such extraction yielded 4 kg of mixed extract from 1 kg of raw pulp. The extract was boiled under vacuum and yielded 260 g of concentrate with 60 wt.% solids, including 46.70 g/100 g simple sugars, 4.73 g/100 g organic acids, 3.70 g/100 g polyphenols, and 10.10 mg/100 g vitamin C.

The extraction of raw pomegranate peel and pulp with aqueous ethanol (10–14 % vol.) provided the maximal degree of extraction of hydrophilic substances and facilitated the separation of the resulting extracts. However, strong alcohol solutions may increase the cost of distillation of alcohol from the extract. To eliminate this shortcoming, the extraction can be carried out with pure water and a pectolytic enzyme.

Keywords. *Punica granatum* L., pomegranate peel, water-soluble substances, polyphenols, monosaccharides, extraction, solvent, degree of extraction

Funding. The research was part of the state order of the Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan on the Development of technology for biologically active complexes from by-products of pomegranate juice production.

For citation: Hafizov SG, Musina ON, Hafizov GK. Extracting Hydrophilic Components from Pomegranate Peel and Pulp. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):168–182. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2425>

Введение

Пищевой сектор является одним из наиболее актуальных в современной глобальной экономике. Однако компании, связанные с производством продуктов питания, переработкой и предоставлением услуг, сталкиваются со многими проблемами [1].

Из-за наблюдающегося в последние два десятилетия глобального роста популярности гранатового сока возросло число специализированных предприятий по его производству, что привело к обострению конкуренции на мировых рынках этого продукта.

В создавшейся ситуации некоторые производители гранатовых соков пошли по пути получения кратковременной выгоды за счет их фальсификации водой, сахаром или другими соками, чтобы компенсировать этим относительно низкий выход. В результате этого данные предприятия потеряли популярность или закрылись. Другие предприятия, которые имели в начале своей деятельности узкую специализацию, адаптировались к новым условиям за счет выпуска продукции не только из гранатов, но и других видов сырья, и уменьшения экономической зависимости от продаж только гранатового сока. Также есть предприятия, которые в качестве основного тренда для покрытия возможных издержек в новых условиях обозначили выпуск продукции с добавочной стоимостью из побочных продуктов производства гранатового сока. Такого системного подхода придерживаются некоторые ученые [2, 3].

В 2014 г. было произведено 3 млн т граната, в 2017 г. эта цифра составила 3,8 млн т [4]. Учитывая объемы производства гранатов и ориентировочные объемы их переработки в сок (около 0,75–1 млн т в год), во всем мире ежегодно образуется 400–500 тыс. т твердых остатков. Это создает проблемы удаления и загрязнения, а также потери ценной биомассы и питательных веществ. Основная часть побочных продуктов от получения гранатовых соков приходится на т. н. «кожуру». Это комплекс, состоящий не только из поверхностной корки, но также из внутренних светлых перегородок с выростами плаценты, из которых образуются семенные гнезда [5].

Одним из наиболее широко используемых методов в исследовательской и производственной практике переработки кожуры граната является экстракция в системе «твердое тело – жидкость», т. к. кожура граната богата биологически активными полифенолами и другими гидрофильными веществами, которые можно извлечь с помощью водных растворителей [6–9]. В лабораторных условиях для экстракции компонентов высушенной кожуры используют не только метанол и воду, но также этанол и ацетон [10]. Многие ученые пришли к выводу, что метод экстракции метанолом лучше других с точки зрения содержания фенольных соединений и повышения антиоксидантной активности [11–13]. Обычные методы требуют большого количества растворителей, а использование высокой температуры приводит к деградации флавоноидов [14].

В последнее время все чаще используется экстракция под высоким давлением, которая не оказывает вредного воздействия на биологически активные соединения. Кроме того, экстракция под высоким давлением выполняется быстрее и дает более высокий выход целевых компонентов [15]. Также применяют экстракцию, основанную на включении в этот процесс некоторых ферментов, разрушающих клеточную стенку (например, пектиназы) [16].

Основу большинства промышленных способов переработки кожуры составляет сушка, измельчение и экстрагирование с использованием экологически приемлемых (водных и водно-спиртовых) растворителей [17–19]. Впервые такой опыт был применен в СССР на Геокчайском соковом заводе, где была введена в эксплуатацию линия по циклическому экстрагированию кожуры граната водой с получением концентрированного экстракта под названием тагин [20, 21].

Однако сегодня на рынках технологического оборудования нет готовых линий по полной утилизации промышленных остатков граната. Это вынудило некоторые частные компании, которые производят биологически активные добавки, косметические средства и фармацевтические субстанции, создать собственные линии из малого сборного оборудования с учетом конкретных условий и целей бизнеса. В консервной отрасли решение этого вопроса заключается в выборе оборудования для сборной линии с учетом специфики пищевого производства, которая заключается в отсутствии веществ, способных загрязнить пищу.

Лечебные свойства биопрепаратов из граната связаны с высоким содержанием в них полифенолов [22].

Утверждается, что 50 % водный этанол лучше извлекает гранатовые полифенолы, чем 70 %, поскольку в 50 % водно-спиртовом экстракте концентрация общих полифенолов была выше ($5,90 \pm 0,15$ %), чем в 70 % ($4,40 \pm 0,35$ %). Экстракты кожуры показали более высокую антиоксидантную активность ($IC_{50} = 0,50 \pm 0,90$ мг/мл), чем экстракты из других частей граната, а также выраженную противоопухолевую активность в отношении клеток рака груди человека MCF-7 и клеток рака толстой кишки HCT-16 со значениями IC_{50} $7,70 \pm 0,01$ и $9,30 \pm 0,06$ мкг/мл соответственно [23].

Подготовка кожуры к экстракции преследует цель увеличить общую площадь ее контакта с растворителем и может осуществляться простым измельчением (растиранием) в мелкие кусочки одинаковых размеров в течение 40 с в вертикальной резке Tecator 1094 Homogenizer (Tekator, Höganas, Швеция) [24]. Главной особенностью данной технологии является отделение сочных зерен от остальной части плода перед их подачей в шнековый пресс.

Применяют другую технологию, в основе которой лежит прямой отжим гранатов или их четвертинок/половинок [25]. При этом способе в остатке получают не индивидуальную кожуру, а жом, представляющий собой смесь кожуры и оголенных семян. Это отражается на исходных характеристиках твердого остатка, составе и выходе жидкой фазы, образующейся при экстрагировании.

Исследования, направленные на сравнительное изучение процессов экстрагирования кожуры и жома и выяснение разницы в достигнутых результатах, пока не проводились, но такая информация важна для менеджеров по инновациям, т. к. может иметь экономическую значимость.

Авторами уже изучалась экстракция липофильной фракции из сухой смеси кожуры и семян граната с получением СК CO_2 экстракта со свойствами масла семян граната, что отражено в патенте RU № 2712602C1 [26]. Этот лечебно-косметический продукт получали путем смешивания индивидуальных семян с кожурой (с чем при некоторых способах получения гранатового сока сталкиваются как с уже свершившимся фактом), что не приветствовалось специалистами, которые считали, что присутствие кожуры может плохо повлиять на качество масла семян граната.

В вышеупомянутом патенте впервые было показано, что присутствие кожуры не только не изменяет цвет и вкус СК CO_2 экстракта со свойствами масла семян граната, но повышает его биологическую ценность из-за обогащения малым количеством «невидимых» полифенолов кожуры. Данный вывод подтвердился результатами других исследований, посвященных СК CO_2 экстракции смеси кожуры и семян граната [27, 28].

Некоторые аспекты экстрагирования гидрофильных веществ сырой кожуры и жома освещены (но не решены) в научной литературе. В качестве примера можно привести исследование, авторы которого сделали вывод о том, что не только растворитель, но и температура и время экстракции могут повлиять на извлечение полифенолов (эллагитаннина) из свежей кожуры граната [29]. Однако эти исследования могут рассматриваться лишь в качестве аналогов нашей статьи, а прототип, который бы касался экстракции не только полифенолов, но и других водолюбивых веществ, нами найден не был. Это связано с разницей в общей концепции: для большинства исследователей кожура представляет интерес в качестве источника полифенолов, тогда как наш подход основан на расширении списка целевых компонентов и более полном использовании функциональных возможностей технологии. В нашем представлении это должна быть многопродуктовая технология, не приводящая к образованию новых отходов в ходе или конце перерабатывающего процесса. Поэтому для нас ценны не только полифенолы, но и простые сахара и органические кислоты, без учета количественной экстракции которых невозможно представить полной картины экстракции в том виде, в котором хотели бы увидеть ее авторы этой статьи. Речь идет не только о кожуре, но и жоме гранатов, а режимные параметры экстракции должны быть строго привязаны к характеристикам исходного сырья.

Основной задачей этого исследования стало установление разницы в количественном составе отдельных групп гидрофильных веществ сырой кожуры и сырого жома гранатов и получение полной картины их извлечения в разных экспериментальных условиях.

Объекты и методы исследования

Работа проводилась с использованием гранатов сорта Ириданалы (в переводе с азербайджанского означает крупнозернистый) из Опорного пункта НИИ плодоводства и чаеводства, расположенного вблизи г. Геокчай (Азербайджан). Данный сорт граната был выбран с учетом наблюдающегося в последние годы роста его популярности среди местных производителей сельскохозяйственного сырья.

Организация работы и место ее проведения.

Плоды собирались в 2019–2020 гг. во время массового съема гранатов в последней декаде октября со всех сторон 3–5 взрослых деревьев. Средний образец в количестве 20 кг доставляли в лабораторию Технологий переработки и хранения НИИ плодоводства и чаеводства.

Опытная переработка велась по двум схемам, представленным на рисунках 1 и 2. Случайная выборка из нескольких плодов взвешивалась с помощью электронных весов BJ 610C Precisa (Швейцария) с дискретностью 0,01 г.

Схема 1 в качестве первого элемента включала взвешивание случайно отобранной выборки из нескольких плодов (рис. 1а) и отделение кожуры от зерен граната вручную. Эту работу по отделению зерен от кожуры граната облегчило устройство MoonStar, представляющее собой плошку из пищевого пластика объемом 1 л и крышку типа решетки. Перед тем как очистить гранат, его обстукивали со всех сторон деревянной лопаткой и резали плод по горизонтали на две части (разрез должен быть ровным). Ставили разрезом вниз на решетку и продолжали постукивать (длинная ручка лопатки позволяет достичь большой амплитуды, широкий край не портит кожуру; лучше не допускать того, чтобы гранат лопнул, т. к. перегородки будут попадать в зерна). То же самое проделывали с другой половинкой (рис. 1б). Из зерен граната был получен сок с помощью электрической соковыжималки-терки Эликсир СВСА-309 производства ФДГУП МиГ-РосТ (Москва, Россия) с автоматическим выбросом оголенных семян (рис. 1с).

В параллельных опытах (схема 2) был получен жом путем поштучного сдавливания половинок плодов в соковыжималке компании Hangzhou Creato Machinery Co., Ltd (Китай), работающей в ручном режиме по принципу пресса (рис. 2с).

Перед экстракцией проводилось измельчение сырой кожуры или жома до состояния крупно-

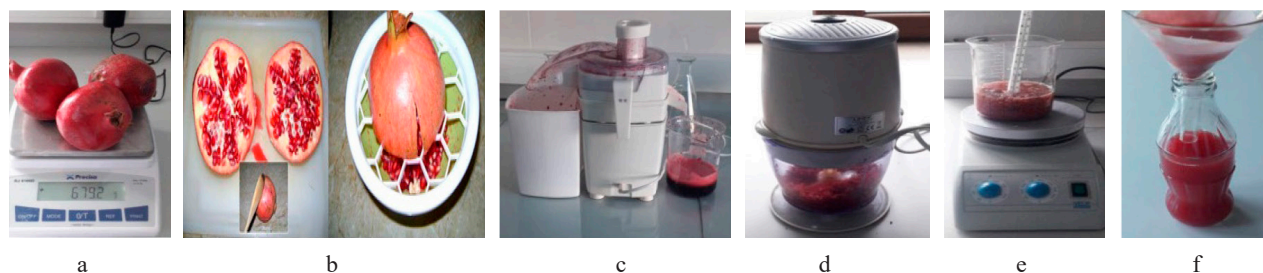


Рисунок 1. Получение гидрофильных экстрактов кожуры плодов граната: а – взвешивание случайно отобранной выборки из нескольких плодов; б – отделение зерен от кожуры граната с помощью устройства MoonStarr; с – обработка зерен граната в соковыжималке с автоматическим выбросом оголенных семян; d – измельчение кожуры в блендере; е – экстракция; f – отделение экстракта на воронке с фильтром

Figure 1. Obtaining hydrophilic extracts of pomegranate peel: a – weighing a randomly selected sample of several pomgranates; b – separation of seeds using the MoonStarr device; c – processing in a juicer with automatic ejection of bare seeds; d – grinding; e – extraction; f – separation on a funnel with a filter



Рисунок 2. Получение гидрофильных экстрактов жомы плодов граната: а – взвешивание случайно отобранной выборки из нескольких плодов; б – резка плодов на половинки с помощью острого ножа; с – отжим сока из половинок плодов в ручном прессе; d – измельчение твердого остатка в блендере с сохранением целостности находящихся в остатке семян; е – экстракция; f – отделение экстракта на воронке с фильтром

Figure 2. Obtaining hydrophilic extracts of pomegranate pulp: a – weighing a randomly selected sample of several pomgranates; b – halving with a sharp knife; c – squeezing juice from fruit halves in a manual press; d – grinding the solid residue in a blender while maintaining the integrity of the seeds in the residue; e – extraction; f – separation on a funnel with a filter

зернистой кашицы в блендере Bella 13454 в течение 3–5 с (Sensio, Монреаль, Канада) (рис. 1d, рис. 2d). Конструктивными особенностями этого блендера не предусмотрено использование насадки для измельчения твердых материалов типа семян граната. Это позволило сохранить целостность семян в составе измельченного жомы и предотвратить возможный переход в экстракты их внутреннего содержимого – крахмала и белка, которые могли вызвать сильное помутнение.

Промежуточные и конечные продукты переработки гранатов по схемам 1 и 2 представлены на рисунках 3 и 4.

Экстракция. Экстракция граната проводилась для отделения от кожуры тканей фенольных соединений. В связи с этим полярность растворителя, температура экстракции, соотношение твердого материала и растворителя и размер частиц являются важными параметрами процесса экстракции [30, 31]. В большинстве работ в качестве подходящих экстракционных растворителей для

достижения хороших выходов использовались органические растворители, такие как метанол и ацетон [12, 32, 33].

Некоторые ученые рекомендуют использовать экологически безопасные и нетоксичные органические растворители пищевого класса, такие как вода и этанол [34]. Используемая фраза «пищевой класс» означает, что человек может проглотить определенное количество конкретного соединения без вредных последствий для здоровья. Примеры пищевых соединений включают те соединения, которые «в целом признаны безопасными» (GRAS) управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) [35].

Экстракция комплекса гидрофильных веществ из измельченного материала проводилась методом мацерации в течение 30, 60 или 90 мин в стеклянных мерных стаканах компании Labdevices на 750 мл (Санкт-Петербург, Россия), содержащих 100 г сырой кожуры или жомы. Растворителями являлись чистая вода или водные растворы этилового спирта с

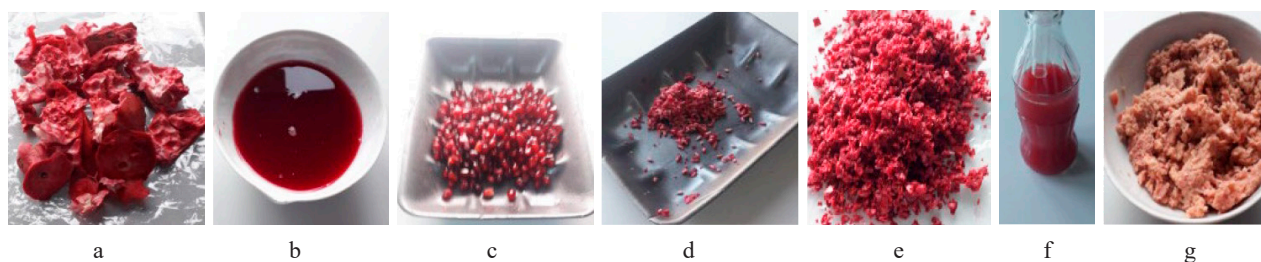


Рисунок 3. Промежуточные и конечные продукты переработки гранатов по схеме 1: а – кожура; б – сок; с – сочные зерна; d – отжатые зерна (семена); e – измельченная кожура; f – экстракт; g – твердый остаток от экстракции измельченной кожуры

Figure 3. Intermediate and final products of pomegranate processing, scheme 1: a – peel; b – juice; c – juicy seeds; d – pressed seeds; e – crushed peel; f – extract; g – solid residue from the crushed peel extraction

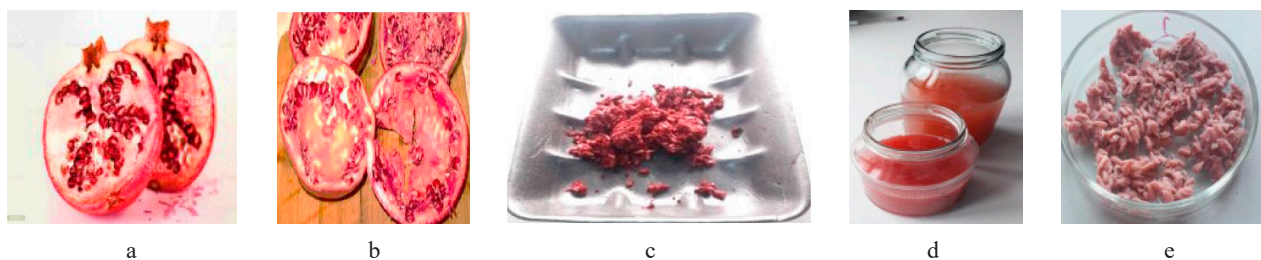


Рисунок 4. Промежуточные и конечные продукты переработки гранатов по схеме 2: а – половинки гранатов; б – жом; с – измельченный жом; d – экстракт; e – твердый остаток от экстракции измельченного жома

Figure 4. Intermediate and final products of pomegranate processing, scheme 2: a – pomegranate halves; b – pulp; c – crushed pulp; d – extract; e – solid residue from crushed pulp extraction

содержанием этилового спирта 10 или 14 об.%, в приготовлении которых использовался абсолютный этанол компании Merck KGaA (Darmstadt, Германия). Экстракционная смесь медленно перемешивалась (60 вращений мешалки/мин) с помощью ручного миксера Marta MT-1512 (Китай).

Экстракция проводилась в одну или две стадии (без выгрузки остатка, но с отдельным извлечением экстрактов от каждой стадии), в каждой из которых температура равнялась 40 или 60 °C в режиме медленного (за 30 мин) подогрева.

Гидромодуль (1:2) был выбран с учетом необходимости полного охвата растворителем всего объема измельченного материала.

Полученные экстракты извлекали каждый раз в колбу Бунзена после выгрузки экстракционной смеси на стеклянную воронку с двухслойным фильтром (первый слой из фильтровальной бумаги, второй – из прочной ткани) с помощью лабораторного поршневого вакуумного насоса Rocker 300 компании Rocker Scientific (Тайвань), способного создавать тягу в системах, подобной этой.

Остаток экстракта выделялся из мякоти под действием центробежной силы с помощью электрического спиннера SHOP 5952052 Store (Китай), работающего по принципу центрифуги.

Определение соотношений между соком и твердыми частями в гранатах сорта Ириданалы и содержания в них гидрофильных веществ. Механические анализы проводились путем раздельного взвешивания на весах с дискретностью 0,1 г составных частей каждого плода в отобранной из среднего образца случайным образом выборке из 30 плодов.

Для определения содержания гидрофильных веществ в кожуре, соке, оголенных семенах и жоме, а также в полученных из них экстрактах были использованы химические методы анализа.

Содержание растворимых сухих веществ определяли с помощью рефрактометра по ГОСТ 28562-90, простых сахаров – по методу Бертрана по ГОСТ 8756.134-87, который основан на способности альдегидной группы сахаров взаимодействовать с реактивом Фелинга и восстанавливать окись меди до закиси меди, выпадающей в виде осадка красного цвета. Общую кислотность устанавливали титрованием в присутствии цветового индикатора по межгосударственному стандарту ИСО 750-2013 (0,0064 – коэффициент пересчета 0,1 N раствора NaOH на лимонную кислоту). Определение аскорбиновой кислоты велось йодометрическим методом по ГОСТ 24556-89, сухих

веществ – высушиванием до постоянного веса по ГОСТ 33977-2016. Суммарное количество водорастворимых полифенолов устанавливали методом, основанным на титровании остатка индигокармина, не израсходованного на окисление фенольных веществ, 0,1 N раствором марганцовокислого калия. В реакцию с перманганатом вступают и другие соединения, поэтому сначала титруют все окисляющиеся этим реактивом вещества, затем ту их часть, которая осталась в экстракте после обработки активированным углем, способным адсорбировать полифенолы. По разности количества марганцовокислого калия, использованного на окисление в первый и второй разы, определяли содержание фенолов, используя 0,004157 в качестве коэффициента пересчета миллилитров 0,1 N раствора KMnO_4 в граммы фенолов. Этот принцип лежит в основе метода определения дубильных веществ в лекарственном сырье по ГОСТ 24027.2-80 и соответствующей статье Государственной Фармакопии России, которая также посвящена определению этих веществ в лекарственном сырье.

Оценка результативности испытанных режимных параметров экстракции. Сравнение результатов проводилось по отношению массы общего количества сухого вещества и гидрофильных веществ (сахара, органические кислоты, полифенолы) в экстракте к их начальной массе в кожуре или жоме. Сравнение проводилось на основании легкости сцеживания образовавшихся экстрактов. Это было связано с тем, что в некоторых испытанных вариантах экстракции, которые были проведены в слишком жестком режиме, кожура или жом к концу экстракции разрыхлялись так сильно, что для извлечения экстракта пришлось использовать тягу, создаваемую вакуумным насосом.

Обработка первичных данных. При оценке достоверности результатов механического анализа плодов рассчитывалось стандартное отклонение (SD) среднего результата 30 циклов статического взвешивания на весах компании Precisa (Швейцария) с дискретностью 0,1 г.

Химические анализы и технологические опыты проводились в 3–5 повторениях [36].

Результаты и их обсуждение

Определение характерного для плодов сорта Ириданалы баланса между составными частями. У сорта Ириданалы масса одного плода сильно варьируется: самый крупный из них весил 259,6 г (в нем было 375 зерен с общим весом 148,1 г), самый маленький – 192,6 г.

В отобранной из среднего образца случайным образом выборке из 30 плодов один плод в среднем весил $228,8 \pm 23,2$ г. Соотношение между кожурой ($108,30 \pm 12,61$ г) и сочными зернами ($120,60 \pm 13,89$ г) к их общей массе было равно 47,3 (кожура)/52,7 % (сочные зерна); соотношение между кожу-

рой ($108,30 \pm 12,61$ г) и оголенными семенами ($21,00 \pm 3,99$ г) к их общей массе составило 83,8 (кожура)/16,2 % (оголенные семена).

В рисунке 5 отражено процентное соотношение между кожурой, соком и оголенными семенами в плоде, которое было установлено с учетом данных механического анализа по всей выборке ($n = 30$).

Из рисунка 5 видно, что в полной сырой массе гранатов сорта Ириданалы на кожуру, сок и оголенные семена в среднем приходится 47,3, 43,5 и 9,2 % соответственно. Это означает, что переработка 1 т плодов этого сорта даст возможность получить 435 кг сока. В качестве побочных продуктов останется 473 кг сырой кожуры и 92 кг сырых семян.

Начальное содержание гидрофильных веществ в кожуре и оголенных семенах гранатов сорта Ириданалы, а также их смеси (жоме). Из таблицы 1, в которой дан химический состав сока, кожуры, оголенных семян и смеси кожуры и оголенных семян (жом), видно, что кожура является богатым источником как сухих веществ ($31,0 \pm 2,0$ г/100 г полной сырой массы кожуры), так и суммы водорастворимых веществ – простых сахаров, органических кислот и полифенолов.

Хотя содержание сухих веществ в сыром жоме ($35,7 \pm 2,8$ г/100 г полной сырой массы жома) выше, чем в сырой кожуре ($31,0 \pm 2,0$ г/100 г полной сырой массы кожуры), жом уступает кожуре по содержанию суммы водорастворимых веществ ($21,19$ г/100 г полной сырой массы жома против $26,45$ г/100 г полной сырой массы кожуры) (табл. 1). В жоме на водорастворимые вещества приходится в среднем 59,36 % от общего количества содержащегося в нем сухих веществ, в кожуре – 85,32 %.

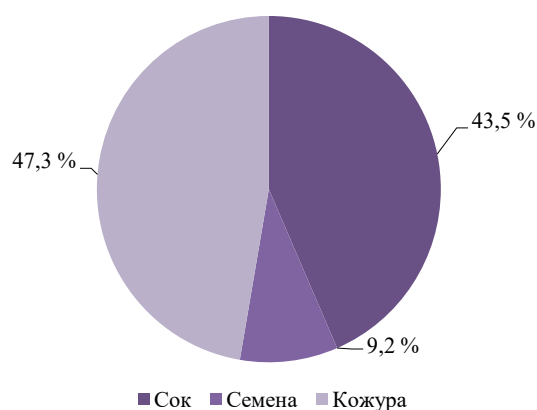


Рисунок 5. Диаграмма сравнения долей кожуры, сока и оголенных семян в плоде граната сорта Ириданалы ($n = 30$)

Figure 5. Peel, juice, and bare seeds in pomegranate of the Iridanali variety ($n = 30$)

Таблица 1. Содержание сухих и водорастворимых веществ в кожуре, оголенных семенах, соке и жоме (смесь кожуры и оголенных семян) гранатов сорта Ириданалы, г/100 г сырой массы

Table 1. Solids and water-soluble substances in peel, bare seeds, juice, and pulp (peel + seeds) of Iridanally pomegranate, g/100 g of wet weight

Часть плода	Сухие вещества	Водорастворимые вещества				
		Моносахариды	Сахароза	Органические кислоты	Полифенолы	Витамин С, мг/100 г
Кожура	31,0 ± 2,0	19,75 ± 1,24	1,33 ± 0,09	2,41 ± 0,16	2,96 ± 0,19	16,53 ± 1,07
Оголенные семена	47,5 ± 2,5	6,64 ± 0,35	0,45 ± 0,05	0,52 ± 0,08	0,32 ± 0,07	7,66 ± 1,50
Сок	18,4 ± 0,6	15,00 ± 0,37	0	1,45 ± 0,24	0,32 ± 0,07	8,89 ± 2,03
Жом	35,7 ± 2,8	15,99 ± 1,35	1,08 ± 0,04	1,88 ± 0,10	2,24 ± 0,20	16,31 ± 1,28

Среднее значение 5 повторных определений ± SD.

Mean of five replicates ± SD.

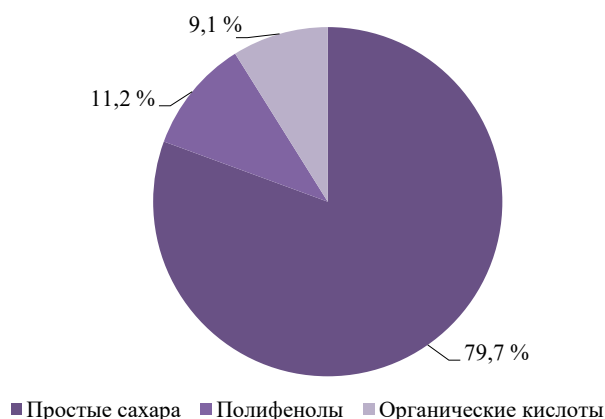


Рисунок 6. Диаграмма сравнения долей простых сахаров, органических кислот и полифенолов в кожуре гранатов сорта Ириданалы, % к их суммарному количеству

Figure 6. Simple sugars, organic acids, and polyphenols in Iridanally pomegranate peel, % of total amount

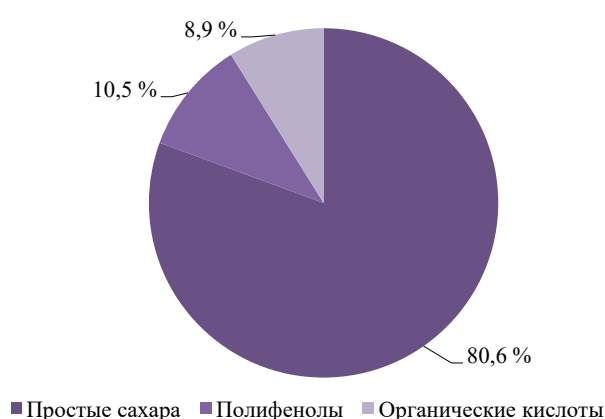


Рисунок 7. Диаграмма сравнения долей простых сахаров, органических кислот и полифенолов в жоме гранатов сорта Ириданалы, % к их суммарному количеству

Figure 7. Simple sugars, organic acids, and polyphenols in Iridanally pomegranate pulp, % of total amount

На рисунках 6 и 7 отражен баланс между сахарами, органическими кислотами и полифенолами к их общему содержанию в сырой кожуре гранатов сорта Ириданалы.

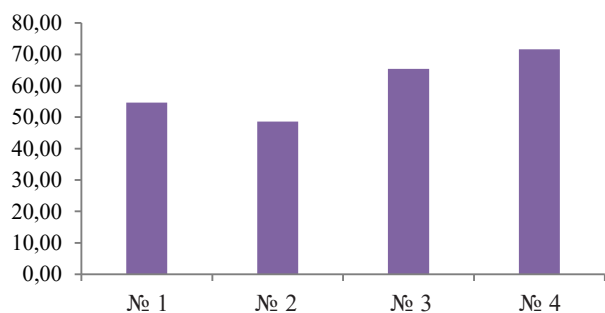
Как видно из рисунков 6 и 7, в общем количестве водорастворимых веществ, приходящемся на 100 г кожуры или жома, основная часть (79,7 и 80,6 % соответственно) приходится на простые сахара. Это говорит о том, что процесс их экстракции должен вестись с расчетом на последующее использование не только полифенолов, но и простых сахаров.

Влияние режимных факторов на количественную экстракцию сухих и водорастворимых веществ. Рисунок 8 отражает результаты экстрагирования измельченной кожуры гранатов сорта Ириданалы чистой водой или водным раствором этанола с концентрацией этилового спирта 10 об.% (соотношение между кожурой и растворителем 1:2) в одну или две стадии продолжительностью 30 мин каж-

дая. Из рисунка 8 видно, что степень извлечения сухих веществ изменяется в зависимости от примененного растворителя, стадийности процесса и жесткости термического воздействия на кусочки кожуры.

В варианте № 1, где экстрагентом являлась чистая вода, а экстракция велась путем подогрева смеси, состоящей из кусочков кожуры и растворителя, до 60 °С за 30 мин, степень экстракции сухих веществ невысокая – 54,6 % от их начального содержания в сырой кожуре. Это связано с наличием в кожуре гидрофильных коллоидов, способных впитывать воду и снижать выход экстракта.

Так как гидропектин хорошо экстрагируется теплой водой, то следствием этого стало чрезмерное помутнение жидкой фазы в результате перехода в нее растворимого пектина из кусочков сырья. Эти недостатки меньше характерны для вариантов № 2–4, в состав растворителя которых входил



№ 1 – растворитель – чистая вода, экстракция путем подогрева смеси до 60 °С за 30 мин

№ 2 – растворитель – водный раствор этанола, экстракция путем подогрева смеси до 40 °С за 30 мин

№ 3 – растворитель – водный раствор этанола, экстракция в течение 30 мин при 60 °С

№ 4 – растворитель – водный раствор этанола, экстракция путем двукратного подогрева смеси до 60 °С за 30 мин с отдельным извлечением экстрактов от 1-ой и 2-ой стадий процесса

Рисунок 8. Гистограмма сравнения степени извлечения сухих веществ из кожуры гранатов сорта Ириданалы в зависимости от примененного растворителя, стадийности процесса и температурного режима, % от начального содержания сухих веществ в сырой коже

Figure 8. Comparative histogram: solid extraction degree from Iridanali pomegranate peel, depending on the solvent used, the stage, and the temperature, % of initial solids in raw peel

Таблица 2. Зависимость степени извлечения сухих и водорастворимых веществ из кусочков кожуры и жома гранатов сорта Ириданалы от времени экстрагирования водным раствором этанола с концентрацией этилового спирта 14 об.% при гидромодуле 1:2 и температуре 40 °С, % от их начального содержания в 100 г кожуры или жома

Table 2. Extraction degree of solids and water-soluble substances from Iridanali pomegranate peel/pulp depending on extraction time with an aqueous solution of ethanol with 14 % vol. ethanol at a hydromodulus of 1:2 and 40 °C, % of the initial content in 100 g peel/pulp

Время экстракции, мин	Сухие вещества	Водорастворимые вещества			
		Простые сахара	Органические кислоты	Полифенолы	Всего
Кожура					
30	51,94 ± 0,52	60,56 ± 0,58	59,80 ± 0,55	40,54 ± 0,37	58,16 ± 0,55
60	55,81 ± 0,54	63,80 ± 0,61	63,50 ± 0,60	45,61 ± 0,41	61,69 ± 0,58
90	63,20 ± 0,60	73,05 ± 0,70	68,20 ± 0,64	50,68 ± 0,47	70,03 ± 0,66
Жом					
30	34,88 ± 0,33	66,08 ± 0,64	64,43 ± 0,60	43,57 ± 0,40	64,84 ± 0,61
60	41,96 ± 0,40	73,32 ± 0,71	71,13 ± 0,69	50,43 ± 0,46	68,29 ± 0,63
90	48,50 ± 0,45	80,88 ± 0,75	80,41 ± 0,78	54,00 ± 0,50	77,99 ± 0,72

Среднее значение 5 повторных определений.

Average value of five replicates.

этиловый спирт, способствующий коагуляции растворимого пектина и препятствующий его диффузии в жидкую фазу.

Степень экстракции сухих веществ в варианте № 3, в котором экстракция велась водным раствором этанола при температуре 60 °С в течение 30 мин, достигла 65,4 %. Однако в результате такого жесткого термического воздействия произошло разрыхление кусочков кожуры и затруднилось отсасывание образовавшегося экстракта, что неприемлемо для изучаемого процесса.

Максимальная степень экстракции сухих веществ (71,6 %) была отмечена в варианте № 4, в котором происходит подогрев измельченной кожуры вместе с добавленным к ней водным раствором этанола до 60 °С за 30 мин в два приема с отдельным извлечением экстрактов от 1-ой и 2-ой стадий процесса. Расчеты показали, что в этом варианте степень экстракции водорастворимых веществ равна 83,93 % от их начального содержания в сырой коже. В

варианте № 4 кусочки кожуры лучше сохраняли свою форму, чем в варианте № 3 с постоянным ведением процесса при температуре 60 °С.

Анализ данных этого этапа исследования показал, что в варианте № 2 (подогрев смеси кожуры с водным раствором этанола и с концентрацией этилового спирта 10 об.% до 40 °С за 30 мин) удалось извлечь 48,6 % сухих веществ. Это связано с недостатком времени, отведенного на экстракцию при низкой температуре.

Чтобы уточнить влияние времени экстракции на степень экстракции целевых компонентов при увеличении продолжительности процесса в условиях нежесткого температурного воздействия на кусочки кожуры и жома, были проведены дополнительные опыты. Их результаты представлены в таблице 2. В этих и других опытах измельчение жома проводилось так, чтобы оно не касалось оголенных семян и позволило сохранить их целыми, т. к. могло произойти помутнение жидкой фазы такими водо-

экстрагируемыми веществами, как гидропектин, крахмал и др., которыми богаты семена граната.

Из таблицы 2 видно, что при температурном режиме 40 °С за 90 мин удается извлечь из кожуры 63,20 % сухих веществ и 58,16 % водорастворимых веществ, а из жома – 48,50 и 77,9 % соответственно от их начального содержания в этих источниках.

Сравнение полученных в этих и предыдущих опытах результатов показывает, что максимальная степень экстракции водорастворимых веществ из кожуры, равная 83,93 % от их начального содержания, была достигнута в предыдущем эксперименте в варианте № 4, в котором экстракция проводилась с использованием в качестве растворителя водного раствора этанола путем подогрева смеси кожуры и растворителя до 60 °С за 30 мин в две стадии с отдельным извлечением экстрактов от 1-ой и 2-ой стадий процесса.

В таблице 3 представлены результаты испытания этого варианта на жоме.

Из таблицы 3 видно, что степень экстракции сухих и водорастворимых веществ высокая и через 30 мин с момента начала процесса (1 стадия экстракции) равна 50,90 и 80,47 % соответственно, а через 60 минут – 58,17 и 91,40 % соответственно от их начального содержания в жоме. Это на 9,67 % (сухие вещества) и 13,41 % (водорастворимые вещества) больше, чем в предыдущем опыте с экстракцией жома этим же растворителем при 40 °С в течение 90 мин.

В этом варианте из 1 кг сырого жома было получено чуть менее 4 кг смешанного экстракта, в результате уваривания которого под вакуумом было получено 260 г концентрата с содержанием сухих веществ 60 масс.%, в том числе моносахаридов – 46,70 г/100 г, органических кислот – 4,73 г/100 г, полифенолов – 3,70 г/100 г и витамина С – 10,10 мг/100 г.

В конце всех проведенных опытов были получены послеэкстракционные остатки высокой влажности, из которых был удален избыток экстракта с помощью спиннера.

В результате такой обработки влажность остатков кожуры и смеси кожуры и семян оставалась высокой – в среднем 81 (остаток кожуры) и 77 масс.% (остаток смеси кожуры и семян).

В производственных условиях обработка послеэкстракционных остатков может быть проведена с помощью небольшого дегидрататора, предназначенного для частичного осушения и обезвоживания растительной и фруктовой массы, такого как спринер FZHS-15 (Fengxiang Food Machinery, Китай). Эта машина может принимать в один раз 10–15 кг сырья. С ее помощью сначала может быть выделен избыток экстракта из послеэкстракционного остатка, а затем может проводиться его просушка. Спринер FZHS-15 поставляется с панелью управления, с помощью которой могут быть установлены время обезвоживания и скорость вращения. Аппарат изготовлен из нержавеющей стали, работает по принципу центробежной силы и электромагнитного тормоза, стоит около \$3,5 тыс. Есть более мощные модели стоимостью от \$15 тыс.

Влажный остаток от экстрагирования жома по вышеописанному варианту был высушен до постоянного веса (рис. 9а). Выход высушенного до постоянного веса нерастворимого остатка составил 132 г/кг сырого жома. В нем на остаток кожуры пришлось 69 г (52,3 %), на остаток оголенных семян – 63 г (47,7 %), тогда как в исходном материале – сыром жоме – соотношение между кожурой и оголенными семенами было 82,2 (кожура):17,8 масс.% (семена).

Сухой остаток сначала был измельчен в дезинтеграторе тонкого помола до фракции около 1 мм (рис. 9б). Полученный порошок был разделен на сите для муки на две фракции: мелкодисперсную (60 масс.%) (рис. 9с) и крупнодисперсную (40 масс.%) (рис. 9д).

Как видно из таблицы 4, мелкодисперсная и крупнодисперсная фракции отличались по содержанию водорастворимых веществ.

Из данных таблицы 4, можно рассчитать количество простых сахаров, органических кислот и полифенолов с учетом выхода сухого остатка из 100 г сырого жома и начального содержания этих веществ

Таблица 3. Степень извлечения сухих и водорастворимых веществ из кусочков сырого жома гранатов сорта Ириданалы в варианте с медленным (30 мин) двукратным подогревом смеси кожуры и растворителя водного раствора этанола с массовой концентрацией этилового спирта 14 об.% до температуры 60 °С без выгрузки твердого остатка от 1-ой стадии из экстрактора, но с отдельным извлечением экстрактов от 1-ой и 2-ой стадий, %

Table 3. Extraction degree of solids and water-soluble substances from raw Iridanali pomegranate pulp with slow (30 min) double heating of the peel and solvent mix of aqueous ethanol solution with 14 % vol. ethyl alcohol at 60°C without unloading the solid residue from stage 1 from the extractor, but with separate extraction from stages 1 and 2, %

Стадии процесса	Сухие вещества	Водорастворимые вещества			
		Простые сахара	Органические кислоты	Полифенолы	Всего
1	50,90 ± 0,48	83,40 ± 0,79	81,83 ± 0,78	60,00 ± 0,54	80,47 ± 0,77
2	7,27 ± 0,05	11,98 ± 0,09	8,76 ± 0,05	5,00 ± 0,02	10,93 ± 0,07

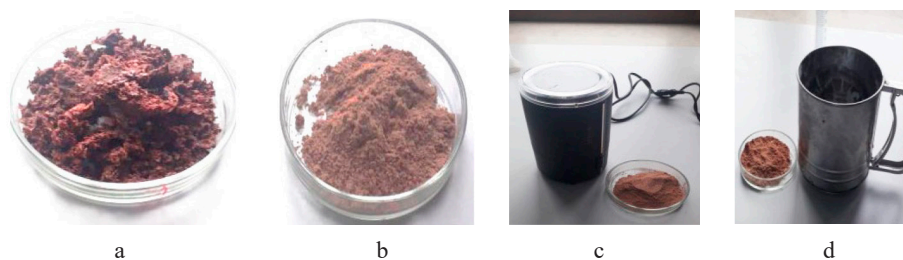


Рисунок 9. Промежуточные и конечные продукты переработки остатка от экстракции жом: 1 – высушенный послеэкстракционный остаток; 2 – он же после тонкого измельчения в дезинтеграторе; 3 – мелкодисперсная фракция от разделения на сите для муки (60 %); 4 – крупнодисперсная фракция от разделения на сите для муки (40 %)

Figure 9. Intermediate and final products of pulp extraction residue processing: 1 – dried post-extraction residue; 2 – after fine grinding in a disintegrator; 3 – fine fraction from separation on a flour sieve (60%); 4 – coarse fraction from separation on a flour sieve (40%)

Таблица 4. Содержание водорастворимых веществ в высушенном до постоянного веса остатке жоме гранатов сорта Ириданали и двух фракциях от ее разделения на сите для муки, г/100 г сухой массы

Table 4. Water-soluble substances in the residue of Iridanali pomegranate pulp dried to constant weight and two fractions from its separation on a flour sieve, g/100 g dry weight

Простые сахара	Органические кислоты	Полифенолы	Витамин С
Мелкодисперсная фракция, 60 масс.%			
15,05 ± 0,12	1,65 ± 0,01	1,73 ± 0,01	17,60 ± 0,15
Крупнодисперсная фракция, 40 масс.%			
10,25 ± 0,08	0,850 ± 0,005	1,97 ± 0,02	15,85 ± 0,11
Весь остаток в целом			
12,76 ± 0,10	1,27 ± 0,008	1,840 ± 0,015	16,76 ± 0,13

в 100 г исходного сырого материала. В результате такого расчета становится ясно, что в нерастворимом остатке сохранилось 9,59 % простых сахаров, 8,76 % органических кислот и 10,43 % полифенолов от их начального содержания в 100 г сырого жом.

Учитывая, что технологические параметры процесса можно привязать к влагосодержанию, кожура и жом перед экстрагированием могут быть высушены. Это позволит работать с концентрированным сырьем, т. к. в результате высушивания содержание водолюбивых веществ в кожуре возрастет в 3 раза, в семенах почти в 2 раза.

При оптимизации этих процессов можно будет исходить из еще одного установленного факта: чем крепче водный раствор этанола (в пределах 14–50 об.%), тем меньше вязких балластных веществ попадет в экстракт. С другой стороны, применение 50 % водного этанола связано с усложнением технологии из-за необходимости регенерации этилового спирта для повторного использования, чего не происходит при использовании в качестве экстрагента гранатовых полифенолов чистой воды.

Экстракционный процесс является комплексной структурой, включающей смачивание исходного материала экстрагентом, растворение суммы экстрак-

тивных веществ и вытеснение концентрированных растворов непрерывным потоком растворителя. В связи с этим совершенствование экстракции как суммы технологических операций может проходить в рамках фильтрационной экстракции непрерывным потоком экстрагента. Преодоление гидравлического сопротивления будет достигаться при вакуумировании приемника экстракта или наложении давления на слой жидкости над сырьем. Кроме того, в этом случае исключается необходимость достижения равновесия концентраций во всей массе системы «сырье – экстрагент» в качестве необходимого условия в методе мацерации.

В этом направлении нами были проведены первые опыты с кожурой и жомом, высушенными до остаточного содержания воды 8 % и приведенными в состояние тонкого порошка. Испытанные порошки кожуры и жомы были с влагопоглощающей способностью 4,8 и 4,4 г/г соответственно (соотношение массы порошков со стаканом после опускания в воду к массе порошков со стаканом до опускания в воду); их жиропоглощающая способность равнялась 6,2 и 6,0 г/г соответственно (соотношение массы порошков со стаканом после опускания в растительное масло к массе порошков со стаканом до опускания в масло).

Экстрагирование порошкообразной кожуры проводилось горячим (70 °С) водным раствором этилового спирта с массовой концентрацией этанола 50 об.% с постоянной сменой экстрагента в процессе фильтрующей экстракции тонко измельченного исходного материала. Используемая система фильтрующей экстракции состояла из стеклянной воронки и колбы Бунзена, к которой через резиновый шланг был подключен насос для воды.

Порошок в количестве 100 г выкладывался в стеклянную воронку, наделенную фильтрующим слоем, состоящим из бумажного и матерчатого фильтров один поверх другого. Матерчатый фильтр укладывался под бумажным фильтром, т. к. бумажный фильтр мог не выдержать постоянной тяги, создаваемой насосом. Воронку с порошком и экстрагентом все время оставляли открытой, чтобы отсасывание экстракта не проходило слишком быстро.

Опыты показали, что первые порции экстрагента впитываются кожурой почти в полном объеме в соответствии с влагопоглощающей способностью. Экстракт начинает отделяться после того как массовое соотношение между порошком и экстрактом достигает 1:5.

При непрерывном потоке и вытеснении насыщенных растворов фронтального слоя в фильтрационной экстракции наблюдалось сохранение максимальной разницы в концентрации веществ в сырье и растворителе как движущей силы процесса извлечения.

В этих опытах за 1–1,2 ч появилась возможность получить из кожуры максимально концентрированные извлечения (до 20 %) в первых сливах и извлечь за весь процесс 62–65 % сухих веществ и 78–81 % гидрофильных веществ от начального их содержания в порошке при расходе до 12 объемов растворителя на единицу массы порошка.

В одном из литературных источников отмечено, что присутствующие в кожуре полифенолы имеют разную степень липофильности, поэтому для их экстракции требуются растворители разной полярности. К этому заключению пришли при изучении влияния типа растворителя и гомогенизации на выход экстрактов. Плод граната сначала разделяли на кожуру и мякоть, а затем на половинки: одну половинку гомогенизировали, а другую оставляли нетронутой. Для извлечения полифенолов из 4 образцов использовали этанол, этилацетат и гексан в порядке убывания полярности с использованием метода мацерации. Экстракция проводилась последовательно с использованием остатка, извлеченного из предыдущей экстракции. Этанол был использован во второй раз для завершения процесса экстракции. Эксперимент показал, что для извлечения соединений из кожуры и мякоти

граната может применяться процесс мацерации: в нем достигается почти такой же выход, как и в более сложных в исполнении методах, а этанол является подходящим для этой цели растворителем [37].

Работа Z. Wissam и др. посвящена экстракции кожуры граната водными растворителями. В ней были испытаны температуры от 20 до 90 °С и время экстракции от 5 до 60 мин. Удалось установить, что извлечение полифенолов является максимальным в тех опытах, где экстрагирование велось водой при 50 °С в течение 20 мин. За водой следовал 50 % водный этанол, а этилацетат давал самый низкий выход экстракта. Изучение влияния pH среды показало, что полифенолы лучше экстрагируются водой, а проантоцианидины – буферным раствором с pH 3,5. Это исследование показало, что преимущество в этом отношении имеет водная экстракция в две последовательные стадии [38].

Ранее нами уже было проведено исследование, направленное на более полное извлечение полифенолов из измельченных плодов граната с помощью водных растворителей. Оно говорит в пользу двухстадийной экстракции, а не одностадийной [39].

Выводы

Проведенное исследование показало, что хотя концентрация сухих веществ в сыром жоме гранатов сорта Ириданалы ($35,70 \pm 1,35$ масс.%) выше, чем в кожуре ($31,0 \pm 2,0$ масс.%), водорастворимых веществ намного больше в кожуре (85,32 %), чем в жоме (59,36 %). Это видно из полученных данных по содержанию отдельных групп гидрофильных веществ – моносахаридов, титруемых кислот и полифенолов – в кожуре ($19,75 \pm 1,24$, $2,41 \pm 0,16$ и $2,96 \pm 0,19$ % к сырой массе) и жоме ($15,99 \pm 1,35$, $1,88 \pm 0,10$ и $2,24 \pm 0,20$ % к сырой массе). Чтобы извлечь максимальное количество гидрофильных веществ (83,93 и 91,4 %) от их начального содержания в предварительно измельченной кожуре или жоме, надо проводить двухступенчатую экстракцию двойным количеством водного этанола с массовой концентрацией этилового спирта в пределах 10–14 об.% в режиме подогрева смеси измельченного материала и растворителя за 30 мин до 60 °С с извлечением экстракта от 1-ой стадии отдельно от экстракта от 2-ой стадии (без выгрузки твердого остатка из экстракционной емкости).

Этанол с массовой концентрацией этилового спирта в пределах 10–14 об.% как экстрагент показал себя лучше воды, т. к. делает экстракты менее мутными и облегчает их отделение благодаря коагулирующему действию на водорастворимый пектин. Использование в качестве растворителя водного раствора этанола с концентрацией этанола более 10–14 об.% повысит прозрачность экстрактов и облегчит их извлечение. С другой сто-

роны, использование слишком крепких спиртовых растворов увеличит затраты на отгонку спирта из образовавшегося экстракта.

Поэтому такие недостатки предложенного режима, как частичный перенос в экстракт вязкого пектина и необходимость отгонки из него спирта, лучше устранить за счет экстракции данного сырья чистой водой с добавлением пектолитического фермента.

Критерии авторства

О. Н. Мусина – руководитель проекта, С. Г. Гафизов и Г. К. Гафизов – исполнители исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликтов интересов.

Contribution

O.N. Musina supervised the project, S.G. Hafizov and G.K. Hafizov performed the research.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Guiné RPF, Florença SG, Barroca MJ, Anjos O. The link between the consumer and the innovations in food product development foods. *Foods*. 2020;9(9). <https://doi.org/10.3390/foods9091317>
2. Horvat A, Behdani B, Fogliano V, Luning PA. A systems approach to dynamic performance assessment in new food product development. *Trends in Food Science and Technology*. 2019;91:330–338. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.036>
3. El-Shamy S, Farag MA. Novel trends in extraction and optimization methods of bioactives recovery from pomegranate fruit biowastes: Valorization purposes for industrial applications. *Food Chemistry*. 2021;365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130465>
4. Kahramanoğlu I. Trends in pomegranate sector: Production, postharvest handling and marketing. *International Journal of Agriculture, Forestry and Life Sciences*. 2019;3(2):239–246.
5. Jithender B, Vyas DM, Abhisha S, Rathod PJ. Determination of physical and mechanical properties of pomegranate (*Var. bhagwa*) fruit and aril. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017;6(10):879–885. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.610.105>
6. Harscoat-Schiavo C, Khoualdia B, Savoie R, Hobloss S, Buré C, Samia BA, et al. Extraction of phenolics from pomegranate residues: Selectivity induced by the methods. *Journal of Supercritical Fluids*. 2021;176. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105300>
7. Turrini F, Malaspina P, Giordani P, Catena S, Zunin P, Boggia R. Traditional decoction and PUAE aqueous extracts of pomegranate peels as potential low-cost anti-tyrosinase ingredients. *Applied Sciences*. 2020;10(8). <https://doi.org/10.3390/app10082795>
8. Gullón P, Astray G, Gullón B, Tomasevic I, Lorenzo JM. Pomegranate peel as suitable source of high-added value bioactives: Tailored functionalized meat products. *Molecules*. 2020;25(12). <https://doi.org/10.3390/molecules25122859>
9. Das AK, Nanda PK, Chowdhury NR, Dandapat P, Gagaoua M, Chauhan P, et al. Application of pomegranate by-products in muscle foods: Oxidative indices, colour stability, shelf life and health benefits. *Molecules*. 2021;26(2). <https://doi.org/10.3390/molecules26020467>
10. Abid M, Yaich H, Cheikhrouhou S, Khemakhem I, Bouaziz M, Attia H, et al. Antioxidant properties and phenolic profile characterization by LC-MS/MS of selected Tunisian pomegranate peels. *Journal of Food Science and Technology*. 2017;54(9):2890–2901. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2727-0>
11. El-Hadary AE, Taha M. Pomegranate peel methanolic-extract improves the shelf-life of edible-oils under accelerated oxidation conditions. *Food Science and Nutrition*. 2020;8(4):1798–1811. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1391>
12. Kennas A, Amellal-Chibane H. Comparison of five solvents in the extraction of phenolic antioxidants from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *North African Journal of Food and Nutrition Research*. 2019;3(5):140–147. <https://doi.org/10.51745/najfnr.3.5.140-147>
13. Kharchoufi S, Licciardello F, Siracusa L, Muratore G, Hamdi M, Restuccia C. Antimicrobial and antioxidant features of “Gabsi” pomegranate peel extracts. *Industrial Crops and Products*. 2018;111:345–352. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.037>
14. Alexandre EMC, Silva S, Santos SAO, Silvestre AJD, Duarte MF, Saraiva JA, et al. Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. *Food Research International*. 2019;115:167–176. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.044>

15. Trigo JP, Alexandre EMC, Silva S, Costa E, Saraiva JA, Pintado M. Study of viability of high pressure extract from pomegranate peel to improve carrot juice characteristics. *Food and Function*. 2020;11(4). <https://doi.org/10.1039/C9FO02922B>
16. Zhai X, Zhu C, Li Y, Zhang Y, Duan Z, Yang X. Optimization for pectinase-assisted extraction of polysaccharides from pomegranate peel with chemical composition and antioxidant. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;109:244–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.06>
17. Lampakis D, Skenderidis P, Leontopoulos S. Technologies and extraction methods of polyphenolic compounds derived from pomegranate (*Punica granatum*) peels. A mini review. *Processes*. 2021;9(2). <https://doi.org/10.3390/pr9020236>
18. Charalampia D, Koutelidakis AE. From pomegranate processing by-products to innovative value added functional ingredients and bio-based products with several applications in food sector. *BAOJ Biotechnology*. 2017;3(1).
19. Rahnemoon P, Sarabi Jamab M, Javanmard Dakheli M, Bostan A, Safari O. Comparison of two methods of solvent extraction of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2018;20:939–952.
20. Gafizov G. Extraction of pomegranate fruit peel with aqueous solvents. *Universum: Engineering Sciences*. 2015;18(6). (In Russ.). [Гафизов Г. К. Экстрагирование кожуры плодов граната водными растворителями // *Universum: технические науки*. 2015. Т. 18. № 6.].
21. Hafizov QK. Hardware and technological scheme of the extraction of water from the peel of pomegranate fruit machine cleaning. *Austrian Journal of Technical and Natural Sciences*. 2015;(5–6):24–30. (In Russ.). [Гафизов Г. К. Аппаратурно-технологическая схема водного экстрагирования кожуры от машинной очистки плодов граната // *Austrian Journal of Technical and Natural Sciences*. 2015. № 5–6. С. 24–30.].
22. Fahmy H, Hegazi N, El-Shamy S, Farag MA. Pomegranate juice as a functional food: A comprehensive review of its polyphenols, therapeutic merits, and recent patents. *Food and Function*. 2020;11(7). <https://doi.org/10.1039/D0FO01251C>
23. Li BB, Smith B, Hossain MM. Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*. 2013;48(2):189–196. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.07.019>
24. Tamborlin L, Sumere BR, de Souza MC, Pestana NF, Aguiar AC, Eberlin MN, *et al.* Characterization of pomegranate peel extracts obtained using different solvents and their effects on cell cycle and apoptosis in leukemia cells. *Food Science and Nutrition*. 2020;8(10):5483–5496. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1831>
25. Dhumal SS, Karale AR, Jadhav SB, Kad VP. Recent advances and the developments in the pomegranate processing and utilization: A review. *Journal of Agriculture and Crop Science*. 2014;1(1):1–17.
26. Gafizov SG, Gafizov GK. Method of producing lipophilic complexes, polyphenols and food additives from pomegranate juice production by-products. Russia patent RU 2712602C1. 2020. [Способ получения липофильных комплексов, полифенолов и пищевых добавок из побочных продуктов производства гранатового сока: пат. 2712602C1 Рос. Федерация. № 2018139435 / Гафизов С. Г., Гафизов Г. К.; заявл. 07.11.2018; опубл. 29.01.2020; Бюл. № 4. 29 с.].
27. Tan W-K, Lee S-Y, Lee W-J, Hee Y-Y, Abedin NHZ, Abas F, *et al.* Supercritical carbon dioxide extraction of pomegranate peel-seed mixture: Yield and modeling. *Journal of Food Engineering*. 2021;301. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110550>
28. Harscoat-Schiavo C, Khoualdia B, Savoie R, Hobloss S, Buré C, Samia BA, *et al.* Extraction of phenolics from pomegranate residues: Selectivity induced by the methods. *Journal of Supercritical Fluids*. 2021;176. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105300>
29. Kushwaha SC, Bera MB, Kumar P. Extraction of polyphenols from fresh pomegranate peel using response surface methodology. *Asian Journal of Chemistry*. 2015;27(12):4320–4326.
30. da Fonseca Machado AP, Sumere BR, Mekaru C, Martinez J, Bezerra RMN, Rostagno MA. Extraction of polyphenols and antioxidants from pomegranate peel using ultrasound: influence of temperature, frequency and operation mode. *International Journal of Food Science and Technology*. 2019;54(9):2792–2801. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14194>
31. Samsuri S, Li TH, Ruslan MSH, Amran NA. Antioxidant recovery from pomegranate peel waste by integrating maceration and freeze concentration technology. *International Journal of Food Engineering*. 2020;16(10). <https://doi.org/10.1515/ijfe-2019-0232>
32. Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review. *Food Chemistry*. 2018;261:75–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.039>
33. Kaderides K, Kyriakoudi A, Mourtzinis I, Goula AM. Potential of pomegranate peel extract as a natural additive in foods. *Trends in Food Science and Technology*. 2021;115:380–390. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.050>

34. Indurkar SJ, Rathod VK. Aqueous two-phase extraction of punicalagin ($\alpha+\beta$) from pomegranate peel by the response surface method. *Separation Science and Technology*. 2019;54(1):51–58. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1488866>
35. Bartnik DD, Mohler CM, Houlihan M. Methods for the production of food grade extracts. US Patent № 20060088627. 2006.
36. Sileyev KJ. Research design and methodology. In: Abu-Taieh E, El Mouatasim A, Al Hadid IH, editors. *Cyberspace*. IntechOpen; 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85731>
37. Idris AM, Atif AB, Mohd Adzim KR. Exhaustive extraction of compounds from pomegranate peel and flesh using solvents of varying polarity. *Asian Journal of Medicine and Biomedicine*. 2017;1(1):10–13.
38. Wissam Z, Ghada B, Wassim A, Warid K. Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012;4(3):675–682.
39. Hafizov SG, Qurbanov IS, Hafizov GK. Improving the biotechnology of pomegranate botanical extracts, taking into account the need to deepen the processing of raw materials. *Journal of Biological Sciences*. 2020;20(3):103–111. <https://doi.org/10.3923/jbs.2020.103.111>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2426>
<https://elibrary.ru/IMYVOX>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Гибридный гель для замены твердых жиров в кондитерских изделиях



В. С. Куценкова^{1,*}, Н. В. Неповинных¹, С. А. Еганехзад²

¹Саратовский государственный университет
генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Саратов , Россия

²Научно-исследовательский институт пищевых наук и технологий, Мешхед, Иран

Поступила в редакцию: 13.05.2022

Принята после рецензирования: 08.11.2022

Принята к публикации: 06.12.2022

*В. С. Куценкова: vasilissakutsenkova@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-2468-9725>

Н. В. Неповинных: <https://orcid.org/0000-0003-2923-9202>

С. А. Еганехзад: <https://orcid.org/0000-0001-7467-4778>

© В. С. Куценкова, Н. В. Неповинных, С. А. Еганехзад, 2023



Аннотация.

Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано ограничить потребление насыщенных жирных кислот. Однако прямая замена твердых жиров жидкими маслами может привести к изменению технологических и потребительских свойств пищевых продуктов. Целью работы являлась разработка гибридного геля, имеющего плотную структуру, на основе олеогеля и гидрогеля для замены насыщенных жиров в кондитерском полуфабрикате.

Объектами исследования являлись образцы олеогеля из подсолнечного масла и пчелиного воска в концентрации 10, 15 и 20 % и гибридные гели, приготовленные путем смешивания олеогеля с 2 %-ым водным раствором альгината натрия в соотношениях 99:1, 95:5 и 90:10. Текстурные свойства гелей (прочность, адгезионную прочность, индекс вязкости, консистенцию и модуль Юнга) исследовали на анализаторе текстуры TA-XT Plus (Stable Micro Systems Ltd., Великобритания), активность воды – на анализаторе активности воды LabMaster (Novasina, Lab Master, Швейцария).

Образцы олеогеля с концентрацией воска 20 и 15 % имели хорошие показатели адгезионной прочности. Результаты исследования показали, что лучшим образцом гибридного геля является образец с соотношением олеогель с концентрацией воска 20 % и гидрогель 95:5. Такое соотношение позволило достичь достаточной прочности геля ($\leq 408,222$) при поддержании плотной и равномерной текстуры продукта (модуль Юнга $\leq 17,05$) в течение длительного периода времени. Результаты исследования активности воды показали, что олеогели относятся к продуктам с низкой влажностью ($A_w = 0,6 \pm 0$). Срок хранения гибридного геля при температуре от 4 до 10 °C составил 6 месяцев. Разработанные образцы гибридных гелей имели хорошие сенсорные свойства: чистый вкус и запах, прочную однородную структуру и консистенцию. В работе была предложена рецептура и технология приготовления кондитерского полуфабриката с гибридным гелем вместо 30 % заменителя какао-масла.

Применение гибридных гелей может быть рекомендовано в качестве заменителя масла какао (или кондитерских жиров) для уменьшения количества насыщенных и трансжирных кислот в кондитерских изделиях. Такая замена позволит получить полуфабрикаты и готовое изделие с хорошими потребительскими свойствами.

Ключевые слова. Олеогель, насыщенные жирные кислоты, ненасыщенные жирные кислоты, трансжиры, структурообразователь, гидроколлоиды, кондитерское производство

Финансирование. Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-402.2022.4. Исследование выполнялось с использованием оборудования ЦКП «Исследовательский центр пищевых и химических технологий» Кубанского государственного технологического университета (КубГТУ) (СКР_3111), развитие которого поддерживается Министерством науки и высшего образования РФ (Минобрнауки России) (Соглашение № 075-15-2021-679).

Для цитирования: Куценкова В. С., Неповинных Н. В., Еганехзад С. А. Гибридный гель для замены твердых жиров в кондитерских изделиях // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 183–191. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2426>

Hybrid Gel as a Substitute for Hard Fats in Confectionery



Vasilissa S. Kutsenkova^{1,*}, Nataliia V. Nepovinnykh¹,
Samira A. Yeganehzad²

¹ N.I. Vavilov Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering^{ROR}, Saratov, Russia

² Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

Received: 13.05.2022

Revised: 08.11.2022

Accepted: 06.12.2022

*Vasilissa S. Kutsenkova: vasilissakutsenkova@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-2468-9725>

Nataliia V. Nepovinnykh: <https://orcid.org/0000-0003-2923-9202>

Samira A. Yeganehzad: <https://orcid.org/0000-0001-7467-4778>

© V.S. Kutsenkova, N.V. Nepovinnykh, S.A. Yeganehzad, 2023



Abstract.

The World Health Organization recommends reducing the intake of saturated fatty acids. However, a direct replacement of solid fats with liquid oils affects the technological and consumer properties of food. The research objective was to develop a hybrid gel with a dense structure based on oleogel and hydrogel to replace saturated fats in semi-finished confectionery products.

The study featured samples of oleogel from sunflower oil and beeswax at a concentration of 10, 15, and 20% and hybrid gels prepared by mixing the oleogel with a 2% aqueous solution of sodium alginate at ratios of 99:1, 95:5, and 90:10. The samples were tested for strength, adhesive power, viscosity index, consistency, and Young modulus using a TA-XT Plus texture analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK). The water activity was studied using a water activity analyzer LabMaster (Novasina, Lab Master, Switzerland).

The oleogel samples with wax concentrations of 20 and 15% demonstrated good adhesive strength. The best hybrid gel was the oleogel with 20% wax at the ratio of 95:5 to hydrogel. This ratio resulted in a considerable gel strength (≤ 408.222) while maintaining a dense and uniform texture (Young modulus ≤ 17.05) for a long time. The oleogels had low moisture content ($A_w = 0.6 \pm 0$). The shelf life at 4–10°C was 6 months. The samples had good sensory properties, i.e., clear taste and smell, strong uniform structure and consistency, etc. The paper introduces a formulation for a semi-finished confectionery product with a hybrid gel instead of 30% cocoa butter substitute.

Hybrid gels can be recommended as a substitute for cocoa butter or confectionery fats to reduce the amount of saturated and trans fatty acids. Such a replacement improves the consumer properties of semi-finished and finished products.

Keywords. Oleogel, saturated fatty acids, unsaturated fatty acids, trans fats, structurant, hydrocolloids, confectionery

Funding. This study was supported by the Grant of President of Russian Federation for Young Scientists, no. MK-402.2022.4. The research involved the equipment of the Research Center for Food and Chemical Technologies of Kuban State Technological University (KUBSTU)^{ROR} (CKP_3111) supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Minobrnauka)^{ROR} (Agreement № 075-15-2021-679).

For citation: Kutsenkova VS, Nepovinnykh NV, Yeganehzad SA. Hybrid Gel as a Substitute for Hard Fats in Confectionery. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):183–191. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2426>

Введение

Ученые и диетологи обеспокоены тем, что длительное потребление насыщенных жиров, особенно трансжиров, может вызвать неблагоприятные последствия для здоровья, такие как метаболический синдром, ожирение, высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний, диабет II типа и когнитивные расстройства. По этой причине Всемирная организация здравоохранения предложила перейти от потребления насыщенных твердых

жиров к ненасыщенным жидким маслам в качестве ориентира для здорового образа жизни и к 2030 г. полностью отказаться от использования первых. Однако прямая замена твердых жиров жидким маслом может привести к такой технологической проблеме, как слабость текстуры из-за низкой вязкости. Это связано с тем, что в пищевых продуктах насыщенные жиры, а также гидрогенизированные растительные масла, являющиеся источниками транс-изомерных жирных кислот, играют роль в структуре и сенсорных

атрибутов пищевых продуктов и выполняют функцию структурирующего агента [1–3].

Исключение жиров из продуктов питания возможно за счет использования структурообразователей – гидроколлоидов (пектины, крахмалы, камеди, каррагинаны и др.), позволяющих удерживать жидкую среду в структуре водного геля. Применение гидроколлоидов возможно в гидрофильной пищевой системе с учетом индивидуальных особенностей каждого структурообразователя, что не позволяет их использовать в составе многих пищевых продуктов с сохранением сенсорных и функциональных свойств. Лишены этих недостатков олеогели (органогели, структурированные пищевые масла) – твердые дисперсные системы, дисперсионной средой которых являются жидкие пищевые масла, а дисперсной фазой – низко- или высокомолекулярные соединения, образующие постоянную однородную структуру. К низкомолекулярным структурообразователям относятся *n*-алканы и воски, жирные кислоты и высшие спирты, гидроксильированные жирные кислоты, моноглицериды, фитостерины, керамиды, эфиры сорбитана и лецитин. В качестве полимерных структурообразователей используются производные целлюлозы, хитин и хитозан [2–5].

Среди потенциальных структурообразователей для производства олеогелей наиболее подходящими являются воски, отдельные фракции которых способны проявлять различную структурирующую способность. Основным принципом получения олеогелей на основе пищевых масел с воском является нагревание отдельных компонентов до температуры плавления воска (50–65 °С) с последующим их диспергированием и образованием олеогеля при охлаждении до температуры 18–20 °С. В зависимости от требуемых свойств готового олеогеля концентрация вводимого структурообразователя может варьироваться от 1 до 20 %. Основными определяемыми свойствами используемых олеогелей являются морфологические и структурные характеристики, температура фазового перехода, скорость охлаждения, стабильность готовых гелей при хранении, в зависимости от температуры, и другие факторы. Данные об окислительной стабильности олеогелей неоднозначны.

Независимо от вида воска, перекисное число в олеогелях выше, чем перекисное число исходного масла. Несмотря на это, в процессе хранения олеогели проявляют большую стабильность к накоплению продуктов перекисного окисления липидов [6–10]. Принимая во внимание тот факт, что воски не являются веществами антиоксидантной природы, механизм их антиоксидантного действия в составе структурированных пищевых масел остается предметом обсуждений. Одним из возможных объяснений может быть то, что в результате повышения плотности масла снижается скорость диффузии кислорода и скорость развития окислительных процессов.

У многих исследователей отмечается интерес к возможности комбинирования различных природных восков для получения гелей с заданными свойствами, а также получения гибридных гелей. При изучении бинарных комбинаций различных восков (парафин, пчелиный воск, подсолнечный воск, воск рисовых отрубей) была показана возможность проявления эвтектического фазового поведения при их смешении за счет сокристаллизации и взаимосвязь между фракционным составом воска и реологическими свойствами олеогеля [8].

Гибридные гели – это двухфазные системы, которые получают комбинацией гелей на водной (гидрогель) и масляной основах (олеогель). Гидрогели обладают уникальными свойствами в составе пищевых продуктов (формоустойчивость, гелеобразование, растворимость в воде, смешиваемость с водной фазой) и совместимостью с различными пищевыми нутриентами. Это позволяет использовать их для создания продуктов питания различных агрегатных состояний. Однако из-за своей гидрофильной природы (растворимости в водной фазе) гидрогели не совместимы с гидрофобными растворителями, к числу которых относятся растительные жиры, входящие в состав многих пищевых продуктов [5, 8].

Комбинация гидрогеля и олеогеля приводит к получению т. н. гибридных гелей (или бигелей), обладающих как гидрофильными, так и липофильными характеристиками. Применение гибридных гелей в пищевых продуктах должно быть ориентировано на их реализацию в сложных пищевых системах эмульсионной природы. Уникальные термодинамические свойства, вязкоупругость и разнообразие наличия физиологически функциональных ингредиентов в составе пищевых продуктов (например, жирорастворимых витаминов, антиоксидантов и др.) являются одними из наиболее важных характеристик этого типа гелей. Эти свойства могут быть достигнуты с помощью совершенствования рецептур продуктов питания с использованием гибридных гелей и различных комбинаций рецептурных ингредиентов, способствующих увеличению их технологического потенциала в пищевых технологиях [11–16].

Поэтому разработка пищевых форм гибридных гелей – заменителей насыщенных жиров и трансжиров – и способов их включения в технологии продуктов здорового питания является актуальной задачей.

Цель работы – разработка способа получения гибридного геля и технологии кондитерского полуфабриката с его применением.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись образцы олеогелей, полученные комбинацией подсолнечного масла (ГОСТ 1129-2013) и пчелиного воска

(ГОСТ 21179-2000); образцы гибридных гелей, полученные комбинацией олеогеля и 2 %-ого водного раствора альгината натрия (ГОСТ 33310-2015); кондитерский полуфабрикат на основе гибридного геля, рецептурными ингредиентами для изготовления которого служили изомальт (ГОСТ EN 15086-2015), какао-порошок (ГОСТ 108-2014) и лецитин (ГОСТ 32052-2013).

Олеогели готовили путем смешивания подсолнечного масла и пчелиного воска, гибридные гели – путем приготовления эмульсии олеогеля с 2 %-ым водным раствором альгината натрия. Для получения олеогеля пчелиный воск диспергировали в масло путем непрерывного перемешивания с помощью магнитной мешалки с подогревом ES-6120 (Экрос, России) при скорости 280 об/мин в течение 5 мин при температуре 80 °С. Для получения гибридного геля в приготовленный олеогель вводили 2 %-ый водный раствор альгината натрия. Смесь гомогенизировали с помощью гомогенизатора с цифровым/аналоговым управлением WiseTis HG-15D (Labortechnik, Германия), используя диспергирующую насадку NT-1025, до получения эмульсии (800 об/мин в течение 15 с, затем 60 с при 1600 об/мин). Каждый образец олеогеля/гибридного геля стабилизировали при 20 °С в течение 3 ч перед исследованием.

Текстурные свойства олеогелей, гибридных гелей и кондитерского полуфабриката на основе гибридного геля исследовали при температуре 18 ± 2 °С с помощью анализатора текстуры TA-XT Plus (Stable Micro Systems Ltd., Великобритания). Количественными параметрами, извлеченными из кривой сила – время, были прочность (максимальная пиковая сила в первом цикле сжатия), консистенция (площадь до положительного пика в первом цикле), адгезионная прочность (пиковая отрицательная сила в первом цикле сжатия), индекс вязкости (отрицательная площадь в первом цикле) и модуль Юнга (отношение давления на образец к относительно изменению его линейного размера во время испытания).

Прочность описывается как высота первого пика сжатия и характеризует твердость образца при укусе. Консистенция характеризует связность образца в первом цикле сжатия (разрушения). Адгезионная прочность характеризуется устойчивостью, т. е. насколько хорошо продукт «борется за восстановление своей первоначальной высоты». Устойчивость измеряется при выходе из первого проникновения до начала периода ожидания. Индекс вязкости характеризует сплоченность (когезионность) изделия после разрушения структуры. Изделие является когезионным, если оно прилипает к самому себе при некотором напряжении сжатия и обладает высокой связностью, для чего его нужно много раз пережевывать, чтобы расщепить. Когезия – это

энергия или количество раз, необходимое для размельчения продукта до тех пор, пока он не станет приемлемым для проглатывания. Многие пищевые продукты подвергаются различным механическим воздействиям еще до их употребления. Продукт с сильной когезией будет более устойчив к нагрузкам при производстве, упаковке и доставке и будет представлен потребителям в «ожидаемом» состоянии. Продукт с плохим сцеплением не будет приемлемым. Модуль Юнга – это физическая величина, характеризующая способность материала сопротивляться деформации.

Данные показатели были рассчитаны с помощью программного обеспечения Exponent, поставляемого вместе с прибором, и выражены в следующих единицах измерения: прочность – г, адгезионная прочность – г, индекс вязкости – г·с, консистенция – г·с, модуль Юнга – Па.

Активность воды изучали на анализаторе активности воды LabMaster (Novasina, Lab Master, Швейцария) – высокоточном приборе для получения быстрых и воспроизводимых результатов измерений показателя активности воды в соответствии со стандартом ISO 18787.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследования разработали три состава олеогелей, полученные комбинацией подсолнечного масла и пчелиного воска в концентрации 10, 15 и 20 %. Пчелиный воск является пищевой добавкой E-901 и используется в пищевой промышленности как глазирователь и природный консервант. Пчелиный воск признан органогелатором, используемым для структурирования пищевого масла из-за его эффективной гелеобразующей способности при очень низких массовых фракциях кристаллов. Пчелиный воск был одобрен исследованиями ученых ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», которые указали, что он является структурообразователем пищевых олеогелей, а также безопасным и экологически чистым продуктом пчеловодства [10]. Пчелиный воск представляет собой сложную смесь неполярных и полярных компонентов. Основными компонентами воска являются сложные эфиры алифатических карбоновых кислот и высших жирных спиртов (до 73 %), предельные углеводороды (до 13,5 %), свободные жирные кислоты (до 14,5 %) и свободные жирные спирты (до 1,25 %). Линейная структура кристаллов пчелиного воска, образованных молекулярными единицами, служит для имитации кристаллической сети жира. Таким образом, структурные свойства кристаллов воска вносят вклад в конечную текстуру и пластичность олеогелей.

Различные масляные фазы также связаны с образованием и стабильностью сетчатой структуры в олеогелях. Группа канадских исследователей под руководством профессора А. Марангони

предположила, что твердая сеть олеогеля, потенциально состоящая из восковых кристаллов, представляет собой совокупность кластеров и фрактальных хлопьев по аналогии с сетью жировых кристаллов в твердых жирах [11]. Поэтому можно получить информацию о возможности потенциального использования олеогелей в качестве нового твердого жирового продукта, исследовав их микроструктуру и текстурные свойства.

Текстура является важным атрибутом качества изделий, влияющим на сенсорные свойства, вкус и глотательные свойства пищи. Особенности текстуры пищи могут указывать на ее качество и влиять на предпочтения потребителей. На консистенцию и жевательную способность гелей влияют свойства и концентрация гелеобразователей, а также их баланс с некристаллизующейся фазой продукта. Физические или текстурные характеристики зависят от содержания влаги в продукте. L. B. Da Silva и др. в своей работе предложили классификацию по значениям твердости изделий: очень мягкие (0,18–0,77 Н), мягкие (4,08–15,43 Н), твердые (56,39 Н) и очень твердые (171,09 Н) [12]. Для перевода Ньютоны в граммы существует зависимость: 1 Ньютон (вес) равен 101,971601 грамм, 1 грамм равен 0,009807 Ньютонов (вес).

В предыдущей работе мы изучили микроструктуру разработанных олеогелей с концентрацией воска 10, 15 и 20 % [13]. Было установлено, что при низкой концентрации воска 10 % олеогель имел неоднородную слабую гелевую структуру с большими порами и грубыми сшитыми цепями. Олеогели с 15 и 20 % воска демонстрировали плотную микроструктуру с небольшими порами из-за повышенной гидрофобности полимерных цепей и повышенного сшивания микроструктур в олеогелях. Это связано с тем, что при понижении температуры алифатические цепи молекул пчелиного воска сворачиваются, образуя волокнистые кристаллы, которые формировали, переплетаясь друг с другом, сетевые структуры, в которые захватываются частицы растительного масла посредством межмолекулярного взаимодействия. По мере уменьшения размера кристаллов общее количество твердой поверхности увеличивается, обеспечивая большую межфазную площадь, на которой масло может адсорбироваться с последующим увеличением способности удерживаться в масляном геле.

Текстурные характеристики разработанных образцов олеогелей с различной концентрацией воска представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, в образцах наблюдались различия в прочности. Наибольшей прочностью обладал образец олеогеля с концентрацией воска 20 %. Если перевести значения измеренной прочности в Ньютоны, то получится, что данный образец, как и образец с концентрацией воска 15 %, по значению твердости можно отнести к «мягким» изделиям. В то время как образец с концентрацией воска 10 % будет отнесен по твердости к «очень мягким». Изменение прочности в гелях связано с уменьшением концентрации воска в составе. Это может быть частично связано с уменьшением общего количества гидрофобных алифатических связей в образцах, что влияет на формирование компактной гелевой сети.

Повышение концентрации воска в олеогелях влияло на когезионность гелей. Когезионность отражает внутреннюю прочность гелевой сети и структурную целостность гелей. Образцы с концентрацией воска 15 и 20 % имели хорошие показатели адгезионной прочности, что не отмечалось у образца с концентрацией воска 10 %. Для последующих исследований была выбрана концентрация воска в составе олеогеля 20 % как наиболее приемлемая.

На втором этапе исследования разработали три состава гибридных гелей, полученных комбинацией олеогеля с концентрацией воска 20 % и гидрогеля (2 %-ого раствора альгината натрия) при соотношении 99:1, 95:5 и 90:10. Разработка гибридных гелей (бигелей) обусловлена тем, что гидроколлоиды популярны при разработке новых гелевых систем из-за их загустевающих, гелеобразующих и текстурных свойств. Исследования многих ученых показали, что гидрогели необходимы для структуры эмульсионного геля из-за возникновения дополнительных водородных связей.

Составы получены впервые и не имеют аналогов, в ходе испытаний оценивались присущие им текстурные характеристики (табл. 2). Модуль Юнга, рассчитываемый как отношение давления на образец к относительному изменению его линейного размера во время испытания, дает сведения об эластичности продукта. Увеличение модуля Юнга является следствием более плотной и равномерной текстуры [14].

Таблица 1. Текстурные характеристики олеогелей

Table 1. Texture of oleogels

Показатель, г	Значение показателя для олеогеля		
	Концентрация воска 20 %	Концентрация воска 15 %	Концентрация воска 10 %
Прочность	1494,088	526,785	103,532
Адгезионная прочность	–581,950	–546,466	–231,412

Из данных таблицы 2 видно, что разработанные составы гибридных гелей обладают приемлемыми текстурными характеристиками благодаря образованию трехмерной сети, агрегации и сшиванию гидрогеля и олеогеля. С увеличением концентрации гидрогеля значения прочности снижаются. Образец гибридного геля при соотношении 99:1 (олеогель:гидрогель) имел самую высокую твердость, отрицательно влияющую на текстуру геля. Высокая концентрация органогелатора при низкой концентрации гидрогеля в составе геля приводит к кристаллической и рассыпчатой массе на стадии охлаждения. Об этом свидетельствует ряд других характеристик (адгезионная прочность, консистенция, индекс вязкости, модуль Юнга). Образец гибридного геля при соотношении 90:10 с большей концентрацией гидрогеля обладал более мягкой текстурой и низкой прочностью ($\leq 303,188$ г), а также самым высоким значением активности воды ($A_w = 0,36$). Это может привести к более мягкой текстуре изготовленных продуктов, а также повысить внутреннюю подвижность всех молекул, присутствующих в олеогеле. Оптимальными характеристиками для применения в рецептуре кондитерского полуфабриката обладал образец гибридного геля с соотношением олеогеля и гидрогеля 95:5. Такое соотношение позволяет достичь достаточной прочности геля ($\leq 408,222$) при поддержании плотной и равномерной текстуры (модуль Юнга $\leq 17,05$) продукта в течение длительного периода времени.

Данные по активности воды в гибридных гелях представлены на рисунке 1.

По данным рисунка 1 видно, что значение активности воды образца гибридного геля 90:10 больше, чем у образцов гибридных гелей с соотношением 99:1 и 95:5, за счет исключаящего процесса формирования кристаллической решетки из-за высокой концентрации гидрогеля. Однако все разработанные образцы гибридных гелей по величине активности воды относятся к продуктам с низкой влажностью ($A_w = 0,6 \pm 0$), т. е. вода в их составе находится в связанном состоянии, что может способствовать увеличению сроков хранения изделий, приготовленных с их использованием. Поскольку вода участвует в гидролитических процессах, то ее связывание за счет используемых структурообразователей тормозит многие реакции и ингибирует рост микроорганизмов, удлиняя сроки хранения готовых продуктов. Срок хранения гибридного геля при температуре от 4 до 10 °C составляет 6 месяцев.

Установлено, что разработанные образцы гибридных гелей имели хорошие сенсорные свойства: чистый вкус и запах, прочную однородную структуру и консистенцию.

На следующем этапе исследования разработали рецептуру кондитерского полуфабриката на основе

Таблица 2. Текстурные характеристики гибридных гелей

Table 2. Texture of hybrid gels

Наименование показателя	Значение показателя для гибридного геля		
	99:1	95:5	90:10
Прочность, г	472,076	408,222	303,188
Адгезионная прочность, г	–242,458	–187,512	–143,323
Консистенция, г·с	4428,577	3904,416	2897,065
Индекс вязкости, г·с	–1819,657	–1771,638	–1418,064
Модуль Юнга, Па	19,68	17,05	12,64

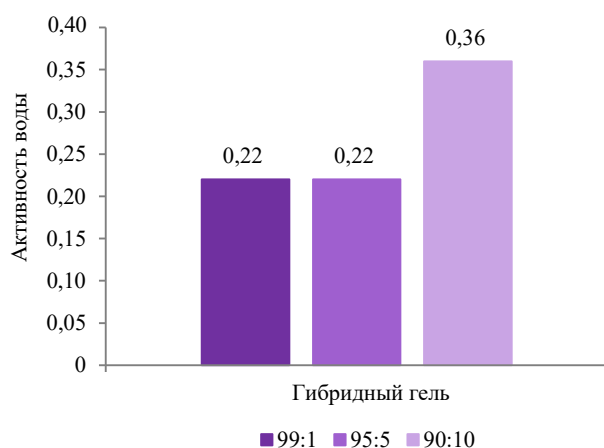


Рисунок 1. Активность воды в гибридных гелях

Figure 1. Water activity in hybrid gels

гибридного геля. Согласно ГОСТ Р 53041-2008 «кондитерский полуфабрикат – это пищевой продукт, полученный в результате обработки одного или нескольких видов сырья, с добавлением или без добавления пищевых ингредиентов, пищевых добавок и ароматизаторов, применяемый для дальнейшего использования при производстве кондитерских изделий». Кондитерский полуфабрикат содержит микрочастицы рецептурных ингредиентов – изо-мальта, какао-порошка и лецитина, диспергированные в непрерывной фазе заменителя какао-масла. В кондитерском полуфабрикате непрерывная фаза обеспечивает сетчатую структуру, которая поддерживает пространственное положение дисперсной фазы и определяет ее микроструктуру, текстуру, кристаллизацию и реологические свойства, а также придает продукту характерный вкус.

Рецептуры контрольного и разработанного образцов кондитерских полуфабрикатов представлены в таблице 3.

Рецептура контрольного образца кондитерского полуфабриката предполагает использование заменителя какао-масла, придающего определен-

Таблица 3. Рецептуры кондитерских полуфабрикатов

Table 3. Formulations for confectionery semi-finished products

Наименование рецептурных компонентов	Расход рецептурных компонентов, кг	
	Кондитерский полуфабрикат (контрольный образец)	Кондитерский полуфабрикат (опытный образец)
Изомальт	36,0	36,0
Какао-порошок	33,0	33,0
Заменитель какао-масла	30,0	—
Гибридный гель	—	30,0
Лецитин	1,0	1,0
Выход	100,0	100,0

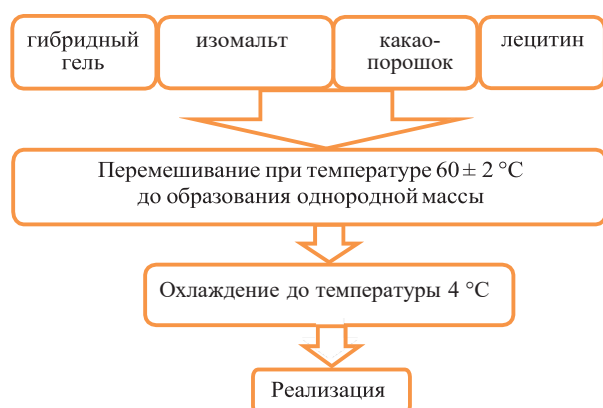


Рисунок 2. Технологический процесс приготовления кондитерского полуфабриката на основе гибридного геля

Figure 2. Technology of a semi-finished hybrid-gel confectionery product

ные технологические свойства изделию, но являющегося источником твердых насыщенных жиров и трансжиров. В таком продукте использование гибридных гелей вместо какао-масла имеет преимущества, поскольку бигели могут обеспечить не только желаемую термическую стабильность: полная замена жиросоставляющего компонента на разработанный пищевой гибридный гель будет способствовать исключению доли насыщенных жиров и трансжиров в готовом продукте.

Технологический процесс приготовления кондитерского полуфабриката на основе разработанного гибридного геля представлен на рисунке 2.

Полученный гибридный гель смешивают с кондитерским изомальтом, какао-порошком и лецитином при температуре 60 ± 2 °C до образования однородной массы. Продукт охлаждают до температуры 4 °C и отправляют на реализацию. Разработанный продукт предполагается использовать в качестве начинок кондитерских и мучных кондитерских изделий.

Выводы

Твердые жиры, такие как частично гидрогенизированные растительные масла, являются основной частью рациона современного человека из-за своих уникальных пластических и функциональных свойств. Однако обычные твердые жиры содержат насыщенные и трансжирные кислоты, которые при чрезмерном употреблении оказывают негативное влияние на сердечно-сосудистое здоровье и напрямую связаны с ожирением и диабетом. Важно найти новый жировой продукт, который может заменить функционально-технологические возможности твердых жиров без какого-либо негативного влияния на здоровье человека.

Олеогелирование является методом отверждения растительного масла для замены традиционного твердого жира в пищевых продуктах. Данный способ позволяет получать олеогели, т. е. трехмерные супрамолекулярные сети самособирающихся молекул (олеогелатора), улавливающие масло и характеризующиеся плотной, термостабильной и вязкоупругой структурой.

В работе было проведено комплексное исследование по созданию способа получения гибридного геля на основе растительного масла и натуральных структурообразователей и представлено сравнение и обсуждение текстуры, свойств удерживания масла и микроструктуры полученных олеогелей и гибридных гелей, а также были разработаны рецептура и технология кондитерского полуфабриката с использованием гибридного геля в качестве нового жирового продукта.

Критерии авторства

В. С. Куценкова – обзор литературы, проведение и обработка результатов экспериментальных исследований, написание статьи, привлечение финансирования. Н. В. Неповинных – научное руководство, анализ результатов исследования, написание и редактирование статьи. С. А. Еганехзад – проведение и анализ результатов исследования текстурных характеристик олеогелей и бигелей.

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.S. Kutsenkova performed the literature review, conducted the experiments, processed the results, wrote the article, and raised funds. N.V. Nepovinnikh provided

scientific guidance, analyzed the research results, wrote and proofread the manuscript. S.A. Yeganehzad conducted the research, analyzed the textural properties of oleogels and bigels, and analyzed the results. All the authors equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for any potential cases of plagiarism.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Nagpal T, Sahu JK, Khare SK, Bashir K, Jan K. Trans fatty acids in food: A review on dietary intake, health impact, regulations and alternatives. *Journal of Food Science*. 2021;86(12):5159–5174. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15977>
2. Baranova ZA, Krasina IB, Tarasenko NA. Trends in the production of reduced trans fats. Innovative research and development for scientific support of production and storage of environmentally friendly agricultural and food products: Proceedings of the III International Scientific and Practical Conference; 2019; Krasnodar. Krasnodar: State All-Russian Scientific Research Institute of Tobacco, Makhorka and Tobacco Products; 2019. p. 38–43. (In Russ.). [Баранова З. А., Красина И. Б., Тарасенко Н. А. Тенденции в производстве жиров с пониженным содержанием трансизомеров // Инновационные исследования и разработки для научного обеспечения производства и хранения экологически безопасной сельскохозяйственной и пищевой продукции: сборник материалов III Международной научно-практической конференции. Краснодар, 2019. С. 38–43.].
3. Demirkessen I, Mert B. Recent developments of oleogel utilizations in bakery products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020;60(14):2460–2479. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1649243>
4. Martins AJ, Silva P, Maciel F, Pastrana LM, Cunha RL, Cerqueira MA, et al. Hybrid gels: Influence of oleogel/hydrogel ratio on rheological and textural properties. *Food Research International*. 2019;116:1298–1305. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.019>
5. Qi W, Li T, Zhang Z, Wu T. Preparation and characterization of oleogel-in-water Pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals. *Food Hydrocolloids*. 2020;110. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106206>
6. Gao Y, Lei Y, Wu Y, Liang H, Li J, Pei Y, et al. Beeswax: A potential self-emulsifying agent for the construction of thermal-sensitive food W/O emulsion. *Food Chemistry*. 2021;349. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129203>
7. Doan CD, To CM, De Vrieze M, Lynen F, Danthine S, Brown A, et al. Chemical profiling of the major components in natural waxes to elucidate their role in liquid oil structuring. *Food Chemistry*. 2017;214:717–725. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.123>
8. Kochetkova AA, Sarkisyan VA, Kodentsova VM, Frolova YuV, Sobolev RV. Food oleogels: Properties and prospects of use. *Food Industry*. 2019;(8):30–35. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10132>
9. Dragomiretskiy YuA. Healing properties of fats and oils. Donetsk: Stalker; 1997. 347 p. (In Russ.). [Драгомирецкий Ю. А. Целебные свойства жиров и масел. Донецк: Сталкер, 1997. 347 с.].
10. Sobolev RV, Frolova YuV, Sarkisyan VA. Beeswax as a food oleogels structure agent. Fundamentals of healthy nutrition and ways to prevent alimentary-dependent diseases: Proceedings of the II School of Young Scientists; 2019; Moscow. Moscow: Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety; 2019. p. 131. (In Russ.). <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/RE46T>
11. Demchenko EA, Savenkova TV, Mizinchikova II. Effects of oils and fats on the quality characteristics, nutritional value, and storage capacity of cookies. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(4):674–689. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-674-689>
12. Tereshchuk LV, Zagorodnikov KA, Starovoitova KV, Viushinskij PA. Physical and chemical parameters of emulsifiers and their effect on the process of food emulsion formation. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(4):915–929. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-915-929>
13. Gorbacheva MV, Tarasov VE, Kalmanovich SA, Sapozhnikova AI. Electrochemical activation as a fat rendering technology. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):32–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-32-42>
14. Baranova ZA, Krasina IB, Nikonovich SN, Baranova EI. Research of fat mixtures – analogues mid-fraction of palm oil. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*. 2021;380–381(2–3):65–68. (In Russ.). <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2021.2-3.16>

15. Gorbacheva MV, Tarasov VE, Kalmanovich SA, Sapozhnikova AI. Ostrich fat production using electrolyzed fluid. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(1):21–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-1-21-31>
16. Lilishentseva AN. Quality examination and competitiveness evaluation of cocoa butter substitutes. *Bulletin of Mogilev State University of Food Technologies*. 2019;26(1):104–111. (In Russ.). [Лилишенцева А. Н. Экспертиза качества и оценка конкурентоспособности заменителей масла какао // Вестник Могилевского государственного университета продовольствия. 2019. Т. 26. № 1. С. 104–111.].
17. Tang D, Marangoni AG. Modeling the rheological properties and structure of colloidal fat crystal networks. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2008;318(2):202–209. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.09.062>
18. da Silva LB, Queiroz MB, Fadini AL, da Fonseca RCC, Germer SPM, Efraim P. Chewy candy as a model system to study the influence of polyols and fruit pulp (açaí) on texture and sensorial properties. *LWT – Food Science and Technology*. 2016;65:268–274. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.006>
19. Kosareva EV, Chuplina VS, Kutsenkova VS, Nepovinnukh NV. Organogels – substitutes for saturated and trans fats: Production and application in food technologies. *Fundamentals and Perspectives of Organic Biotechnologies*. 2021;(2):16–20. (In Russ.). [Органогели – заменители насыщенных и транс-жиров: производство и применение в пищевых технологиях / Е. В. Косарева [и др.] // Основы и перспективы органических биотехнологий. 2021. № 2. С. 16–20.].
20. Kodatsky YuA, Klyukina ON, Nepovinnykh NV, Ptichkina NM, Shmakov SL, Eganekhzad S, *et al.* Study of the viscoelastic properties and water activity in the marshmallow, based on polysaccharides of plant and microbial origin. *Food Industry*. 2016;(4):30–33. (In Russ.). [Изучение вязко-упругих свойств и активности воды в маршмеллоу на основе полисахаридов растительного и микробного происхождения / Ю. А. Кодацкий [и др.] // Пищевая промышленность. 2016. № 4. С. 30–33.].

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2427>
<https://elibrary.ru/MGZXCF>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Оценка биологической безопасности молочных продуктов, содержащих антибиотики



О. С. Чаплыгина^{1,*}, О. В. Козлова¹,
М. Ю. Жарко², А. Н. Петров²

¹ Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 27.12.2022

Принята после рецензирования: 30.01.2023

Принята к публикации: 07.02.2023

*О. С. Чаплыгина: chapligina_95@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-3193-858X>

О. В. Козлова: <https://orcid.org/0000-0002-2960-0216>

А. Н. Петров: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© О. С. Чаплыгина, О. В. Козлова, М. Ю. Жарко,
А. Н. Петров, 2023



Аннотация.

Антибиотики традиционно используют для профилактики и лечения сельскохозяйственных животных. Содержание остаточного количества антибиотиков в животноводческой продукции (молоке, мясе и продуктах на их основе) является серьезной проблемой здравоохранения. Цель работы – оценка влияния контаминации молочного сырья антибиотиками на показатели качества и безопасности продуктов питания, а также оценка воздействия антибиотиков на микробиологический состав молока и возможности появления устойчивых к антибиотикам бактерий.

Объектами исследования являлись научные статьи российских и зарубежных ученых, опубликованные с 2017 по 2022 гг., посвященные изучению влияния антибиотиков на молоко и продукты его переработки. Поиск провели по базам данных PubMed, Scopus, ScienceDirect и Web of Science, а также в электронной научной библиотеке eLibrary.ru по ключевым словам: антибиотики, антибиотикорезистентность, молоко и безопасность пищевой продукции.

Анализ источников показал, что содержание антибиотиков в молоке приводит к ингибированию жизнедеятельности молочнокислых бактерий, что является причиной нарушения технологического процесса производства различных продуктов (йогуртов, сыров и т. д.). При соблюдении режимов обработки (нормализации, пастеризации и гомогенизации) исходного сырья антибиотики сохраняются в кисломолочных продуктах, связываясь со структурными компонентами молока (белками и жирами). Антибиотики из молочного сырья обнаруживаются в исходном количестве в йогуртах. При производстве сыров антибиотики переходят в сыворотку, но аминокликозиды, хинолоны и тетрациклины содержатся в готовом продукте, связываясь с белковой фракцией.

Контаминация молочного сырья антибиотиками оказывает негативное влияние на биологическую безопасность продукции и приводит к серьезным проблемам как для здоровья человека, так и для технологического процесса производства. Однако данной проблеме уделяется недостаточно внимания. Необходимо проводить исследования по оценке остаточного содержания антибиотиков в молоке и молочных продуктах для обеспечения токсикологической безопасности продукции и технологических этапов производства, а также расширять аналитические методы оценки содержания антибиотиков в продукции.

Ключевые слова. Антибиотики, продукты животного происхождения, молоко, антибиотикорезистентность, био-безопасность, бактерии

Для цитирования: Оценка биологической безопасности молочных продуктов, содержащих антибиотики / О. С. Чаплыгина [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 192–201. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2427>

Assessing the Biological Safety of Dairy Products with Residual Antibiotics



Olga S. Chaplygina^{1,*}, Oksana V. Kozlova¹,
Maria Yu. Zharko², Andrey N. Petrov²

¹ Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

² All-Russian Scientific Dairy Research Institute, Moscow, Russia

Received: 27.12.2022

Revised: 30.01.2023

Accepted: 07.02.2023

*Olga S. Chaplygina: chaplygina_95@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-3193-858X>

Oksana V. Kozlova: <https://orcid.org/0000-0002-2960-0216>

Andrey N. Petrov: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© O.S. Chaplygina, O.V. Kozlova, M.Yu. Zharko, A.N. Petrov, 2023



Abstract.

Antibiotics have traditionally been used to prevent and treat common diseases in farm animals. However, residual antibiotics in dairy products and meat remain a serious public health problem, which is associated with antibiotic resistance. The research objective was to assess the impact of antibiotic contamination on the quality and safety of dairy products, the microbiological composition of milk, and antibiotic-resistant bacteria.

The study featured six years of Russian and foreign scientific articles registered in PubMed (National Center for Biotechnology Information, USA), Scopus and ScienceDirect (Elsevier, the Netherlands), Web of Science (Clarivate, USA), and eLibrary.ru. The analysis involved 63 foreign and domestic sources. Residual antibiotics in milk inhibits the vital activity of lactic acid bacteria, which, in its turn, disrupts the technological process of yogurts, cheeses, etc. After such processing as normalization, pasteurization, and homogenization, antibiotics accumulate in fermented dairy products and bind with milk proteins and fats. Antibiotics, in their initial amount, enter yoghurts from dairy raw materials. In cheese production, antibiotics usually pass into the whey, but aminoglycosides, quinolones, and tetracyclines remain in the finished product because they bind with the protein fraction.

The problem of biological safety of dairy products is associated with antibiotic resistance developed by human intestinal microbiota. This problem remains understudied, and the number of scientific papers on the matter is limited.

Keywords. Antibiotics, milk, livestock products, antibiotic resistance, biosafety, dairy products, lactic acid bacteria

For citation: Chaplygina OS, Kozlova OV, Zharko MYu, Petrov AN. Assessing the Biological Safety of Dairy Products with Residual Antibiotics. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):192–201. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2427>

Введение

Пищевые продукты загрязняются различными вредными веществами на всех этапах производства: от переработки сырья до употребления в пищу [1, 2]. Основные угрозы, связанные с безопасностью пищевых продуктов, включают физические, химические и биологические факторы. Антимикробные компоненты, особенно антибиотики, составляют основную часть химических факторов [3]. Антибиотики могут быть природными, полусинтетическими и синтетическими соединениями.

Антибиотики используются в животноводстве уже более 60 лет для лечения заболеваний, стимуляции роста, профилактики и повышения эффективности кормления [4, 5]. По оценкам экспертов, применение антибиотиков у сельскохозяйственных

животных составляет 73 % их мирового использования. По прогнозам ученых, к 2030 г. ожидается увеличение продаж антибиотиков в животноводстве на 11,5 %

Бесконтрольное применение антибиотиков приводит к тому, что их остаточные количества попадают в продукты животного происхождения: молоко, яйца, мясо и др. [6]. Согласно литературным данным молоко в наибольшей степени подвержено контаминации антибиотиками [7]. Это связано с тем, что мастит является наиболее частым инфекционным заболеванием молочных коров [8]. Во всем мире около 25 % всех лактирующих коров ежегодно получает антибиотикотерапию для предупреждения возникновения мастита [9].

Молоко является востребованным продуктом среди населения, его потребление оценивается около 600 млн т на конец 2022 г., поэтому безопасность молока является важной проблемой. Антибиотики считаются основным загрязняющим веществом, поскольку они попадают в процесс доения молочных коров [10, 11]. Тетрациклин, β -лактамы, хинолоны, сульфаниламиды, стрептомицин и хлорамфеникол являются наиболее часто используемыми антибиотиками у молочного скота. Их остаточное количество в молоке неблагоприятно влияет на здоровье человека, увеличивая риск аллергии у восприимчивого населения, а также появления резистентных бактерий [12, 13]. В целях безопасности для здоровья человека были установлены максимально допустимые уровни остаточного содержания антибиотиков для каждого класса: от 2 до 1500 мкг/кг [14]. Остаточное содержание антибиотиков в пределах максимально допустимого уровня не оказывает неблагоприятного воздействия на здоровье человека, даже если они ежедневно будут поступать в его организм на протяжении всей жизни. Однако использование противомикробных препаратов в животноводстве и их роль в развитии устойчивости к таким препаратам представляет собой проблему для здравоохранения [15].

В дополнение к устойчивости к антибиотикам необходимо учитывать их технологическое воздействие в молочной промышленности [16]. Во многих исследованиях сообщается, что частичная деградация β -лактамов, амфениколов, сульфаниламидов, макролидов, тетрациклинов и аминогликозидов зависит от температуры. Также в некоторых работах указывается, что не все технологические температурные режимы при производстве кисломолочных продуктов способны привести к разрушению антибактериальных препаратов [17]. При производстве творога антибиотики в молоке могут сохраняться в зависимости от их физико-химических свойств и способности взаимодействовать с жиром и/или белками молока при производстве молочных продуктов [18]. Это является важным фактором, поскольку побочные продукты производства сыра, такие как сыворотка, перерабатываются при производстве молочнокислых продуктов и используются в кормлении животных [19].

Перенос этих препаратов в молоко, предназначенное для производства кисломолочных продуктов, может привести к технологическим последствиям, что приведет к снижению качества конечных продуктов и экономическим последствиям для молочной промышленности [19]. Из-за наличия остаточного количества антибиотиков процессы ферментации, происходящие при производстве сыра, йогурта или других кисломолочных продуктов, частично или полностью подавляются, поскольку они вызывают серьезные нарушения в развитии

молчнокислых бактерий и подавлении продукции молочной кислоты, а также проблемы с коагуляцией [20]. Кроме того, эти вещества могут быть причиной ухудшения органолептических показателей, а также способствуют отбору нежелательных штаммов в конечных продуктах [21, 22].

Технологическое влияние антибиотиков на процесс ферментации молочных продуктов недостаточно изучено, но используемые молочнокислые бактерии чувствительны к антибактериальным препаратам [23, 24]. Многие ученые пришли к единому мнению о том, что существует необходимость установления уровня максимально допустимого содержания антибиотиков не только для обеспечения безопасных токсикологических уровней, но и безопасных технологических уровней, тем самым снизив риски нарушения технологических процессов [25–28]. Кроме того, эффект, который может вызвать присутствие антибиотиков в концентрациях ниже максимально допустимого уровня, остается неизученным [29].

Цель работы – оценка влияния контаминации молочного сырья антибиотиками на показатели качества и безопасности продуктов питания, а также оценка воздействия антибиотиков на микробиологический состав молока и возможности появления устойчивых к антибиотикам бактерий.

Для достижения поставленной цели были реализованы следующие задачи:

- оценить влияние остаточного количества антибиотиков на показатели качества и безопасности молока и продуктов его переработки;
- изучить специфичность воздействия различных видов антибиотиков на технологические свойства молочного сырья;
- рассмотреть механизм появления устойчивых к антибиотикам молочнокислых бактерий;
- обосновать дальнейшие исследования по изучению влияния антибиотиков на различные группы молочнокислых бактерий.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлась общедоступная научная литература, посвященная изучению влияния антибиотиков на молоко и продукты его переработки, а также на качественные показатели готовой продукции. Поиск научной литературы осуществлялся в следующих информационных базах данных: PubMed (National Center for Biotechnology Information, США), Scopus и ScienceDirect (Elsevier, Нидерланды), на платформе Web of Science (Clarivate, США) и в отечественной электронной библиотеке eLibrary.ru. Обзор включал анализ исследовательских, концептуальных и обзорных публикаций, соответствующих тематике запроса. Поиск проводился по следующим ключевым словам: антибиотики, антибиотикорезистентность, молоко и

безопасность пищевой продукции. Глубина поиска составила 6 лет (с 2017 по 2022 гг.), язык поиска – английский, японский и русский.

В рамках данной работы провели аналитический обзор 63 зарубежных и отечественных научных литературных источников.

Результаты и их обсуждение

Одним из приоритетных направлений молочной отрасли является производство молока, соответствующего санитарно-гигиеническим нормам и требованиям перерабатывающих предприятий. Решение данной проблемы важно с точки зрения обеспечения безопасного и полноценного питания людей. В связи с этим крупные перерабатывающие предприятия принимают молоко с учетом как традиционных показателей, так и ряда других требований, уделяя особое внимание показателям безопасности продукции [3].

Важность обеспечения безопасности молока и молочных продуктов продиктована ТР ТС 021/2011 и ТР ТС 033/2013, в которых устанавливаются правила, формы оценки и подтверждения соответствия молока и молочной продукции требованиям закона.

Наличие антибиотиков в молоке является проблемой, влияющей на биобезопасность молочных продуктов. Молоко и продукты его переработки являются продукцией наиболее подверженной загрязнению остаточным количеством антибиотиков (рис. 1).

При обнаружении в молоке антибиотиков его относят к несортному, что приводит к экономическим потерям. Поэтому изготовитель обязан обеспечить безопасность сырого молока и строго контролировать регламентируемые допустимые уровни. Целесообразнее обеспечить полное отсутствие в

молоке остаточного количества лекарственных средств (в том числе антибиотиков), применяемых в животноводстве в целях откорма, лечения скота и/или профилактики заболеваний [15].

Информация о переносе антибактериальных препаратов из молока в молочные продукты основана на модельных экспериментах, в ходе которых в молоко, не содержащее антибиотики, добавляют заданное количество препарата и анализируют результаты в зависимости от способа обработки. Было доказано, что перенос антибиотиков зависит от условий производственного процесса и обработки сырья [30].

Помимо молока, наиболее потребляемыми молочными продуктами являются йогурт и сыр. Хотя процесс приготовления йогурта может различаться в зависимости от его типа, почти во всех случаях производство включает первый этап – пастеризацию молока. Термическая обработка приводит к разложению остаточного количества антибиотиков и снижению концентрации и биологической активности [31]. Однако значения, приведенные в научной литературе, отличаются в зависимости от исследуемого антибиотика, пищевой матрицы, применяемой температуры и времени обработки. Температура и продолжительность обработки являются основными факторами, влияющими на скорость деградации антибиотиков, но их действие различается в зависимости от антибиотика. Обработка, применяемая для пастеризации молока, незначительно снижает концентрацию большинства антибиотиков [32]. По этой причине йогурты, приготовленные из молока, контаминированного антибиотиками, обычно содержат равную или меньшую концентрацию антибиотиков, чем молоко, используемое для их производства [33].

А. Gajda с соавторами показали, что распределение антибиотиков между фракциями молока основано на их липофильности [34]. Авторы изучили распределение пенициллина G, сульфадиметоксина, окситетрациклина и эритромицина между молочным жиром и фракциями обезжиренного коровьего молока. Было установлено, что более 90 % этих антибиотиков остаются в обезжиренном молоке. В других исследованиях также было обнаружено, что тетрациклины и сульфаниламиды остаются в обезжиренном молоке в количестве более 80 % [35, 36]. Хлорамфеникол сохраняется в продуктах с высоким содержанием жира, таких как масло и сметана [37].

В мире производится большое количество видов сыра, различающихся по происхождению молока, его обработке и технологии, применяемой для их производства [33, 38]. Некоторые авторы изучали распределение различных антибиотиков между белковой фракцией и сывороткой после введения их в коровье, овчье и козье молоко [39–43].

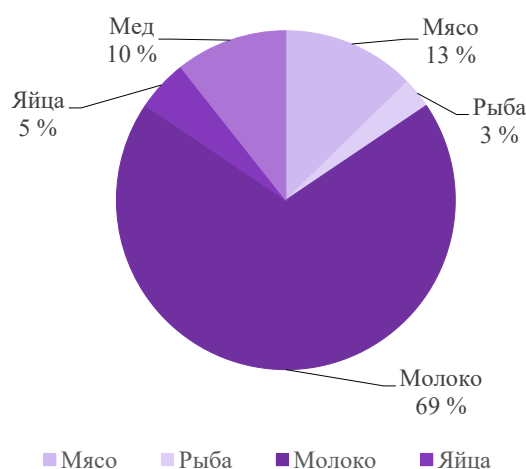


Рисунок 1. Содержание антибиотиков в различных группах продуктов питания [28]

Figure 1. Content of antibiotics in various food groups [28]

Исследования подтверждают, что удержание антибиотиков в сыре зависит от их растворимости в воде и способности взаимодействовать с жировой и/или белковой фракцией [29]. Таким образом, β -лактамы антибиотики переходят в сыворотку из-за их гидрофильной природы, благодаря чему обнаруживаются в сырах в очень низких концентрациях [31, 44].

В дополнение к β -лактамам наиболее изученными антибиотиками являются тетрациклины. Было показано, что в опытных образцах (коровьих, овечьих и козьих сырах) тетрациклины сохраняются в сыре [33, 35, 41]. J. Giraldo и др. пришли к выводу, что аминокликозиды, хинолоны и тетрациклины имеют более высокую восприимчивость к сохранению в белковой фракции, поскольку снижается антибиотическая активность в сыворотке с 84 до 100 % для этих классов антибиотиков [29].

В исследованиях [33, 45] представлены данные, описывающие изменения, происходящие с антибиотиками во время созревания сыра. На 30 суток созревания сыра Трончон в исследуемых образцах не были обнаружены остатки β -лактамов и эритромицина [33]. Однако были обнаружены хинолоны, энрофлоксацин и ципрофлоксацин в количестве 30–45 % от их начальной концентрации [29, 46]. Следовательно, концентрация антибиотиков в сырах снижается в ходе длительного созревания, что связано с деградацией молекул. Процесс деградации зависит от условий созревания продукта, которые отличаются для разных видов сыра.

Проанализировав процесс переноса остаточного количества антибиотиков из молока в молочные продукты, необходимо понять, какое влияние они оказывают на микробиологический состав молочных продуктов. На проблему наличия антибиотиков в молоке указывал в 1948 г. I. Castl, который сообщил, что молоко из вымени, обработанного пенициллином, может препятствовать производству молочных продуктов. Он показал, что остатки пенициллина в концентрациях 0,1–1 МЕ (международные единицы) ингибируют рост заквасочных культур. Эта публикация стала стимулом для проведения серии исследований, направленных на определение влияния антибиотиков на активность заквасочных культур и качество молочных продуктов. Это вызвало широкую дискуссию в научной и профессиональной литературе, которая продолжается и сегодня, о чем свидетельствует ряд научных работ [16].

Наличие остаточного количества антибиотиков в молоке, предназначенном для производства кисломолочных продуктов, может влиять на технологические процессы, вызывая снижение качества конечной продукции, и может иметь экономические последствия для молочной отрасли. Их присутствие может повлиять на рост заквасочных культур, свер-

тывание молока и образование белкового сгустка, а также на изменение органолептических показателей готовой продукции [1].

Молочнокислые бактерии формируют вкус, аромат и текстуру кисломолочных продуктов, а также используются в качестве заквасок для производства кисломолочных продуктов [47]. Данные о чувствительности заквасочных культур к антимикробным препаратам в литературе часто отличаются, поскольку отдельные штаммы одного и того же вида молочнокислых бактерий могут проявлять разную чувствительность [48]. Факторы, влияющие на чувствительность чистых культур молочнокислых бактерий, включают тип культуры и ее состав (монокультура или смешанная культура), а также тип противомикробного препарата (механизм действия антибиотика на микробную клетку) [46]. Большинство проблем, вызванных остаточным количеством антибиотиков, связаны с тем, что они частично или полностью подавляют развитие молочнокислых бактерий и ингибируют выработку молочной кислоты этими бактериями. Снижение pH важно, например, в процессе сыроварения, т. к. повышает активность ферментов и скорость коагуляции, что важно для твердых и долго созревающих сыров [19].

В работе F. M. Treiber и H. Beranek-Knauer рассматривалась чувствительность различных заквасочных культур, используемых в производстве сыра и йогурта, к различным антибиотикам, а также представлены данные о концентрациях антибиотиков, вызывающих частичное или полное ингибирование активности (роста бактерии) заквасочных культур [1]. Было установлено, что заквасочные культуры проявляют различную чувствительность в зависимости от вида и количества антибиотиков. В своей работе P. Navrátilová с коллегами проанализировали чувствительность молочнокислых бактерий, выделенных из йогурта, к антибиотикам цефалоспоринового ряда [16]. В результате было установлено, что даже очень низкие концентрации противомикробных препаратов в молоке (например, 100 мкг/кг максимально допустимого уровня для цефтиофура) ингибировали рост и активность молочнокислых культур.

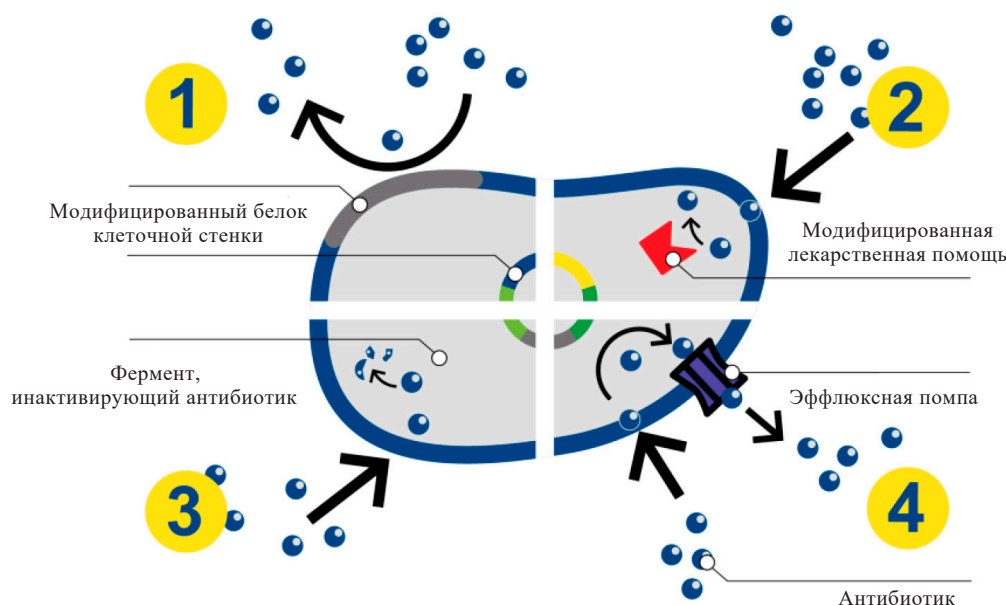
Было обнаружено, что изоляты из йогурта более устойчивы к стрептомицину и более восприимчивы к пенициллину, чем сырные закваски. В работе M. Rezaee и F. Khalilian сообщается, что добавление пенициллина в молоко для производства сыра чеддер вызывало задержку выработки молочной кислоты [49]. Кроме того, при определенной дозе антибиотика для образцов созревших сыров показано высокое значение pH и недопустимые органолептические характеристики, такие как пастообразная консистенция и ферментированный или дрожжевой аромат.

Изменения органолептических и физико-химических параметров готового продукта (йогурта) под действием ряда антибиотиков были изучены в работе М. Britzi и F. Schwartzburd [50]. Установлено, что некоторые β -лактамы (ампициллин, цефалексин и цефтиофур) в концентрациях ниже максимально допустимого уровня и пенициллин G с концентрацией выше максимально допустимого уровня задерживают образование сгустка на 40 и более минут [51]. Было показано, что наличие амоксициллина и энрофлоксацина в различных концентрациях в исходном сырье (козьем и овечьем молоке) не влияло на исследуемый процесс [52].

Несмотря на то что наличие антибиотиков в молоке негативно влияет на технологические процессы, они могут служить источником появления антибиотикорезистентных бактерий. Наибольшую угрозу применения антибиотиков представляет возникновение и распространение антибиотикорезистентности у патогенных бактерий [3, 49]. Приобретенная устойчивость к некоторым противомикробным препаратам настолько широко распространена, что их эффективность при лечении опасных для жизни человека инфекций снижается [53]. Селективное давление, вызванное использованием антибиотиков, имеет определяющее значение в появлении резистентных бактерий. В бак-

териальной популяции, подвергшейся воздействию антибиотиков, у некоторых бактерий развивается устойчивость к антибиотикам, и под селективным давлением микроорганизмы могут передать гены устойчивости в популяции (рис. 2) [54]. Таким образом, присутствие остаточного количества антибиотиков по всей пищевой цепи может вызывать развитие переносимой антибиотикорезистентности не только у патогенов, но и у комменсальных бактерий, включая молочнокислые [55, 56].

Проанализированы экспериментальные исследования и обзоры, описывающие профиль резистентности молочнокислых бактерий, в которых было установлено наличие в их геноме мобильных элементов (плазмид, транспозонов и интегронов) и инсерционных последовательностей, ответственных за внутри- и межвидовой перенос генетического материала [58, 59]. Подобные последовательности также были обнаружены у молочнокислых бактерий, выделенных из сыра [60]. В некоторых исследованиях сообщалось об обнаружении антибиотикорезистентности и факторов вирулентности молочнокислых бактерий из пищевых продуктов, включая йогурты и творог [61, 62]. Пробиотический потенциал многих бактерий подтверждает идею об их потенциальной способности колонизировать



1 – мембрана бактериальной клетки образует непроницаемый барьер, блокирующий антибиотики; 2 – модификация мишени: модификация компонентов бактерий, на которые нацелен антибиотик; 3 – модификация антибиотика: клетка вырабатывает вещества (обычно белок, называемый «ферментом»), которые инактивируют антибиотик до того, как он сможет нанести вред бактериям; 4 – механизм эффлюксной помпы: антибиотик активно выкачивается из бактерий, поэтому он не может нанести вред бактериям

Рисунок 2. Механизм антибиотикорезистентности [57]

Figure 2. Mechanism of antibiotic resistance [57]

кишечник человека и переносить антибиотико-резистентность в его микробиоту.

Установлена взаимосвязь между наличием остаточного количества антибиотиков в молоке/молочной продукции и появлением резистентных бактерий в этих продуктах. В работе К. Brown и др. в образцах молока, содержащих остаточное количество антибиотиков, были обнаружены штаммы бактерий *Escherichia coli* [61]. Около 92,8 % бактерий проявляли устойчивость к ампициллину, а 50 % – к тетрациклину. Е. М. El Zubeir и О. А. О. El Owni обнаружили, что 20 % образцов исследуемого молока были загрязнены антибиотиками, а бактерии, выделенные из исследуемых образцов, показали широкий спектр множественной резистентности [63].

Проведенный обзор научной литературы показал, что проблема появления резистентных бактерий в молоке и молочных продуктах, возникающая из-за применения антибиотиков в животноводстве, отражена в небольшом количестве публикаций. Взаимосвязь между использованием антибиотиков в животноводстве и присутствием резистентных бактерий в продуктах питания была установлена лишь косвенно и остается спорным предметом для изучения [4, 18]. Это может быть связано с отсутствием адекватных моделей для изучения этой взаимосвязи и пониманием сложных процессов, которые приводят к возникновению и распространению антибиотикорезистентности.

Выводы

Анализ научных публикаций по исследуемой теме показал, что на сегодняшний день биобезопасность молока является серьезной проблемой. Присутствие антибиотиков в исходном молочном сырье может повлечь за собой целый ряд проблем, начиная от экономического ущерба предприятию и заканчивая угрозой здоровью населения.

Остаточное количество антибиотиков вызывает увеличение времени, необходимого для производст-

ва молочных продуктов, из-за их ингибирующего действия на молочнокислые бактерии. Развитие и распространение устойчивых к антибиотикам бактерий является основной проблемой при использовании антибиотиков у животных. Резистентные бактерии в кишечнике животных молочной породы и в молочных продуктах могут передавать устойчивость к патогенным бактериям микробиоте кишечника человека или способствовать ее распространению в окружающей среде. Однако данной проблеме уделяется недостаточно внимания, о чем свидетельствует ограниченное количество научных работ, освещающих проблему содержания антибиотиков в молоке и молочных продуктах. Следовательно, необходимо проводить исследования в данном направлении и расширять аналитические методы оценки содержания антибиотиков в продукции. Помимо контроля за уровнем максимально допустимого содержания антибиотиков в молоке для обеспечения токсикологической безопасности, необходимо установить уровень содержания антибиотиков для обеспечения безопасности технологических этапов производства.

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.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Treiber FM, Beranek-Knauer H. Antimicrobial residues in food from animal origin – A review of the literature focusing on products collected in stores and markets worldwide. *Antibiotics*. 2021;10(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050534>
2. Kharitonov DV, Kharitonova IV, Prosekov AYU. The concept of synbiotics and synbiotic dairy products development. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2013;31(4):91–94. (In Russ.). [Харитонов Д. В., Харитонов И. В., Просков А. Ю. Разработка концепции создания синбиотиков и синбиотических молочных продуктов // Техника и технология пищевых производств. 2013. Т. 31. № 4. С. 91–94.].
3. Barrett JR, Innes GK, Johnson KA, Lhermie G, Ivanek R, Greiner Safi A, et al. Consumer perceptions of antimicrobial use in animal husbandry: A scoping review. *PLoS One*. 2021;16(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261010>
4. Chaplygina OS, Prosekov AYU, Vesnina AD. Determining the residual amount of amphenicol antibiotics in milk and dairy products. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(1):79–88. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-79-88>
5. Prosekov AYU, Ostroumov LA. Innovation management biotechnology of starter cultures. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;43(4):64–69. (In Russ.). [Просков А. Ю., Остроумов Л. А. Инновационный менеджмент биотехнологий заквасочных культур // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 43. № 4. С. 64–69.].

6. Faustini M, Quintavalle Pastorino G, Colombani C, Chiesa LM, Panseri S, Vigo D, *et al.* Volatilome in milk for Grana Padano and Parmigiano Reggiano cheeses: A first survey. *Veterinary Sciences*. 2019;6(2). <https://doi.org/10.3390/vetsci6020041>
7. László N, Lányi K, Laczay P. LC-MS study of the heat degradation of veterinary antibiotics in raw milk after boiling. *Food Chemistry*. 2018;267:178–186. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.041>
8. El-Sayed A, Kamel M. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era. *Tropical Animal Health and Production*. 2021;53(2). <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02680-9>
9. Landers TF, Cohen B, Wittum TE, Larson EL. A review of antibiotic use in food animals: Perspective, policy, and potential. *Public Health Reports*. 2020;127(1):4–22. <https://doi.org/10.1177/003335491212700103>
10. de Albuquerque Fernandes SA, Magnavita APA, Ferrao SPB, Gualberto SA, Faleiro AS, Figueiredo AJ, *et al.* Daily ingestion of tetracycline residue present in pasteurized milk: A public health. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019;21(5):3427–3434. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2286-5>
11. Výrostková J, Regecová I, Dudriková E, Marcinčák S, Vargová M, Kováčová M, *et al.* Antimicrobial resistance of *Enterococcus* sp. isolated from sheep and goat cheeses. *Foods*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/foods10081844>
12. Quintanilla MP, Beltrán C, Peris B, Rodríguez MM, Molina P. Antibiotic residues in milk and cheeses after the off-label use of macrolides in dairy goats. *Small Ruminant Research*. 2018;167:55–60. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.08.008>
13. Gaudin V. Advances in biosensor development for the screening of antibiotic residues in food products of animal origin – A comprehensive review. *Biosensors and Bioelectronics*. 2017;90:363–377. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.12.005>
14. Jank L, Martins MT, Arsand JB, Campos Motta TM, Hoff RB, Barreto F, *et al.* High-throughput method for macrolides and lincosamides antibiotics residues analysis in milk and muscle using a simple liquid-liquid extraction technique and liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry analysis (LC-MS/MS). *Talanta*. 2017;144:686–695. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.078>
15. Samreen, Ahmad I, Malak HA, Abulreesh HH. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: A potential threat to public health. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2021;27:101–111. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.001>
16. Navrátilová P, Borkovcova I, Stastkova Z, Bednarova I, Vorlova L. Effect of cephalosporin antibiotics on the activity of yoghurt cultures. *Foods*. 2022;11(18). <https://doi.org/10.3390/foods11182751>
17. Ianni F, Pucciarini L, Carotti A, Saluti G, Moretti S, Ferrone V, *et al.* Hydrophilic interaction liquid chromatography of aminoglycoside antibiotics with a diol-type stationary phase. *Analytica Chimica Acta*. 2018;1044:174–180. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.08.008>
18. Castrica M, Rebutti R, Giromini C, Tretola M, Cattaneo D, Baldi A. Total phenolic content and antioxidant capacity of agri-food waste and by-products. *Italian Journal of Animal Science*. 2018;18(1):336–341. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1529544>
19. Pazzola M, Stocco G, Dettori ML, Bittante G, Vacca GM. Effect of goat milk composition on cheesemaking traits and daily cheese production. *Journal of Dairy Science*. 2019;102(5):3947–3955. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15397>
20. Pogurschi E, Ciric A, Zugrav C, Patrascu D, Pogurschi E. Identification of antibiotic residues in raw milk samples coming from the metropolitan area of Bucharest. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2019;6:242–245. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.08.066>
21. Zhang J, Wang J, Jin J, Li X, Zhang H, Shi X, *et al.* Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin genes of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products worldwide: A systematic review and meta-analysis. *Food Research International*. 2022;162. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111969>
22. Wu Q, Zhu Q, Liu Y, Shabbir MAB, Sattar A, Peng D, *et al.* A microbiological inhibition method for the rapid, broad-spectrum, and high-throughput screening of 34 antibiotic residues in milk. *Journal of Dairy Science*. 2019;102(12):10825–10837. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16480>
23. de Paula ACL, Medeiros JD, de Azevedo AC, de Assis Chagas JM, da Silva VL, Diniz CG. Antibiotic resistance genetic markers and integrons in white soft cheese: Aspects of clinical resistance and potentiality of horizontal gene transfer. *Genes*. 2018;9(2). <https://doi.org/10.3390/genes9020106>
24. Beltrán MC, Morari-Pirlog A, Quintanilla P, Escriche I, Molina MP. Influence of enrofloxacin on the coagulation time and the quality parameters of goat's milk yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*. 2018;71(1):105–111. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12388>
25. Bagré TS, Samandoulougou S, Traore M, Illy D, Bsadjo-Tchamba G, Bawa-Ibrahim H, *et al.* Detection of antibiotics residues in dairy products sold in Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*. 2019;87:8105–8112. <https://doi.org/10.4314/jab.v87i1.11>
26. Piñeiro SA, Cerniglia CE. Antimicrobial drug residues in animal-derived foods: Potential impact on the human intestinal microbiome. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2020;44(2):215–222. <https://doi.org/10.1111/jvp.12892>
27. Eluk D, Ceruti R, Nagel O, Althaus R. Effect of thermal treatment of whey contaminated with antibiotics on the growth of *Kluyveromyces marxianus*. *Journal of Dairy Research*. 2019;86(1):102–107. <https://doi.org/10.1017/S0022029919000098>

28. Rodionov GV, Selitskaya OV, Kostomakhin NM, Olesyuk AP, Ageyeva AS. Effect of antibiotics on quality and safety of raw milk and milk products. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2019;(4):88–103. (In Russ.). [Влияние антибиотиков на качество и безопасность молока и молочных продуктов / Г. В. Родионов [и др.] // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2019. № 4. С. 88–103.].
29. Giraldo J, Althaus RL, Beltrán MC, Molina MP. Antimicrobial activity in cheese whey as an indicator of antibiotic drug transfer from goat mil. *International Dairy Journal*. 2017;69:40–44. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.02.003>
30. Ghimpețeanu OM, Pogurschi EN, Popa DC, Dragomir N, Drăgoteiu T, Mihai OD, et al. Antibiotic use in livestock and residues in food – A public health threat: A review. *Foods*. 2022;11(10). <https://doi.org/10.3390/foods11101430>
31. Hassan HF, Haddad R, Saidy L, Hosri C, Asmar S, Serhan M. Tracking of enrofloxacin antibiotic in the making of common middle eastern cheeses. *Applied Food Research*. 2021;1(1). <https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100004>
32. Sachi S, Ferdous J, Sikder MH, Azizul Karim Hussani SM. Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2019;6(3):315–332. <https://doi.org/10.5455/javar.2019.f350>
33. Quintanilla P, Beltrán MC, Molina A, Escriche I, Molina MP. Characteristics of ripened Tronchón cheese from raw goat milk containing legally admissible amounts of antibiotics. *Journal of Dairy Science*. 2019;102(4):2941–2953. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15532>
34. Gajda A, Nowacka-Kozak E, Gbylik-Sikorska M, Posyniak A. Tetracycline antibiotics transfer from contaminated milk to dairy products and the effect of the skimming step and pasteurisation process on residue concentrations. *Food Additives and Contaminants*. 2018;35(1):66–76. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1397773>
35. Hakk H, Shappell NW, Lupton SJ, Shelver WL, Fanaselle W, Oryang D, et al. Distribution of animal drugs between skim milk and milk fat fractions in spiked whole milk: Understanding the potential impact on commercial milk products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016;64(1):326–335. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04726>
36. Bacanlı M, Başaran N. Importance of antibiotic residues in animal food. *Food and Chemical Toxicology*. 2019;125:462–466. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.033>
37. Zhao M, Li X, Zhang Y, Wang Y, Wang B, Zheng L, et al. Rapid quantitative detection of chloramphenicol in milk by microfluidic immunoassay. *Food Chemistry*. 2021;339. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127857>
38. Lupton SJ, Shappell NW, Shelver WL, Hakk H. Distribution of spiked drugs between milk fat, skim milk, whey, curd, and milk protein fractions: Expansion of partitioning models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018;66(1):306–314. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04463>
39. Gbylik-Sikorska M, Gajda A, Nowacka-Kozak E, Posyniak A. The “force” of cloxacillin residue will be with you in various dairy products – The last experimental evidence. *Food Control*. 2021;121. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107628>
40. Lányi K, Darnay L, László N, Lehel J, Friedrich L, Györi R, et al. Transfer of certain beta-lactam antibiotics from cow's milk to fresh cheese and whey. *Food Additives and Contaminants*. 2022;39(1):52–60. <https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1973114>
41. Cabizza R, Rubattu N, Salis S, Pes M, Comunian R, Paba A, et al. Transfer of oxytetracycline from ovine spiked milk to whey and cheese. *International Dairy Journal*. 2017;70:12–17. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.002>
42. Cabizza R, Rubattu N, Salis S, Pes M, Comunian R, Paba A, et al. Impact of a thermisation treatment on oxytetracycline spiked ovine milk: Fate of the molecule and technological implications. *LWT*. 2018;96:236–243. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.026>
43. Rossi R, Saluti G, Moretti S, Diamanti I, Giuseppeponi D, Galarini R. Multiclass methods for the analysis of antibiotic residues in milk by liquid chromatography coupled to mass spectrometry: A review. *Food Additives and Contaminants*. 2018;35(2):241–257. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1393107>
44. Virto M, Santamarina-García G, Amores G, Hernández I. Antibiotics in dairy production: Where is the problem? *Dairy*. 2022;3(3):541–564. <https://doi.org/10.3390/dairy3030039>
45. Quintanilla P, Beltrán MC, Molina MP, Escriche I. Enrofloxacin treatment on dairy goats: Presence of antibiotic in milk and impact of residue on technological process and characteristics of mature cheese. *Food Control*. 2021;123. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107762>
46. Quintanilla P, Doménech E, Escriche I, Beltrán MC, Molina MP. Food safety margin assessment of antibiotics: Pasteurized goat's milk and fresh cheese. *Journal of Food Protection*. 2019;82(9):1553–1559. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-434>
47. Tilocca B, Costanzo N, Morittu VM, Spina AA, Soggiu A, Britti D, et al. Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. *Journal of Proteomics*. 2020;210. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103534>
48. Fedorova MA. Current trends in milk and dairy products production and consumption in Russia and foreign countries under lockdown conditions. *Socio-Economic and Humanitarian Journal*. 2022;24(2):3–19. (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/2500-1825-2022-2-3-19>
49. Rezaee M, Khalilian F. Application of ultrasound-assisted extraction followed by solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of chloramphenicol in chicken meat. *Food Analytical Methods*. 2018;11:759–767. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1048-2>

50. Britzi M, Schwartsburd F. Development and validation of a high-throughput method for the determination of eight non-steroidal anti-inflammatory drugs and chloramphenicol in milk, using liquid chromatography-tandem mass spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Methods*. 2019;1(1). <https://doi.org/10.35840/2633-8912/2405>
51. Berruga I, Molina MP, Novés' B, Román M, Molina A. In vitro study about the effect of several penicillins during the fermentation of yogurt made from ewe's milk. *Milchwissenschaft*. 2007;62(3):303–305.
52. Pastor-Belda M, Campillo N, Arroyo-Manzanares N, Hernández-Córdoba M, Viñas P. Determination of amphenicol antibiotics and their glucuronide metabolites in urine samples using liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2020;1146. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122122>
53. Lekshmi M, Ammini P, Kumar S, Varela MF. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. *Microorganisms*. 2017;5(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms5010011>
54. Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria – a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2018;105(3):281–295. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008>
55. Septimus EJ. Antimicrobial resistance: An antimicrobial/diagnostic stewardship and infection prevention approach. *Medical Clinics of North America*. 2018;102(5):819–829. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.04.005>
56. Alhaji NB, Aliyu MB, Ghali-Mohammed I, Odetokun IA. Survey on antimicrobial usage in local dairy cows in North-central Nigeria: Drivers for misuse and public health threats. *PLoS One*. 2019;14(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224949>
57. What is Antibiotic Resistance? [Internet]. [cited 2022 Dec 25]. Available from: <https://amr.biomerieux.com/en/about-amr/what-is-antibiotic-resistance>
58. In the wake of antibiotics: what went wrong and how to fix it? [Internet]. [cited 2022 Dec 25]. Available from: <https://biomolecula.ru/articles/po-sledam-antibiotikov-chto-moglo-poiti-ne-tak-i-kak-eto-ispravit> [По следам антибиотиков: что могло пойти не так и как это исправить? URL: <https://biomolecularu.ru/articles/po-sledam-antibiotikov-chto-moglo-poiti-ne-tak-i-kak-eto-ispravit> (дата обращения 25.12.2022).].
59. Yao J, Gao J, Guo J, Wang H, Zhang E, Lin Y, *et al.* Characterization of bacteria and antibiotic resistance in commercially produced cheeses sold in China. *Journal of Food Protection*. 2022;85(3):484–493. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-198>
60. Hammad AM, Hassan HA, Shimamoto T. Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. in Egyptian fresh raw milk cheese. *Food Control*. 2022;50:815–820. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.020>
61. Brown K, Mugoh M, Call DR, Omulo S. Antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria detected in milk marketed for human consumption in Kibera, Nairobi. *PLoS One*. 2020;15(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233413>
62. Zanella GN, Mikcha JMG, Bando E, Siqueira VLD, Machinski Jr M. Occurrence and antibiotic resistance of coliform bacteria and antimicrobial residues in pasteurized cow's milk from Brazil. *Journal of Food Protection*. 2020;73(9):1684–1687. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-73.9.1684>
63. El Zubeir EM, El Owni OAO. Antimicrobial resistance of bacteria associated with raw milk contaminated by chemical preservatives. *World Journal of Dairy and Food Sciences*. 2009;4(1):65–69.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2424>
<https://elibrary.ru/HOCFYJ>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Рынки микроингредиентов и их влияние на устойчивость продовольственных систем



Е. Г. Казанцева*^{ORCID}, И. И. Лямкин^{ORCID}

Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 22.11.2022
Принята после рецензирования: 10.02.2022
Принята к публикации: 07.03.2023

*Е. Г. Казанцева: 9059655017@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-0517-5371>
И. И. Лямкин: <https://orcid.org/0000-0003-2219-0645>

© Е. Г. Казанцева, И. И. Лямкин, 2023



Аннотация.

Недостаточный объем выпуска, а в некоторых случаях отсутствие в России производства определенных видов микроингредиентов, образует зону уязвимости продовольственной системы. Работа нацелена на исследование рынков микроингредиентов в России и их влияния на устойчивость продовольственных систем, а также выработку основных направлений государственной поддержки по развитию производства микроингредиентов.

Объектом исследования выступили тенденции развития рынков микроингредиентов в контексте устойчивого функционирования продовольственных систем. Теоретико-методологической базой исследования являлись положения теории мир-системного анализа, методы сравнительного и статистического анализа. Исследование было выполнено на базе материалов Федеральной службы государственной статистики, Федеральной таможенной службы, Российского экспортного центра, рейтинговых и информационных агентств, а также аналитических материалов ООН, ФАО и Союза производителей пищевых ингредиентов, находящихся в свободном доступе.

В работе показали влияние рынков микроингредиентов на устойчивость продовольственных систем, а также проанализировали специфику формирования спроса и предложения микроингредиентов, обусловленную мировыми и российскими тенденциями развития потребительского рынка и производственного сектора. Обосновали, что при выработке направлений государственной поддержки отечественных производителей микроингредиентов следует исходить из наличия сырьевой базы и особенностей конкурентной среды, сложившейся на соответствующих рынках. В качестве примера рассмотрели конкурентный российский рынок ароматизаторов, на котором присутствуют как зарубежные, так и отечественные производители, и рынок лимонной кислоты, представленный китайскими производителями при отсутствии отечественных. В первом случае необходима поддержка действующих производителей и укрепление их позиций на российских рынках, в перспективе – зарубежных, во втором – создание нового производства, вывод продукции на российский рынок и его завоевание при наличии мощных и готовых к демпингу конкурентов. Предложили основные направления государственной поддержки отечественного производства конкурентоспособных микроингредиентов и их компонентов.

Результаты исследования могут быть использованы при выработке мер государственной поддержки в промышленности. Применение предложенных направлений государственной поддержки производства микроингредиентов и компонентов для их изготовления будет способствовать повышению уровня продовольственной безопасности и устойчивости российской продовольственной системы к внешним шокам.

Ключевые слова. Продовольственная безопасность, продовольственная система, пищевая промышленность, микроингредиенты, ресурсная база, рынок, спрос, предложение, цена

Для цитирования: Казанцева Е. Г., Лямкин И. И. Рынки микроингредиентов и их влияние на устойчивость продовольственных систем // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 1. С. 202–216. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2424>

Micro-Ingredient Markets and Their Impact on the Sustainability of Food Systems



Elena G. Kazantseva*^{ID}, Igor I. Lyamkin^{ID}

Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

Received: 22.11.2022
Revised: 10.02.2023
Accepted: 07.03.2023

*Elena G. Kazantseva: 9059655017@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-0517-5371>
Igor I. Lyamkin: <https://orcid.org/0000-0003-2219-0645>

© E.G. Kazantseva, I.I. Lyamkin, 2023



Abstract.

Commercial micro-ingredients of certain types are a gap in the Russian food industry. This article describes the Russian market for micro-ingredients, their impact on the sustainability of domestic food systems, and state support prospects.

The study featured the development of micro-ingredient markets in the context of sustainable food systems. It relied on the theory of world-system analysis, as well as on the methods of comparative and statistical analyses. The materials were obtained from the Federal State Statistics Service, the Federal Customs Service, the Russian Export Center, and various rating and information agencies, including publically available data from the UN, the FAO, and the Union of Food Ingredients Producers. The authors assessed the impact of micro-ingredient markets on the sustainability of food systems and the effect of global and domestic market trends on the demand and supply of micro-ingredients. When strategizing state support for domestic producers of micro-ingredients, government should proceed from the availability of raw materials and competition. The article introduces a comparative analysis of the Russian market of flavoring agents, which includes both foreign and domestic producers, and the Russian market of citric acid, represented solely by Chinese companies. In the first case, the government should support the existing domestic producers and strengthen their positions in the Russian markets, with prospects for foreign market penetration. In the second case, the Russian food industry has to launch domestic products able to occupy the Russian market and defeat the powerful foreign competitors that are ready to use dumping. The analysis also revealed the main directions of state support for the domestic production of competitive micro-ingredients and their components.

The results can be used to strategize state support measures for the domestic micro-ingredients in order to improve food security and the stability of the Russian food system to external shocks.

Keywords. Food security, food system, food industry, micro-ingredients, resource base, market, demand, supply, price

For citation: Kazantseva EG, Lyamkin II. Micro-Ingredient Markets and Their Impact on the Sustainability of Food Systems. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(1):202–216. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2424>

Введение

Обеспечение продовольственной безопасности зависит от состояния продовольственных систем различного уровня. Они объединяют все элементы (окружающая среда, люди, факторы производства, процессы, инфраструктура, учреждения, рынки и т. д.) и виды деятельности, связанные с производством, переработкой, распределением, приготовлением и потреблением продуктов питания, а также результаты этой деятельности, включая социально-экономические и экологические [1].

В зависимости от внутренних и внешних угроз, стадии жизненного цикла, объема ресурсов и качества управления продовольственные системы обладают разными возможностями по удовлетворению потребностей людей. Устойчивые продоволь-

ственные системы в состоянии гарантировать продовольственную безопасность без риска для экономических, социальных и экологических основ для будущих поколений.

В последние годы в мире происходит нарастание угроз устойчивости продовольственных систем, связанных с воздействием внешних шоков. Продовольственные системы утрачивают способность удовлетворять текущие потребности населения. Нарушение глобальных цепочек поставок, изменение климата, рост числа локальных конфликтов, экономические кризисы, наличие проблем с перемещением рабочей силы, проведение экспериментов, нарушающих биобезопасность, и т. д. обуславливают необходимость адаптации к сложившимся внешним шокам и

трансформации как продовольственных систем в целом, так и их отдельных частей [2, 3].

Участники продовольственных систем применяют различные подходы к преодолению сбоев. Наиболее распространенными подходами являются импортозамещение, замена ресурсов и поставщиков, изменение технологий и внедрение нового оборудования, экономия ресурсов, совершенствование логистики, перепрофилирование производства и переход на выпуск новых видов продукции.

Пищевая промышленность является одним из элементов продовольственной системы страны. Она включает комплекс отраслей, осуществляющих переработку продукции сельского и лесного хозяйства, рыболовства для изготовления пищевой продукции; безалкогольных и алкогольных напитков, минеральных вод, пива и вина; табачных изделий; ингредиентов и компонентов для производства пищевой продукции; кормов и кормовых добавок и т. д.

В России импульс развитию пищевой промышленности был дан в 2014 г. в ответ на шоки, связанные с введением санкций и контрсанкций. Перед отраслью была поставлена задача по повышению уровня самообеспеченности страны продовольствием, которая была достаточно успешно выполнена.

По данным Росстата, по всем подвидам деятельности, относимым к производству пищевой

продукции, в 2021 г. по отношению к 2015 г. наблюдались положительные темпы роста объемов производства (табл. 1, по данным сайта https://rosstat.gov.ru/enterprise_industrial). Наиболее высокие темпы роста были продемонстрированы в таких сферах, как переработка и консервирование фруктов и овощей (180 %), производство готовых кормов для животных (170 %), переработка и консервирование мяса и мясной пищевой продукции (140 %), производство растительных и животных масел и жиров (140 %).

По данным Росстата, доля импорта продовольствия в общем объеме товарных ресурсов по большинству видов продовольствия снижалась с 2008 по 2021 гг. (рис. 1, по данным сайта <https://rosstat.gov.ru/folder/11188>). Доля импорта мяса и птицы, включая субпродукты, сократилась в 8,26 раза до 5,3 % (в 2014 г. – 19,6 %), мясных консервов – в 2,16 раза до 8,7 % (в 2014 г. – 13,7 %), растительных масел – в 1,94 раза до 16,1 % (в 2014 г. – 14,4 %), сыров – в 1,37 раза до 30,1 % (в 2014 г. – 37,3 %), кондитерских изделий – в 1,29 раза до 8 % (в 2014 г. – 9,3 %). Сохранилась низкая доля импорта по таким товарам, как колбасные изделия (в 2021 г. – 1,3 %), мука (1,1 %), крупа (1,2 %) и сахар (2,4 %). Незначительно возросла доля импорта по таким товарам, как животные масла: с 27 % в 2008 г. до 28,4 % в 2021 г. (в 2014 г. – 34,3 %) и сухое молоко и сливки: с 30,0 % в 2008 г. до 30,2 % в 2021 г. (в 2014 г. – 49,4 %).

Таблица 1. Индексы производства пищевой продукции в Российской Федерации за 2015–2021 гг., % к предыдущему году

Table 1. Food production in the Russian Federation in 2015–2021, % of the previous year

Наименование вида деятельности	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.	2020 г.	2021 г.	2021 к 2015 гг., %
Производство пищевых продуктов	103,8	103,5	104,6	103,6	104,1	103,1	104,2	130,0
Переработка и консервирование мяса и мясной пищевой продукции	105,0	102,0	105,5	104,1	104,2	107,2	103,2	140,0
Переработка и консервирование рыбы, ракообразных и моллюсков	103,5	104,5	105,1	107,4	101,6	98,6	106,4	130,0
Переработка и консервирование фруктов и овощей	107,1	99,3	106,6	116,2	114,4	111,5	109,0	180,0
Производство растительных и животных масел и жиров	103,5	114,9	111,0	92,5	110,7	110,2	94,0	140,0
Производство молочной продукции	103,6	99,2	101,7	101,5	100,4	103,5	104,5	120,0
Производство продуктов мукомольной и крупяной промышленности, крахмала и крахмалосодержащих продуктов	103,0	100,5	101,8	103,8	100,0	101,8	101,7	110,0
Производство хлебобулочных и мучных кондитерских изделий	102,3	106,4	102,4	101,9	102,3	97,2	102,1	120,0
Производство прочих пищевых продуктов	102,1	103,4	106,1	103,4	105,8	98,9	106,6	130,0
Производство готовых кормов для животных	108,3	104,7	106,8	108,2	109,2	108,3	106,9	170,0
Производство напитков	98,1	103,6	100,2	101,7	105,0	101,5	109,5	120,0

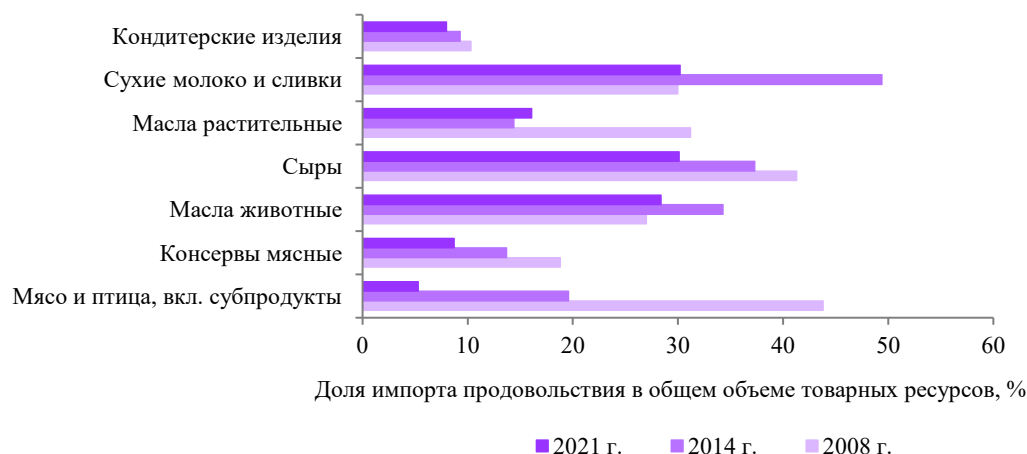


Рисунок 1. Доля импорта продовольствия в общем объеме товарных ресурсов

Figure 1. Share of food imports in total commodity resources

Развитие пищевой промышленности в России позволило не только удовлетворить спрос на внутреннем рынке, но и нарастить потенциал продовольственного экспорта. В 2021 г. по объему экспорта лидировали подсолнечное масло (\$3997,8 млн), рапсовое масло (\$987,3 млн) и шоколадные изделия (\$864,2 млн) (по данным сайта <https://myexport.exportcenter.ru>). Перспективы российского продовольственного экспорта остаются благоприятными [4, 5].

Несмотря на успехи пищевой промышленности, остаются элементы продовольственной системы, служащие источниками уязвимостей: производство отечественного высокопроизводительного семенного фонда и современного оборудования для изготовления и хранения продуктов питания; разработка передовых технологий в сфере производства продуктов питания и напитков; производство микроингредиентов и компонентов для их изготовления и пр.

В функционировании современной пищевой промышленности важную роль играют микроингредиенты. По данной товарной группе Россия пока не обрела независимость. Важнейшие группы микроингредиентов либо выпускаются в ограниченных количествах (например, стабилизаторы, подсластители, ароматизаторы и пр.), либо не производятся вообще (например, лимонная кислота). В результате продовольственная система страны подвергается рискам, что требует принятия мер по преодолению импортозависимости и развитию новых в технологическом и продуктовом отношении производств.

Целью работы являлось исследование рынков микроингредиентов и их влияния на устойчивость продовольственной системы и выработку основных направлений государственной поддержки по развитию производства микроингредиентов.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования выступили тенденции развития рынков микроингредиентов в контексте устойчивого функционирования продовольственных систем. Теоретико-методологической базой исследования являлись положения теории мир-системного анализа, методы сравнительного и статистического анализа.

Выявление особенностей рынков микроингредиентов и их влияния на устойчивость продовольственных систем является центральным элементом исследования. Систематизация проблем и тенденций эволюционирования рынков микроингредиентов выступает важным направлением теоретических исследований, дающим основу для принятия управленческих решений по созданию условий для развития как отдельного вида деятельности по производству микроингредиентов, так и обеспечения устойчивости продовольственной системы страны в целом. По результатам исследования предлагаются основные направления государственной поддержки по развитию отечественного производства микроингредиентов и компонентов для их изготовления.

В рассматриваемом контексте расширяются границы исследования. С одной стороны, новые рубежи открываются из-за обострения нерешенных ранее проблем высокой зависимости отечественной пищевой промышленности от зарубежных производителей микроингредиентов, усиления угроз в свете мир-системных противоречий и нарастания проблем глобализации и конфликтного потенциала в политической и экономической сферах. С другой стороны, они проистекают из изменений, происходящих в структуре спроса и предложения готовой продукции и ресурсов для ее изготовления. Это вызывает необходимость изучения рыночных

факторов для выработки мер государственного регулирования рынков микроингредиентов в интересах обеспечения устойчивости продовольственной системы и продовольственной безопасности страны.

В рамках проводимого исследования понятия «микроингредиенты» и «пищевые добавки» используются как имеющие схожую смысловую нагрузку. В нормативных документах применяется термин «пищевые добавки» (ГОСТ Р 52499-2005, ТР ТС 029/2012, CODEX STAN 192-1995 и др.). Пищевые добавки – это любое вещество (или смесь веществ), имеющее или не имеющее собственную пищевую ценность, обычно не употребляемое непосредственно в пищу, и преднамеренно используемое в производстве пищевой продукции с технологической целью (функцией) обеспечения процессов производства (изготовления), перевозки (транспортирования) и хранения. Это приводит или может привести к тому, что данное вещество или продукты его превращений становятся компонентами пищевой продукции (к пищевым добавкам не относятся витамины, минеральные вещества, аминокислоты, пищевые волокна и пр.).

Информационную базу исследования образovali материалы Федеральной службы государственной статистики, Федеральной таможенной службы, Российского экспортного центра, рейтинговых и информационных агентств, отчеты и аналитические материалы ООН, Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО) и Союза производителей пищевых ингредиентов и данные, опубликованные в российских и зарубежных периодических изданиях.

Теоретическую базу исследования составили работы по проблемам функционирования продовольственных систем и продовольствен-

ной безопасности (В. Дагли, Г. Малорджио, Ф. Марангон, К. Акеми, Д. Мюллер, С. Чо, Г. Чой, Б. Кеммерлинг, К. Шеттер, Л. Виркус и др.) [6–9]. Исследовательское поле охватывает вопросы содержания и факторов устойчивости продовольственных систем.

Вопросы развития производства микроингредиентов для пищевой промышленности рассматриваются в контексте оценки текущего состояния, проблем и перспектив развития (Т. А. Никифорова, А. П. Нечаев, С. В. Краус, Т. В. Савенкова, П. А. Семенова, Е. А. Егоров, С. К. Куижева, Е. В. Лисовая, Е. П. Викторова и др.) [10, 11]. Особое внимание исследователей уделяется вопросам монополистической власти. Проблемы монопольного ценообразования и ценовых «пузырей» на рынках пищевых микроингредиентов выступают одним из новых направлений исследований (Х. Хан, Ч.-В. Су, А. Хуршид, М. Умар, Н. В. Осокина и др.) [12, 13].

Результаты и их обсуждение

Большинство современных продуктов питания производится с использованием микроингредиентов. Их применение призвано обеспечивать экономическую и технологическую эффективность процесса производства, безопасность и качество выпускаемой пищевой продукции.

Микроингредиенты могут быть природными, идентичными природным или искусственными (синтетическими) веществами. Группы микроингредиентов представлены на рисунке 2. Несмотря на то что основная направленность микроингредиентов – это улучшение, регулирование вкуса и консистенции продуктов и удлинение сроков хранения, известны примеры, когда они выполняли «сигнальную» функцию и применялись для при-

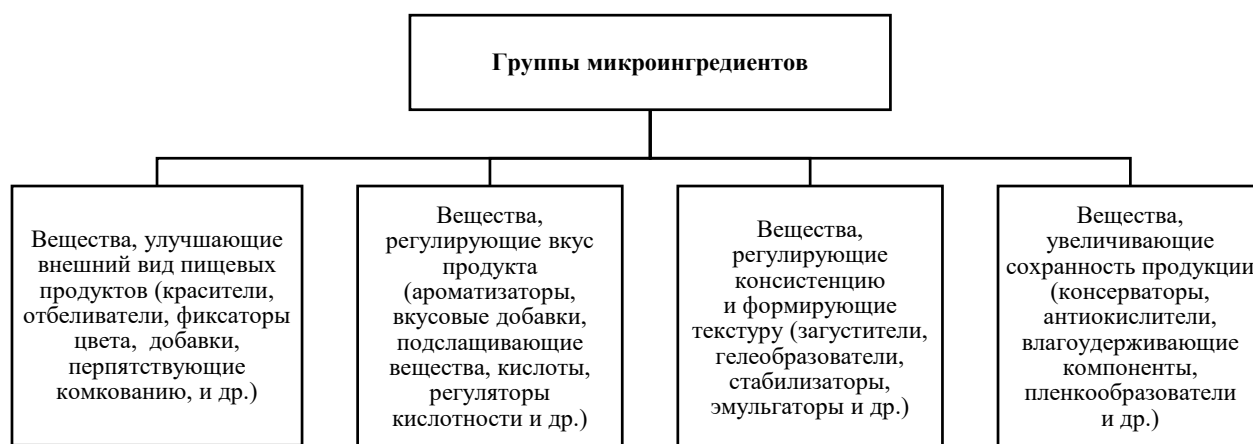


Рисунок 2. Группы микроингредиентов

Figure 2. Groups of micro-ingredients

нудительной маркировки продукции. В 1902 г. в США в отдельных штатах были приняты законы, требующие окрашивания маргарина в неприглядный розовый цвет, но впоследствии «розовые законы» были отменены (1967 г.).

Существует две разнонаправленные тенденции в развитии продовольственных систем, оказывающие влияние на рынки микроингредиентов. Первая тенденция направлена на удешевление продуктов питания, повышение их доступности и устранение голода, прежде всего, в наименее развитых странах.

В 2015 г. государствами – членами ООН была принята Повестка дня в области устойчивого развития на период до 2030 г. Планировалось к 2030 г. покончить с голодом и обеспечить всем, особенно малоимущим и уязвимым группам населения, круглогодичный доступ к безопасной, питательной и достаточной по объемам пище.

Распространенность недоедания с 2015 по 2019 гг. оставалась примерно на одном уровне – около 8 %. В 2020 г. показатель возрос до 9,3 %, а в 2021 г. – до 9,8 %. В 2021 г. в мире насчитывалось от 702 до 828 млн голодающих (с начала пандемии COVID-19 их количество выросло на 150 млн человек). В условиях умеренного или острого отсутствия продовольственной безопасности жили 2,3 млрд человек, в основном жители Африки и Азии [14]. К маю 2022 г. недоедали уже 869 млн человек [15]. Однако движение к достижению целей устойчивого развития, связанных с ликвидацией голода как крайней формы отсутствия продовольственной безопасности, приостановилось.

Глобальный индекс продовольственной безопасности, разработанный Economist Impact при поддержке Corteva Agriscience, ранжирующий 113 стран, демонстрирует снижение уровня продовольственной безопасности в мире [16]. Причины снижения продовольственной безопасности исследователи видят в структурных проблемах глобальной продовольственной системы, вызванных глобальной нестабильностью, изменениями климата, недостатком инвестиций в исследования сельскохозяйственного профиля и растущим неравенством и неустойчивостью цепочек поставок. Ситуация с продовольственной безопасностью в разных странах различается. В 2022 г. средний балл первых десяти стран (Финляндия, Ирландия, Норвегия, Франция, Нидерланды, Япония, Швеция, Канада, Великобритания и Португалия) был в два раза выше, чем у стран из нижней десятки (Конго, Судан, Венесуэла, Нигерия, Бурунди, Мадагаскар, Сьерра-Леоне, Йемен, Гаити и Сирия).

Негативное влияние на устойчивость продовольственных систем оказывает инфляция. Для 2022 г. характерен резкий рост уровня цен на продовольствие, обусловленный низким уровнем

отношения запасов к потреблению, высокой стоимостью энергоресурсов и удобрений, плохой погодой в странах-производителях, усугублением международных конфликтов и нарушением международных товаропроводящих цепочек. Ситуация усугубляется введением странами-экспортерами продовольствия временных запретов на экспорт отдельных видов продуктов (пшеницы, риса, подсолнечника, сахара и т. п.) [14]. Рост цен на продовольствие вызывает беспокойство граждан, которые тратят большую часть своего дохода на продукты питания.

Из-за снижения покупательной способности потребителей и роста числа голодающих в мире будет расти спрос на более дешевые продукты питания, а также повысится востребованность технологий их получения. Это означает, что спрос на микроингредиенты будет расти. Их использование позволит уменьшить (сдержать) рост цен на продукты питания за счет сокращения продолжительности технологического цикла, снижения потерь, увеличения сроков годности, использования новых видов сырья и введения новых видов продукции.

Вторая тенденция развития продовольственных систем направлена на удовлетворение потребностей населения с высоким уровнем дохода в безопасных, качественных, полезных и индивидуализированных продуктах питания. Для данной группы потребителей важным является экологичность производства, использование перерабатываемой упаковки и т. д. Качество продовольствия рассматривается как широкое понятие, которое объединяет методы производства, качество сырья и ингредиентов, привычки питания и пр. В этом контексте обеспечивается совершенствование продовольственных систем в русле концепции устойчивого развития, а также ужесточаются требования к качеству продукции и ее безопасности.

Набирает популярность подход «Единое здоровье», предполагающий рассмотрение пищи не только с точки зрения питания, но и как элемента, использование которого может вести к болезням пищевого происхождения [8, 17–19]. Многочисленные инициативы в данном направлении свидетельствуют о повышении комплексных требований к продовольствию.

Под влиянием второй тенденции происходит перераспределение спроса на микроингредиенты. Наблюдается постепенный отказ от применения искусственных добавок в пользу натуральных, расширение спектра используемого натурального сырья и рост продаж микроингредиентов для изготовления продуктов «премиум» класса.

Рассматривая рынок микроингредиентов, остановимся на специфике спроса и предложения. В числе основных факторов (детерминант), которые

влияют на изменение спроса на микроингредиенты, можно выделить следующие:

1. Производный характер спроса на микроингредиенты.

Поскольку микроингредиенты являются ресурсом для изготовления продукции, то спрос на них является производным, т. е. зависящим от спроса на готовые товары. Рост спроса на продовольственные товары, производимые с использованием микроингредиентов, характеризуется следующими особенностями:

- увеличение объемов потребления продукции в связи с ростом численности населения и спроса на микроингредиенты. Согласно демографическим прогнозам ООН к 2050 г. численность населения мира увеличится на 2 млрд человек (до 9,7 млрд человек), а к концу столетия достигнет почти 11 млрд человек;
- увеличение спроса на готовые к употреблению продукты, продукты быстрого приготовления, уличную еду и продукты, максимально удобные в потреблении. Пандемия COVID-19 способствовала увеличению спроса на комплексные смеси для производства готовой пищевой продукции в домашних условиях и замороженные изделия, сохраняющие свои качества после дефростации. При изготовлении данных продуктов используются добавки, улучшающие и регулирующие вкус и консистенцию продуктов, а также удлиняющие сроки хранения;
- рост спроса потребителей на экзотические, этнические и уникальные продукты. Все чаще становятся востребованными продукты с инновационными вкусами и ароматами и продукты, классический вкус которых дополнен необычными комбинациями (например, пиво со вкусом вишни или апельсина). Для российского рынка характерно определенное «запаздывание» в формировании потребительских предпочтений, в результате чего мировые тренды проявляются с задержкой. В результате рост спроса на определенные виды ингредиентов также проявляется с определенным временным лагом;
- рост популярности сектора низкокалорийных продуктов, веганских и вегетарианских продуктов, продуктов, отвечающих идеологии здорового образа жизни и имеющих улучшенный питательный профиль и «чистую этикетку» с «натуральным» составом. Тенденции развития вкусоароматики все больше фокусируются на натуральных ингредиентах, в первую очередь, растительного происхождения. Во многих категориях продуктов питания и напитков растет интерес к растительным ароматам. Для привлечения потребителей производители «озеленяют» профили вкусов, применяя ароматизаторы морских водорослей, грибов, сельдерея, брюссельской капусты и пр.;

– рост потребности в кастомизированных продуктах. Потребители все чаще выбирают продукты, в которых видят индивидуальный подход к своему образу жизни. Индивидуализация продукта успешно осуществляется с использованием соответствующих микроингредиентов. Все более актуальным становится вопрос создания продуктов питания с заданными свойствами и характеристиками;

– рост спроса на корма для домашних животных, приготовленные с использованием ароматизаторов, усилителей вкуса и др.

2. Рост цен на натуральное сырье.

Цены на продовольственное сырье в период с 2004 по 2020 гг. демонстрировали долговременное снижение, несмотря на существование периодов, в течение которых имел место рост цен. В 2008 и 2010–2014 гг. наблюдался рост мирового индекса цен на продовольствие, рассчитанного как средние значения индексов цен на пять товарных групп (мясо, молочные и зерновые продукты, растительные масла, сахар), в 2004–2007, 2009 и 2015–2020 гг. – его падение. С 2021 г. начался стремительный рост цен на продовольствие, который продолжился в 2022 г., достигнув 143,7 %. Динамика мировых цен на продовольствие представлена в таблице 2 [20].

Цены на натуральное сырье влияют на спрос на микроингредиенты. Рассмотрим ситуацию на примере ванилина. Рынок ванили характеризуется особенностями, связанными с формированием т. н. пузырей (ситуации, когда происходит последовательный рост и резкий обвал цен в определенный период). Натуральный ванилин считается физически, социально и политически «ненадежным» ингредиентом, испытывающим колебания цен. Например, цена на ванилин колебалась от \$400 за килограмм в 2003 г. до \$30 за килограмм в 2005 г., что было вызвано его перепроизводством. Это побудило фермеров, выращивающих ваниль, переключиться на другие культуры, что привело сначала к дефициту, а затем к резкому росту цен. Цена ванилина, составляющая \$80 за килограмм в 2014 г., возросла до \$600 в 2017 г. из-за высокого мирового спроса [12]. К 2019 г. цены на ванилин резко понизились на треть из-за перехода компаний на искусственный ванилин и рекордного урожая натурального ванилина. С учетом сложившегося уровня цен и продолжающейся тенденции использования натуральных ингредиентов мировой рынок ванилина до 2026 г. будет расти в среднем на 5,8 % в год [21]. В данном случае происходит циклическое колебание спроса на искусственный ванилин в зависимости от цен на натуральный. Основные поставщики ванилина нацелены на увеличение производственных мощностей, чтобы удовлетворить спрос. Упор делается на использование возобновляемого сырья и биотехнологий.

Таблица 2. Индексы мировых цен на продовольствие в 2004–2022 гг.

Table 2. World food price indices, 2004–2022

Индексы цен ФАО на продовольствие						
Год	Индексы цен на продовольствие	Мясо	Молочные продукты	Зерновые	Растительные масла	Сахар
2004	65,6	67,6	69,8	64,0	69,6	44,3
2005	67,4	71,8	77,2	60,8	64,4	61,2
2006	72,6	70,5	73,1	71,2	70,5	91,4
2007	94,3	76,9	122,4	100,9	107,3	62,4
2008	117,5	90,2	132,3	137,6	141,1	79,2
2009	91,7	81,2	91,4	97,2	94,4	112,2
2010	106,7	91,0	111,9	107,5	122,0	131,7
2011	131,9	105,3	129,9	142,2	156,5	160,9
2012	122,8	105,0	111,7	137,4	138,3	133,3
2013	120,1	106,2	140,9	129,1	119,5	109,5
2014	115,0	112,2	130,2	115,8	110,6	105,2
2015	93,0	96,7	87,1	95,9	89,9	83,2
2016	91,9	91,0	82,6	88,3	99,4	111,6
2017	98,0	97,7	108,0	91,0	101,9	99,1
2018	95,9	94,9	107,3	100,8	87,8	77,4
2019	95,1	100,0	102,8	96,6	83,2	78,6
2020	98,1	95,5	101,8	103,1	99,4	79,5
2021	125,7	107,7	119,1	131,2	164,9	109,3
2022	143,7	118,9	142,4	154,7	187,8	114,5

Учитывая рост цен на продовольствие и падение доходов части населения в мире, пищевая промышленность будет решать проблему роста цен на натуральное сырье путем его замены на более дешевое. Ожидается наращивание использования микроингредиентов.

Использование инновационных технологий в области производства и применения микроингредиентов, повышение уровня их безопасности и комфортности применения ведет к росту эффективности использования ресурсов и объемов производства продовольствия. Поэтому следует ожидать рост спроса на микроингредиенты. С точки зрения производителей важно, чтобы при изготовлении продуктов использование микроингредиентов оптимизировало технологический процесс, не требовало специального оборудования и улучшало их свойства.

Предложение микроингредиентов, как и спрос на них, претерпевает изменения. На рынках микроингредиентов конкурируют специализированные компании-производители, многопрофильные химические концерны и мелкие производители. Контроль на данном рынке обеспечивается глобальными компаниями [13].

Локация производства микроингредиентов в мире изменилась за последние 30 лет. Центр их производства постепенно перемещается из Европы и Северной Америки в Китай. В Китае производством пищевых добавок занимается около 850 предприятий, которыми производятся ежегодно больше

20 000 наименований продукции [22]. Наблюдается рост производства микроингредиентов в Индии.

В СССР насчитывалось несколько десятков предприятий, выпускающих пищевые добавки (производство пищевых кислот – 15 предприятий, пищевых красителей – 4, альгинатов – 2, фосфатов – 2, эмульгаторов – 1, ароматизаторов – 2, пектинов – 2 и т. д.). После распада СССР одна часть производств осталась на территории бывших советских республик, а другая прекратила существование [10]. В результате большое количество микроингредиентов стало поставляться в Россию из Германии, США, Франции, Китая и других стран.

До 2010-х гг. в стране было мало собственных производств микроингредиентов из-за большого выбора и доступности импортных. Затем начался постепенный переход от продаж готовых зарубежных пищевых добавок к созданию собственных. К 2019 г. насчитывалось несколько десятков отечественных компаний-производителей.

По оценке исполнительного директора Союза производителей пищевых ингредиентов П. Семеновой, представленной на информационном ресурсе «Бизнес пищевых ингредиентов online» (июнь 2020 г.), в 2018 г. российский рынок составлял свыше \$3 млрд (почти 750 тыс. т), из которых около \$1,9 млрд – импорт. Сегодня важнейшие группы микроингредиентов либо выпускаются в ограниченных количествах, либо не производятся (пектины, антиоксиданты, эмульгаторы, модифицированные крахмалы, лимонная кислота и др.), в

результате чего отечественный рынок пищевых микроингредиентов остается зависимым от импорта.

На российском рынке микроингредиентов функционируют отечественные производители: ООО «Комбинат Химико-Пищевой Ароматики», АО «ГИОРД», ООО «АСПАСВИТ», ГК «СОЮЗСНАБ», ООО «Зеленые линии», ООО «Группа Компаний ПТИ», АО «НМЖК», ООО «Скорпио-Аромат», ОАО «РЕАТЭКС», ООО «ЭФКО Пищевые Ингредиенты», АО «ЭКО РЕСУРС», ООО «Русские Ингредиенты», ООО «ВКУСАРОМ» и др. В России также локализовали производства глобальные компании – американская Cargill, Inc и немецкие Döhler GmbH и Symrise AG. Большинство компаний входит в состав Союза производителей пищевых ингредиентов, нацеленного на содействие развитию производства ингредиентов в стране.

Развитие отечественного производства сдерживается из-за высокой зависимости от зарубежных поставок компонентов для изготовления микроингредиентов и роста цен на них; недостаточного уровня государственной поддержки и инновационной активности производителей; административных барьеров при внедрении новой продукции; нарушения логистических цепочек; контроля предприятий

пищевой промышленности иностранными компаниями. Контролирующие бизнес юридические и физические лица определяют политику производства и снабжения производств соответствующими ресурсами, зачастую иностранного производства.

В начале ноября 2022 г. зарубежные учредители были у таких компаний, как ООО «ПепсиКо Холдингс», ООО «Нестле Россия», ООО «Марс», ООО «Каргилл» и др. Часть их вошла в рейтинг Forbes.ru крупнейших компаний с иностранным участием, работающих в России. Информация о совладельцах компаний и их долях в уставном капитале, месте в рейтинге, объемах выручки и ее динамике представлена в таблице 3 [23, 24]. В число компаний-лидеров рейтинга по объему выручки по итогам 2021 г. вошли ООО «ПепсиКо Холдингс» (13 место), ООО «Нестле Россия» (18 место), ООО «Марс» (19 место), ООО «Каргилл» (22 место), АО «Данон Россия» (29 место), ООО «Мултон партнерс» («Кока-Кола ЭйчБиСи Евразия») (34 место), АО «АБ Инбев Эфес» (39 место) и ООО «Пивоваренная компания «Балтика»» (41 место). Нахождение в составе компаний зарубежных учредителей и использование зарубежных брендов обуславливает

Таблица 3. Компании пищевой промышленности России с иностранным участием в 2021 г.

Table 3. Russian food industry companies with foreign participation, 2021

Компания	Зарубежные совладельцы/доля в уставном капитале	Место в рейтинге Forbes крупнейших компаний с иностранным участием, работающих в России	Выручка в 2021 г., млрд руб./изменение в процентах по отношению к предыдущему году
ООО «ПепсиКо Холдингс»	SVE Russia Holdings GmbH, Германия/98,88 % Frito-Lay Trading Company (Europe) GmbH, Швейцария/1,12 %	13	268,6/16,3 %
ООО «Нестле Россия»	Société des Produits Nestlé S.A., Швейцария/84,08 % Nestlé Deutschland AG, Германия/15,92 %	18	189,6/14,4 %
ООО «Марс»	Wm. Wrigley Jr. Company, США/62,78 % Mars GmbH, Германия/37,22 %	19	155,5/11,4 %
ООО «Каргилл»	Cargill International Luxembourg 2 S. à r.l, Люксембург/100 %	22	130,9/20,0 %
АО «Данон Россия»	Dairy JV Holdings (Cyprus) Ltd, Кипр/99,99 %	29	109,9/–0,7 %
ООО «Мултон партнерс» («Кока-Кола ЭйчБиСи Евразия»)	Coca-Cola HBC Holdings B.V., Нидерланды/100 %	34	94,0/29,1 %
АО «АБ Инбев Эфес»	AB INBEV EFES B.V., Нидерланды/90,68 % Euro-Asien-Brauereien Holding GmbH, Германия/6,89 % Bevmar GmbH, Германия/2,42 %	39	85,4/11,4 %
ООО «Пивоваренная компания «Балтика»»	Carlsberg Sverige AB, Швеция/98,56 % Carlsberg Deutschland GmbH, Германия/0,09 %	41	80,1/8,9 %

то, что качество и потребительские характеристики продуктов питания (а также их состав, включая микроингредиенты) зависят от решения бенефициаров, преследующих интересы стран базирования.

Принятие решения о прекращении выпуска продукции зарубежных брендов дает возможность продвижения продукции российских производителей. В марте 2022 г. Coca-Cola HBC Holdings B.V. и PepsiCo объявили о приостановке работы в России и перестали поставлять компоненты для производства напитков Coca-Cola, Fanta, Sprite, Pepsi-Cola, 7UP и Mirinda. Эти бренды занимали значительную часть российского рынка безалкогольных напитков. Когда стало известно об их уходе, российские и зарубежные производители стали предлагать напитки-аналоги (например «Черноголовка Кола», Funky Monkey, Cool Cola, кола из Белоруссии и др.). Часть данных напитков изготавливается с использованием российских микроингредиентов.

В сложившихся условиях ряд российских компаний, ранее специализировавшихся на импорте и торговле пищевыми добавками, планирует развивать собственное производство. Это позволит повысить уровень самообеспеченности страны ресурсами для производства продуктов питания. Однако проблема заключается в зависимости от импорта компонентов (эфирные масла, душистые вещества для производства ароматизаторов, кислоты, соли, глутамат натрия, цитрат натрия, сорбатбензоат, пропиленгликоль и пр.), из которых изготавливаются микроингредиенты. В этом проявляется уязвимость продовольственной системы страны.

Эпидемия COVID-19, включение микроингредиентов и компонентов для их производства в санкционные списки и нарушение логистических каналов продемонстрировали высокую значимость комплексного развития всех элементов продовольственных систем для обеспечения их устойчивости. Когда разрываются годами устанавливаемые связи, и нарушаются устоявшиеся системы отношений между поставщиками и потребителями, утрачивается достигнутое качество отношений. В этом случае говорят об утрате доверия как ценного реляционного ресурса [25]. Сейчас многие контрагенты не имеют возможности продолжать сложившиеся отношения не только из-за прямого запрета, но и из-за т. н. «культуры отмены».

Поиск новых каналов поставок и поставщиков, прежде всего из Китая, позволил снять остроту проблемы, но не решить ее. В настоящее время производство большинства базовых компонентов сосредоточено в КНР. Китай в последние годы повышает цены и планомерно сокращает химическое производство из-за ужесточения экологического законодательства и установления лидирующих по-

зиций на рынке, позволяющих определять выгодные объемы производства. Поэтому для обеспечения устойчивости продовольственной системы страны необходимо развивать собственное производство пищевых микроингредиентов наряду с запуском компонентной базы.

При выработке мероприятий, которые направлены на стимулирование производства отечественных микроингредиентов, следует учитывать исходные условия, сложившиеся на соответствующих рынках. Рассмотрим в качестве примера особенности развития рынков ароматизаторов и лимонной кислоты, конкурентная среда которых отличается.

Рынок ароматизаторов. В зависимости от способа изготовления пищевые ароматизаторы делятся на натуральные, идентичные натуральным и искусственные. Большая доля продаж приходится на искусственные ароматизаторы из-за наличия широкого ассортимента, растущего спроса на новые ароматы и более высокой рентабельности по сравнению с натуральными. Спектр ароматизаторов варьируется от традиционных (цитрусовые, ананас, абрикос, вишня, персик, темный шоколад и т. д.) до экзотических (пандан, юдзу, чат-масала и т. д.). Наибольшая доля рынка приходится на ароматизаторы, используемые при изготовлении напитков.

Объем мирового рынка ароматизаторов в 2021 г. составил \$29,6 млрд. Согласно прогнозам аналитического агентства IMARC Group к 2027 г. объем рынка достигнет \$37,8 млрд, демонстрируя среднегодовой темп роста в 3,94 % [26].

В 2020 г. крупнейшим импортером ароматизаторов в мире являлись: США (\$3100,7 млн), Мексика (\$1469,8 млн) и Франция (\$1007,1 млн). Россия импортировала ароматизаторов на \$375,3 млн. Крупнейшими экспортерами были Ирландия (\$8277,6 млн), США (\$1397,6 млн) и Германия (\$1126,6 млн). Экспорт России составил \$18,2 млн (в 2021 г. – \$20,9 млн) (табл. 4, по данным сайта <https://myexport.exportcenter.ru>).

Согласно отчету маркетинговой компании «Research And Markets» (март 2022 г.) ключевыми игроками на рынке пищевых ароматизаторов являются Givaudan SA и Firmenich SA (Швейцария), International Flavors & Fragrances Inc., Sensient Technologies Corporation и Archer Daniels Midland Company (США), Symrise AG, Basf SE и Dohler GmbH (Германия), Mane SA и Robertet Group (Франция), Takasago International Corporation и T. Hasegawa Co. Ltd (Япония), Koninklijke DSM N.V. и Corbion NV (Нидерланды), Huabao International Holdings Limited (Гонконг), Kerry Group (Ирландия) и др. Данные компании обеспечивают свое лидерство, инвестируя в разработку новых ароматизаторов, расширяя линейки натуральных ароматизаторов, приобретая местных игроков или устанавливая

Таблица 4. Страны-лидеры по объемам экспорта и импорта ароматизаторов для пищевой промышленности в 2020 г.

Table 4. Exports and imports of flavoring agents: leaders in 2020

№	Страны-экспортеры	Объем экспорта		Страны-импортеры	Объем импорта	
		По стоимости, млн долл. США	По весу, тонн		По стоимости, млн долл. США	По весу, тонн
1.	Ирландия	8277,6	157 840,8	США	3100,7	73 929,5
2.	США	1397,6	82 414,0	Мексика	1469,8	н/д
3.	Германия	1126,6	90 539,2	Франция	1007,1	41 999,6
4.	Сингапур	906,3	36 792,9	Германия	850,8	38 523,3
5.	Франция	823,9	42 833,2	Великобритания	733,8	128 324,2
6.	Нидерланды	539,9	37 246,1	Испания	492,2	27 202,7
7.	Эсватини	527,4	11 549,0	Канада	436,6	20 556,7
8.	Швейцария	421,6	16 617,0	Бельгия	389,2	23 424,4
9.	Испания	326,0	29 898,9	ЮАР	385,8	н/д
10.	Великобритания	278,5	19 061,6	Россия	375,3	23 266,1
11.	Египет	216,6	12 423,3	Нидерланды	367,9	27 697,6
12.	Венгрия	176,3	20 342,9	Польша	351,1	29 946,7

партнерские отношения с ними. Они увеличивают онлайн-каналы для расширения географического охвата и роста клиентской базы.

В России признанным лидером в сфере производства ароматизаторов является «Комбинат химико-пищевой ароматики», который был основан в 1935 г. с целью создания отечественного производства пищевых эссенций («Ленхимпищеаромат»). На протяжении десятилетий комбинат являлся монополистом. Сегодня выпуском ароматизаторов занимаются такие российские компании, как ООО «Скорпио-Аромат», ООО «Тереза-Интер», ООО «Вкусаром», ООО «Арома Органикс», ООО «Зеленые линии», ООО «Ворлд Маркет», АО «ЭКО РЕ СУРС» и др. Также действуют производства ведущих игроков мирового рынка ароматизаторов. Например, Stockmeier Food GmbH и Döhler GmbH (Германия).

Таким образом, на российском рынке ароматизаторов представлены как зарубежные, так и российские производители. Доля продаж ароматизаторов отечественного производства растет при сохраняющейся зависимости производителей от компонентов для их изготовления.

Рынок лимонной кислоты. Лимонная кислота используется для контроля роста микроорганизмов, регулирования кислотности и усиления вкуса. Около три четверти мирового потребления лимонной кислоты приходится на производство напитков и продуктов питания.

По данным аналитического обзора рынка лимонной кислоты, представленном на информационном ресурсе «Бизнес пищевых ингредиентов online» (апрель 2022 г.), мировой рынок лимонной кислоты составляет \$1744,5 млн (2,6 млн т). К концу 2026 г. рынок достигнет \$1898,3 млн при среднегодовых темпах роста на уровне 1,2 %. Азия является

крупнейшим потребителем лимонной кислоты и цитратов – приблизительно 30 % мирового потребления. Северная Америка является вторым по величине рынком лимонной кислоты (23 %).

На Китай приходится около 70 % мирового производства лимонной кислоты. Помимо расширения собственного производства, китайские производители создают производственные мощности в других странах для обеспечения доступа к сырью и экономии на заработной плате.

Основными экспортерами лимонной кислоты в 2020 г. были Китай (\$570 млн), Бельгия (\$122 млн) и Таиланд (\$102 млн). Ведущими импортерами являлись США (\$198,4 млн), Германия (\$137,2 млн) и Индия (\$60,0 млн). Россия импортировала лимонной кислоты на \$36,3 млн. Наибольшую долю импорта лимонной кислоты в Россию в 2021 г. обеспечил Китай.

Информация о странах-лидерах по объемам экспорта и импорта лимонной кислоты в 2020 г. представлена в таблице 5 (по данным сайта <https://myexport.exportcenter.ru>). Ведущими производителями лимонной кислоты являются компании Weifang Ensign Industry Co., Ltd, TTCA Co., Ltd; RZBC Group Co. Ltd; Cofco Biochemical (Anhui) Co., Ltd, Shandong Juxian Hongde Citric Acid Company Ltd; Huangshi Xinghua Biochemical Co. Ltd, Foodchem International Corporation, Jiangsu Guoxin Union Energy Co., Ltd (Китай); Tate & Lyle PLC (Великобритания); S.A. Citrique Belge N.V. (Бельгия); Archer Daniels Midland Company и Cargill Incorporated (США) и др.

Лимонную кислоту в СССР, а затем и в России, производил белгородский завод «Цитробел». Демпинг зарубежных производителей на протяжении ряда лет ухудшал экономическое положение завода. В 2014 г. по заявлению ООО «Цитробел» и ОАО «Скидельский сахарный завод» (Республика Беларусь)

Таблица 5. Страны-лидеры по объемам экспорта и импорта лимонной кислоты в 2020 г.

Table 5. Exports and imports of citric acid: leaders in 2020

№	Страны-экспортеры	Объем экспорта		Страны-импортеры	Объем импорта	
		По стоимости, млн долл. США	По весу, тонн		По стоимости, млн долл. США	По весу, тонн
1.	Китай	570,3	942 861,3	США	198,4	181 183,2
2.	Бельгия	122,3	106 598,0	Германия	137,2	134 544,6
3.	Таиланд	103,0	97 540,0	Индия	60,0	98 143,8
4.	Нидерланды	47,5	27 489,5	Мексика	57,5	н/д
5.	Германия	44,1	30 865,6	Италия	53,9	50 362,9
6.	США	30,5	13 729,6	Нидерланды	53,9	56 000,6
7.	Колумбия	24,7	26 783,5	Япония	47,2	52 683,1
8.	Польша	16,4	16 642,0	Великобритания	46,9	43 470,5
9.	Ирландия	15,0	7981,1	Франция	45,4	42 461,6
10.	Словения	10,5	10 417,7	Польша	39,9	48 786,1
11.	Бразилия	9,8	7036,4	Турция	39,5	59 039,6
12.	Сингапур	9,0	5536,4	Россия	36,3	57 823,1

Евразийской экономической комиссией было начато антидемпинговое расследование в отношении лимонной кислоты, происходящей из Китая и ввозимой на территорию Таможенного союза.

По итогам расследования Департаментом защиты внутреннего рынка Евразийской экономической комиссии в 2015 г. был подготовлен Доклад «О результатах антидемпингового расследования в отношении лимонной кислоты, происходящей из Китайской Народной Республики и ввозимой на единую таможенную территорию Таможенного союза». Согласно Докладу разница между ценами предприятий Таможенного союза и ценами лимонной кислоты из Китая увеличилась в два раза в 2010–2013 гг. Увеличение поставок лимонной кислоты из Китая по более низким ценам привело к переориентации потребителей на ее покупку.

Под давлением низких цен на китайскую лимонную кислоту предприятия Таможенного союза были вынуждены снижать цены. В 2012 г. снижение цены на лимонную кислоту превышало снижение ее себестоимости в 1,7 раза, в 2013 г. ее цена снизилась на 9,5 % при росте себестоимости на 4,4 %. Политика сдерживания цен позволила предприятиям стабилизировать долю на рынке только при ухудшении финансовых показателей (рентабельность стала отрицательной, денежные потоки сократились).

В ходе расследования было установлено, что имел место рост демпингового импорта из Китая, который привел к снижению цен и оказал негативное влияние на производителей лимонной кислоты на территории Таможенного союза. Было предложено применить антидемпинговую меру в отношении лимонной кислоты, происходящей из Китая, в форме антидемпинговой пошлины сроком на 5 лет (в процентах от таможенной стоимости): для Weifang Ensign Industry Co., Ltd. – 4,20, для TTCA Co.,

Ltd. – 6,82, для Yixing-Union Biochemical Co., Ltd. – 16,97, для прочих экспортеров и/или производителей КНР – 16,97.

«Цитробел» еще несколько лет продолжал неравную конкурентную борьбу. В конце 2017 г. по требованию надзорных органов производство лимонной кислоты было остановлено из-за несоблюдения экологических требований. Все потребности рынка в лимонной кислоте покрываются за счет поставок из-за рубежа, в основном из Китая. В последнее время пищевая промышленность России испытывает проблемы с поставками лимонной кислоты из Китая, связанные с удлинением сроков поставки и ростом цен.

Таким образом, на российском рынке лимонной кислоты представлены зарубежные производители при отсутствии отечественных. Конкурентная борьба на российском рынке ведется между китайскими компаниями. Цены на лимонную кислоту характеризуются устойчивым ростом. В условиях санкционного давления стала осознаваться необходимость возобновления производства в России лимонной кислоты. Анонсировано несколько проектов по ее производству компаниями ООО «Рустарк», ООО «Ярко Групп», АО «БиоТех Росва», ООО «Органические кислоты» и др.

Исходя из специфики рыночной ситуации, необходимы различные подходы к дальнейшему развитию производств. Если на рынке представлена продукция как отечественных, так и зарубежных производителей, то необходима поддержка действующих предприятий и укрепление их позиций на российских рынках, а в перспективе на зарубежных. Если на российском рынке конкурируют зарубежные производители при отсутствии отечественных, то необходимо обеспечить создание новых производств, вывод продукции на российский рынок

и завоевание доли рынка при наличии мощных и готовых к демпингу конкурентов.

Осознавая зависимость от зарубежных поставщиков, в России принимаются меры по укреплению сырьевой базы пищевой промышленности. В Стратегии повышения качества пищевой продукции в РФ до 2030 г. (утверждена распоряжением Правительства РФ от 29.06.2016 № 1364-р) была поставлена задача по возрождению в стране производства пищевых ингредиентов путем повышения заинтересованности предпринимательского сообщества и разработки современных технологий их производства. В Доктрине продовольственной безопасности РФ (утверждена Указом Президента РФ 21.01.2020 № 20) определена необходимость создания новых производственных мощностей, реконструкции и развития действующих производств по выпуску компонентов (ингредиентов) для пищевой промышленности, в том числе с использованием методов биотехнологии.

Несмотря на принимаемые меры, производство микроингредиентов в стране развивается медленно. Первоочередной задачей выступает обеспечение внутренних потребностей с последующим развитием экспортного потенциала. Перед предприятиями стоит задача повышения вовлеченности в укрепление устойчивости продовольственной системы и продовольственной безопасности страны. Это приводит к усложнению стратегий и функций предприятий и необходимости учета технических и социально-экологических ограничений, с которыми им приходится сталкиваться, чтобы поддерживать и улучшать свою деятельность [8].

Для развития производства микроингредиентов открылось «окно возможностей». Знание специфики спроса, возможность оперативного решения технологических проблем клиентов и отлаженность логистических услуг могут сыграть положительную роль в преодолении импортной зависимости от микроингредиентов и повышении устойчивости продовольственной системы России.

Однако без государственной поддержки развитие отечественного производства микроингредиентов и компонентов для их изготовления в короткие сроки представляется проблематичным. Основными направлениями государственной поддержки должны стать:

1. Поддержка существующих производителей микроингредиентов и их компонентов:
 - возмещение части затрат на строительство и/или реконструкцию объектов для производства микроингредиентов и их компонентов по гибким технологическим схемам;
 - возмещение части затрат на прирост собственного производства микроингредиентов и их компонентов;
 - возмещение части затрат, связанных с приобретением машин и оборудования, а также цифровизации

и автоматизации процессов производства микроингредиентов и их компонентов;

- возмещение части затрат на реализацию мероприятий, направленных на увеличение уровня напряжения в точке присоединения энергопринимающих устройств;
- возмещение части затрат на уплату процентов по кредитным договорам (договорам займа);
- грантовая поддержка развития современных технологий, в том числе биотехнологий;
- льготные кредиты на закупку использования местного растительного сырья для получения пищевых добавок со статусом «натуральные» (красителей, сахарозаменителей, ароматизаторов и пр.). Эта мера будет способствовать открытию новых производств по заготовке исходного сырья, улучшению производителями состава продукции и повышению ее питательной ценности [11];
- грантовая поддержка разработки рецептур пищевых продуктов с использованием микроингредиентов из местного сырья.

2. Стимулирование создания новых предприятий по производству микроингредиентов и их компонентов, изготовление которых не осуществляется отечественными производителями:

- льготное кредитование проектов создания предприятий по производству микроингредиентов и их компонентов в русле ESG-повестки;
- возмещение части затрат на строительство объектов для производства микроингредиентов и их компонентов;
- возмещение части расходов, связанных с приобретением основных средств и началом коммерческой деятельности;
- снижение налоговых ставок по налогам на прибыль и имущество на период выхода предприятий на проектную мощность;
- использование механизмов государственно-частного партнерства для формирования инфраструктурных и логистических маршрутов, систем хранения;
- возмещение части затрат, связанных с продвижением микроингредиентов и их компонентов.

Увеличение производства микроингредиентов и компонентов для их изготовления позволит сократить зависимость пищевой промышленности России от зарубежных поставщиков и повысить устойчивость ее продовольственной системы.

Выводы

Производство микроингредиентов и их компонентов выступает одним из условий стабильного функционирования пищевой промышленности и обеспечения устойчивости продовольственной системы страны. Низкая обеспеченность микроингредиентами отечественного производства обус-

лавливает уязвимость российской продовольственной системы к внешним шокам, связанным с нарушением глобальных цепочек поставок, введением санкций, ростом числа локальных конфликтов, экономическими кризисами, изменением климата и пр.

На развитие рынков микроингредиентов оказывают влияние две разнонаправленные тенденции эволюционирования продовольственных систем. Первая тенденция направлена на удешевление продуктов питания, повышение их доступности и устранение голода, прежде всего, в наименее развитых странах, вторая – на удовлетворение потребностей населения с высоким уровнем дохода в безопасных, качественных и индивидуализированных продуктах питания. Под влиянием данных тенденций происходит рост спроса и предложения на рынке микроингредиентов, обусловленный изменением характера спроса на готовую пищевую продукцию, ростом цен на натуральное сырье для изготовления продуктов питания и созданием инновационных технологий производства и использования микроингредиентов.

Сегмент производства пищевых продуктов в России продемонстрировал устойчивость к санкционным ограничениям, в то время как сегмент микроингредиентов оказался под угрозой из-за высокой зависимости от импорта. Кроме того, конкуренция со стороны китайских компаний, предлагающих более дешевые микроингредиенты, оказала негативное влияние на отдельных российских производителей, подорвав их конкурентоспособность.

В России активизируются усилия по созданию новых производств для выпуска микроингредиентов. Однако пока отечественное производство микроингредиентов сконцентрировано на выпуске пи-

щевых добавок из импортных компонентов, что не решает системно вопросы импортозамещения. Учитывая растущие объемы потребления и высокую зависимость от зарубежных поставок, требуется развитие производства не только пищевых микроингредиентов, но и компонентов для их изготовления в России. Это будет способствовать повышению устойчивости продовольственной системы страны к внешним шокам. Государственная поддержка развития производственной и инфраструктурной базы для выпуска микроингредиентов и компонентов для их изготовления, технологий производства и последующего использования микроингредиентов, а также продвижения микроингредиентов российского производства должна быть дифференцирована в зависимости от состояния конкурентной среды соответствующих рынков микроингредиентов в России и наличия или отсутствия на них отечественных производителей.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

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

References/Список литературы

1. Nutrition and food systems. A report by the high level panel of expertson food security and nutrition. September 2017 [Internet]. [cited 2022 Oct 30]. Available from: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/hlpe/hlpe_documents/HLPE_Reports/HLPE-Report-12_EN.pdf
2. Zavriev SK, Ignatov AN. Potential threats in agriculture and food security area. *World Economy and International Relations*. 2020;64(7):100–107. (In Russ.). <https://doi.org/10.20542/0131-2227-2020-64-7-100-107>
3. Kazantseva EG, Lyamkin II. The impact of value chains on food security. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(2):282–295. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2363>
4. Charykova OG, Otinova ME, Tiutiunikov AA. Key directions of agricultural export development in Russian regions. *Economy of Regions*. 2022;18(1):193–207. (In Russ.). <https://doi.org/10.17059/ekon.reg.2022-1-14>
5. Neganova VP, Chistyakov YuF. Development of agricultural foreign trade in the post-soviet countries. *Economy of Regions*. 2020;16(2):597–611. (In Russ.). <https://doi.org/10.17059/2020-2-20>
6. Dagli W. “Central” and “peripheral” adaptation pathways of entangled agrifood systems transformations. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2022;6. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.984276>
7. Kemmerling B, Schetter C, Wirkus L. The logics of war and food (in)security. *Global Food Security*. 2022;33. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2022.100634>
8. Malorgio G, Marangon F. Agricultural business economics: The challenge of sustainability. *Agricultural and Food Economics*. 2021;9(6). <https://doi.org/10.1186/s40100-021-00179-3>

9. Kopein VV. Economic and food security: New reality of import substitution. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;40(1):126–134. (In Russ.). [Копейн В. В. Экономическая и продовольственная безопасность: новая реальность импортозамещения // Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 40. № 1. С. 126–134.]
10. Nechaev AP, Kraus SV, Nikiforova TA, Savenkova TV, Semyonova PA. Development of food ingredients production in Russia: Realities and prospects. *Food Industry*. 2016;(6):64–68. (In Russ.). [Развитие производства пищевых ингредиентов в Российской Федерации: реалии и перспективы / А. П. Нечаев [и др.] // Пищевая промышленность. 2016. № 6. С. 64–68.]
11. Egorov EA, Kuizheva SK, Lisovaya EV, Viktorova EP. The current state and prospects for the development of food production and food additives in the Russian Federation. *New Technologies*. 2022;18(2):53–61. (In Russ.). <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2022-18-2-53-61>
12. Khan K, Su C-W, Khurshid A, Umar M. Are there bubbles in the vanilla price? *Agricultural and Food Economics*. 2022;10(6). <https://doi.org/10.1186/s40100-022-00213-y>
13. Osokina NV, Kazantseva EG. Strengthening of the economic power of the dominating entities in the food industry. *Foods and Raw Materials*. 2016;4(2):190–200. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-190-200>
14. In brief to the state of food security and nutrition in the world 2022. Repurposing food and agricultural policies to make healthy diets more affordable. Rome: FAO; 36 p. <https://doi.org/10.4060/cc0640en>
15. Global food crisis [Internet]. [cited 2022 Nov 01]. Available from: <https://www.imf.org/ru/Publications/fandd/issues/2022/06/war-fuels-food-crisis-picture>
16. Global Food Security Index 2022. [Internet]. [cited 2022 Nov 05]. Available from: <https://impact.economist.com/sustainability/project/food-security-index/Index>
17. Gromov DA, Borisova AV, Bakharev VV. Food allergens and methods for producing hypoallergenic foods. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(2):232–247. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-232-247>
18. Reznichenko IYu, Shcheglov MS. Sugar substitutes and sweeteners in confectionery technology. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(4):576–587. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-576-587>
19. Kostina NG, Podlegaeva TV, Sergeeva IYu. Extraction of plant pigments from local raw materials. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(4):522–530. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-522-530>
20. FAO Food Price Index [Internet]. [cited 2022 Nov 20]. Available from: <https://www.fao.org/worldfoodsituation/foodpricesindex/en>
21. Vanillin market: growth, trends, COVID-19 impact, and forecasts (2021–2026) [Internet]. [cited 2022 Nov 15]. Available from: <https://www.mordorintelligence.com/ru/industry-reports/vanillin-market>
22. Lyabin MP, Postnova MV, Bolkunov AI. Comparative analysis of the market of food supplements in Russia, USA and China. *Natural Systems and Resources*. 2019;9(1):11–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2019.1.2>
23. SPARK-Interfax [Internet]. [cited 2022 Nov 08]. Available from: <https://spark-interfax.com>
24. Fifty largest foreign companies in Russia in 2022. Forbes rating [Internet]. [cited 2022 Nov 20]. Available from: <https://www.forbes.ru/biznes/472203-50-krupnejsih-inostrannyh-kompanij-v-rossii-2022-rejting-forbes>
25. Assis MTQ, Lucas MR, Rainho MJM. A meta analysis on the trust in agrifood supply chains. *Food Frontiers*. 2022;3(3):413–427. <https://doi.org/10.1002/fft2.137>
26. Flavors and fragrances market: Global industry trends, share, size, growth, opportunity and forecast 2022–2027 [Internet]. [cited 2022 Nov 01]. Available from: <https://www.imarcgroup.com/flavors-fragrances-market>

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» предназначен для публикации статей, посвященных проблемам пищевой и смежных отраслей промышленности.

Статья должна отвечать профилю журнала, обладать научной новизной, публиковаться впервые.

Рукопись научной статьи, поступившая в редакцию журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)», рассматривается ответственным за выпуск на предмет соответствия профилю журнала, требования к оформлению, проверяется оригинальность представленного текста в системе «Антиплагиат», регистрируется.

В журнале публикуются только рукописи, текст которых рекомендован рецензентами.

Редакция организует «двухстороннее слепое» (анонимное) рецензирование представленных рукописей с целью их экспертной оценки. Выбор рецензента осуществляется решением главного редактора или его заместителя. Для проведения рецензирования рукописей статей в качестве рецензентов могут привлекаться как члены редакционной коллегии журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)», так и высококвалифицированные ученые и специалисты других организаций и предприятий, обладающие глубокими профессиональными знаниями и опытом работы по конкретному научному направлению, как правило, доктора наук, профессора. Все рецензенты являются признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и имеют в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи.

Рецензенты уведомляются о том, что присланные им рукописи являются частной собственностью авторов и относятся к сведениям, не подлежащим разглашению. Рецензентам не разрешается делать копии статей для своих нужд. Рецензирование проводится конфиденциально. Нарушение конфиденциальности возможно только в случае заявления рецензента о недостоверности или фальсификации материалов, изложенных в статье.

Срок рассмотрения статьи не должен превышать трех месяцев со дня получения статьи на рецензирование.

Оригиналы рецензий хранятся в издательстве и в редакции издания в течение пяти лет со дня публикации статей.

Если в рецензии на статью имеется указание на необходимость ее исправления, то статья направляется автору на доработку.

Если статья по рекомендации рецензента подверглась значительной авторской переработке, то она направляется на повторное рецензирование тому же рецензенту, который сделал критические замечания.

Редакция оставляет за собой право отклонения статей в случае неспособности или нежелания автора учесть пожелания редакции.

При наличии отрицательных рецензий на рукопись от двух разных рецензентов или одной рецензии на ее доработанный вариант статья отклоняется от публикации без рассмотрения другими членами редколлегии. Автору не принятой к публикации статьи ответственный за выпуск направляет мотивированный отказ. Фамилия рецензента может быть сообщена автору лишь с согласия рецензента.

Решение о возможности публикации после рецензирования принимается главным редактором, а при необходимости – редколлекцией в целом.

Редакция журнала направляет авторам представленных материалов копии рецензий или мотивированный отказ, а также обязуется направлять копии рецензий в Министерство науки и высшего образования Российской Федерации при поступлении в редакцию издания соответствующего запроса.

Редакция журнала не хранит рукописи, не принятые к печати. Рукописи, принятые к публикации, не возвращаются. Рукописи, получившие отрицательный результат от рецензента, не публикуются и также не возвращаются обратно автору.

Рукописи печатаются, как правило, в порядке очередности их поступления в редакцию. В исключительных случаях, редакционная коллегия имеет право изменить очередность публикации статей.

Все материалы журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» распространяются на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЬИ

Объем статьи должен быть не менее 20–25 тыс. знаков (не включая списки литературы на русском и английском языках). Объем обзорной рукописи – более 25 тыс. знаков.

Оформление текста (форматирование): поля по 20 мм, одинарный интервал без переносов, лишних пробелов и абзацных интервалов, шрифт Times New Roman, 10 кегль. Следует избегать перегрузки статей большим количеством формул, дублирования одних и тех же результатов в таблицах и графиках.

Графики, диаграммы и т. п. (желательно цветные), созданные средствами Microsoft Office и Corel Draw, должны допускать возможность редактирования и направляются в редакцию отдельными файлами в форматах tiff, jpeg, cdr, excel.

Каждая таблица, график, диаграмма и т. п. должны иметь заголовки и порядковые номера, в тексте статьи должны присутствовать ссылки на каждую из них.

Структура статьи:

1. Индекс УДК, тип статьи;
2. Название статьи;
3. Инициалы и фамилии всех авторов;
4. Официальное полное название учреждения;
5. E-mail автора, с которым следует вести переписку;
6. Аннотация (разбивается на разделы: «Введение», «Объекты и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);
7. Ключевые слова;
8. Финансирование;
9. Текст статьи (обязательные разделы: «Введение», «Объекты

и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);

10. Критерий авторства;

11. Конфликт интересов;

12. Благодарности;

13. Список литературы;

14. Список литературы (References);

15. Сведения об авторах (на русском и английском языках).

Подать рукопись можно на сайте журнала <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 сайте журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» <https://fptt.ru>.

СОДЕРЖАНИЕ

Гурский И. А., Творогова А. А. Влияние технологических факторов на воздушную фазу взбитых кисломолочных десертов	Храмова В. Н., Сурков Д. И., Лубчинский К. А. Влияние микроволнового излучения на химический состав нута	123
Паймулина А. В., Поторко И. Ю., Науменко Н. В., Мотовилов О. К. Sonoхимическое микроструктурирование альгината натрия для повышения его эффективности в технологии хлебо-булочных изделий	1 Янченко Е. В., Волкова Г. С., Куксова Е. В., Вирченко И. И., Янченко А. В., Серба Е. М., Иванова М. И. Химический состав и микробиологические показатели квашеной капусты, приготовленной из разных гибридов	131
Каледин А. П., Степанова М. В., Остапенко В. А. Пути поступления микроэлементов в организм обыкновенного павлина <i>Pavo cristatus</i>	13 Маюрникова Л. А., Кокиаров А. А., Крапива Т. В., Петкович А. И., Меишков В. О. Анализ и перспективы инновационного развития предприятий общественного питания	140
Пуи Л. П., Салена Л. А. К. Применение ферментов при выработке фруктового сока: обзор	25 Тихонов С. Л., Тихонова Н. В., Турсунов Х. Х., Данилова И. Г., Лазарев В. А. Пептиды трипсинового гидролизата молозива коров	151
Погорелова Н. А., Гаврилова Н. Б. Конверсия пшеничных отрубей в целевые продукты биосинтеза	49 Ширишова А. А., Агеева Н. М., Ульяновская Е. В., Чернуцкая Е. А. Изучение трансформации компонентного состава плодов яблони в сидр	159
Пескова И. В., Танащук Т. Н., Остроухова Е. В., Луткова Н. Ю., Вьюгина М. А. SO ₂ -резистентность как критерий отбора штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> для органического виноделия	60 Гафизов С. Г., Мусина О. Н., Гафизов Г. К. Экстрагирование гидрофильных компонентов кожуры и жома плодов граната	168
Мистенева С. Ю., Щербакowa Н. А., Кондратьев Н. Б. Влияние толокна ячменного на формирование показателей качества сахарного печенья	69 Куценкова В. С., Неповинных Н. В., Еганехзад С. А. Гибридный гель для замены твердых жиров в кондитерских изделиях	183
Соколов Д. В., Болхонov Б. А., Жамсаранова С. Д., Лебедева С. Н., Баженова Б. А. Ферментативный гидролиз соевого белка	Чаплыгина О. С., Козлова О. В., Жарко М. Ю., Петров А. Н. Оценка биологической безопасности молочных продуктов, содержащих антибиотики	192
Рябцева С. А., Храмов А. Г., Шпак М. А., Лодыгин А. Д., Анисимов Г. С., Сазанова С. Н., Табакова Ю. А. Биотехнология лактулозы: современные достижения, проблемы и перспективы	98 Казанцева Е. Г., Лямкин И. И. Рынки микроингредиентов и их влияние на устойчивость продовольственных систем	202

CONTENTS

Gurskiy Igor A., Tvorogova Antonina A. The Impact of Technological Factors on the Air Phase of Defrosted Fermented-Milk Desserts	Khramova Valentina N., Surkov Dmitry I., Lubchinsky Kirill A. Effect of Microwave Radiation on the Chemical Composition of Chickpeas	124
Paymulina Anastasia V., Potoroko Irina Yu., Naumenko Natalia V., Motovilov Oleg K. Sonochemical Microstructuring of Sodium Alginate to Increase its Effectiveness in Bakery	14 Yanchenko Elena V., Volkova Galina S., Kuksova Elena V., Virchenko Ivan I., Yanchenko Aleksey V., Serba Elena M., Ivanova Maria I. Chemical Composition and Sensory Profile of Sauerkraut from Different Cabbage Hybrids	132
Kaledin Anatoly P., Stepanova Marina V., Ostapenko Vladimir A. Trace Elements in Indian Peafowl (<i>Pavo cristatus</i>): Exposure Routes	26 Mayurnikova Larisa A., Koksharov Arkadiy A., Krapiva Tatyana V., Petkovich Anna I., Meshkov Vladislav O. Public Catering Enterprises: Analysis and Prospects of Innovative Development	141
Pui Liew Phing, Saleena Lejaniya Abdul Kalam Enzyme-Aided Treatment of Fruit Juice: A Review	38 Tikhonov Sergei L., Tikhonova Natalia V., Tursunov Khatam Kh., Danilova Irina G., Lazarev Vladimir A. Peptides of Trypsin Hydrolyzate in Bovine Colostrum	150
Pogorelova Natalya A., Gavrilova Natalya B. Conversion of Wheat Bran into Target Biosynthetic Products	50 Shirshova Anastasia A., Ageyeva Natalia M., Ulyanovskaya Elena V., Chernutskaya Evgenia A. Transformation of Apple Composition during Cider Production	160
Peskova Irina V., Tanashchuk Tatiana N., Ostroukhova Elena V., Lutkova Nataliya Yu., Vyugina Mariya A. Resistance to Sulfur Dioxide as a Criterion for Selecting <i>Saccharomyces cerevisiae</i> for Organic Winemaking	61 Hafizov Samir Gharib, Musina Olga N., Hafizov Gharib Kerim Extracting Hydrophilic Components from Pomegranate Peel and Pulp	169
Misteneva Svetlana Yu., Shcherbakova Natalia A., Kondrat'ev Nikolay B. Effect of Whole Barley Tolochno on the Quality of Biscuits	70 Kutsenkova Vasilissa S., Nepovinnykh Nataliia V., Yeganezhad Samira A. Hybrid Gel as a Substitute for Hard Fats in Confectionery	184
Sokolov Dmitry V., Bolkhonov Bulat A., Zhamsaranova Sesegma D., Lebedeva Svetlana N., Bazhenova Bayana A. Enzymatic Hydrolysis of Soy Protein	87 Chaplygina Olga S., Kozlova Oksana V., Zharko Maria Yu., Petrov Andrey N. Assessing the Biological Safety of Dairy Products with Residual Antibiotics	193
Ryabtseva Svetlana A., Khramtsov Andrey G., Shpak Maria A., Lodygin Alexey D., Anisimov Georgy S., Sazanova Serafima N., Tabakova Yulia A. Biotechnology of Lactulose Production: Progress, Challenges, and Prospects	97 Kazantseva Elena G., Lyamkin Igor I. Micro-Ingredient Markets and Their Impact on the Sustainability of Food Systems	203